

SENSOR OPTODE GLUKOSA YANG SENSITIF DAN SEDERHANA BERBASIS IMOBILISASI BENEDICT PADA MEMBRAN NATA SELULOSA

A SIMPLE AND SENSITIVE OPTODE SENSOR GLUCOSE BASED ON IMMOBILIZATION BENEDICT INTO NATA CELLULOSE MEMBRANES

Dhony Hermanto¹, Rochmad Kris Sanjaya², Nurul Ismillayli^{1*}

¹Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Kadiri, Kediri-Jawa Timur, Indonesia

*Email: nurul.ismillayli@unram.ac.id

Diterima: 8 September 2019. Disetujui: 17 September 2019. Dipublikasikan: 30 September 2020

Abstract: Determination of glucose concentration in urine and blood that anyone can use at any time is Benedict reagent based chemical sensor. This optical sensor was developed by immobilizing Benedict reagent into nata cellulose as supporting material via entrapment. The nata cellulose/Benedict membrane for glucose determination has optimum condition at maximum wavelength of 541.57 nm, Benedict concentration of 0.4470 M, and ratio of nata cellulose mass to Benedict volume was 1:3. Characterization of optical sensor for glucose was in working range of 0-5000 ppm, limit of detection was 911,11 ppm, sensitivity was 0.0009 and reproducibility was 0.2295%.

Keywords: Optical Chemical Sensor, Benedict Reagent, Nata Cellulose, Entrapment, Glucose

Abstrak: Suatu metode pengukuran kadar glukosa dalam urin dan darah yang bisa digunakan setiap saat oleh semua orang adalah sensor kimia berbasis reagen Benedict. Sensor optik ini dikembangkan dengan mengimobilisasi reagen Benedict pada selulosa nata sebagai material pendukung secara penjerapan. Membran selulosa nata/benedict untuk penentuan glukosa memiliki kondisi optimum pengukuran pada panjang gelombang maksimum adalah 541,57 nm, konsentrasi Benedict sebesar 0,4470 M dan perbandingan massa selulosa nata dengan volume Benedict yaitu 1: 3. Hasil karakterisasi sensor optik selulosa nata/Benedict yaitu pada range kerja 0-5000 ppm, limit deteksi sebesar 911,11 ppm, sensitivitas sebesar 0,0009, dan reproduktibilitas sebesar 0,2295%.

Kata Kunci: Sensor Kimia Optik, Reagen Benedict, Selulosa Nata, Penjerapan, Glukosa

PENDAHULUAN

Sensor kimia yang sedang berkembang di bidang kesehatan salah satunya adalah sensor glukosa. Meningkatnya jumlah penderita Diabetes Mellitus yaitu suatu penyakit metabolisme yang disebabkan kurangnya insulin atau terhambatnya sekresi insulin [1, 2], menyebabkan diperlukannya suatu alat yang dapat mendeteksi kadar glukosa di dalam tubuh dengan cepat dan akurat [3]. Salah satu perangkat analisis tersebut adalah sensor kimia berbasis reagen Benedict untuk mengukur kadar glukosa dalam darah dan urin [4]. Reagen Benedict pada umumnya digunakan untuk analisa kualitatif glukosa, namun dapat digunakan untuk menganalisis glukosa secara kuantitatif dengan cara titrasi. Kelebihan reagen Benedict yaitu mengandung lebih sedikit komponen penyusun tetapi teliti dan akurat.

Sensor kimia berbasis reagen memiliki kelemahan yaitu masa pakai yang terbatas sehingga diperlukan suatu teknik agar reagen dapat bertahan lama dan dapat digunakan beberapa kali. Pengembangan sensor kimia glukosa dilakukan dengan teknik imobilisasi reagen Benedict dalam suatu material pendukung (matriks) sangat diperlukan. Salah satu contoh teknik imobilisasi reagen kimia yang dapat dilakukan adalah teknik penjerapan [5]. Penelitian ini menggunakan membran selulosa, yaitu merupakan bahan organik yang secara luas digunakan sebagai fiber, plastik, dan

membran dalam industri [6]. Valente *et al.* [7], memodifikasi polianilin dan selulosa asetat sebagai membran untuk sodium dodesil sulfat. Tanabe *et al.* [8] menggunakan membran selulosa bakterial sebagai material pendukung imobilisasi siklodekstran sebagai sensor mendeteksi molekul.

Kelebihan membran selulosa adalah harganya relatif murah, preparasi mudah, berguna secara luas, ramah lingkungan ke murniannya tinggi, derajat kristalinitas tinggi, kekuatan tarik tinggi, elatis, dapat diperbaharui (*renewable*) atau terbiodegradasi [9]. Karena itu, sangat mungkin menyiapkan sensor untuk mendeteksi molekul dengan membran selulosa yang dapat dikomersilkan. Berdasarkan kelebihan tersebut maka dalam penelitian ini digunakan material pendukung berupa selulosa nata untuk mengimobilisasikan reagen Benedict. Membran yang terbentuk digunakan dalam sensor optik untuk menentukan kadar glukosa.

METODE PENELITIAN

Tranduser optik yang digunakan spektrometer USB 2000 "Ocean Optic" dan spektrometer Genesys 5. Peralatan lain yang digunakan penyaring buchner, neraca analitik, oven, pH meter, dan peralatan gelas laboratorium. Bahan yang digunakan antara lain air kelapa, gula pasir, amonium sulfat (NH₄)₂SO₄ padat, bakteri *Acetobacter xylinum*, asam cuka pasaran, NaOH,

kertas saring nilon, Na_2CO_3 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, larutan standar $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ dan aquades.

Preparasi reagen Benedict dilakukan seperti yang dilakukan Bahar [12] yaitu 50 g natrium sitrat dan 86,5 g natrium karbonat dilarutkan dalam air hangat sebanyak 300 mL, ditempat terpisah 8,65 g tembaga (II) sulfat dilarutkan dalam 150 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dalam labu ukur 500 mL, ditambah aquades sampai mencapai batas 500 mL dalam labu ukur.

Media fermentasi dalam pembuatan nata terdiri dari air kelapa sebanyak 1 L dididihkan lalu ditambahkan 10 g gula pasir dan 5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Setelah dingin, pH media diatur sehingga mencapai 4 dengan menambahkan asam cuka pasaran [10], kemudian ditambahkan *Acetobacter xylinum* dan difermentasi pada suhu ruang selama 10 hari [11]. Bentuk nata hasil fermentasi berupa gel selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 24 jam dan dicuci dengan NaOH 2% selama 1 jam pada suhu 80-90°C. pH dinetralkan dengan perendaman nata dalam asam cuka 2% selama 1 jam dan dicuci dengan air.

Membran selulosa nata murni yang masih basah didegradasi secara mekanik dengan blender selama 3 jam. Selulosa nata hasil pembレンダーan sebanyak 10 g direndam dan diaduk dengan larutan Benedict selama 24 jam (mendekati homogen). Langkah berikutnya, selulosa nata-Benedict dicetak dengan set alat buchner yang dihubungkan dengan pompa vakum dan dikeringkan pada suhu 50°C.

Penentuan panjang gelombang maksimum sensor ditentukan dengan mengukur intensitas selulosa nata-Benedict. Penentuan λ_{maks} diperoleh dengan salah satu konsentrasi Benedict dan perbandingan massa nata: volume Benedict. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk pembuatan kurva kalibrasi sensor-glukosa sama dengan penentuan panjang gelombang maksimum sensor diatas. Intensitas selulosa nata-Benedict yang telah direaksikan dengan salah satu konsentrasi glukosa diukur menggunakan spektrometer USB 2000 "Ocean Optic" yang dihubungkan dengan serat optik. Proses pengukurannya dilakukan pada panjang gelombang 400-800 nm.

Konsentrasi Benedict optimum akan ditentukan berdasarkan data *scanning* intensitas sensor selulosa nata-Benedict dengan variasi konsentrasi Benedict. Konsentrasi Benedict yang digunakan yaitu 0,4470; 0,0894; 0,1788; 0,2682 dan 0,3576 M. Penentuan perbandingan massa selulosa nata: volume Benedict optimum ditentukan menggunakan variasi konsentrasi Benedict yang telah optimum dan variasi perbandingan massa selulosa nata: volume Benedict. Variasi perbandingan massa selulosa nata: volume Benedict yang digunakan antara lain 1: 1, 1: 2, 1: 3, 1: 4, 1: 5.

Pengukuran larutan standard glukosa terhadap sensor selulosa nata-Benedict dilakukan pada kondisi konsentrasi Benedict optimum. Pengukuran ini dilakukan pada panjang gelombang maksimum sensor yang telah direaksikan dengan

glukosa. Variasi larutan glukosa standard digunakan mulai 0; 1000; 2000; 3000; 4000; dan 5000 ppm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reagen Benedict (juga disebut larutan Benedict/uji Benedict) adalah reagen yang digunakan untuk menguji keberadaan gula pereduksi seperti glukosa. Reagen ini terdiri dari natrium karbonat (Na_2CO_3), natrium sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$) dan tembaga (II) sulfat. $5\text{H}_2\text{O}$. Ion Cu^{2+} berfungsi sebagai agen pengoksidasi dalam larutan alkali, ion sitrat berfungsi sebagai agen pengompleks untuk menjaga ion tembaga dalam larutan, tanpa ion sitrat, tembaga hidroksida akan mengendap. Ion sitrat tidak mampu mereduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ , sehingga proses reduksi dilakukan oleh gula pereduksi. Uji Benedict didasarkan pada reduksi dari Cu^{2+} menjadi Cu^+ (Cu_2O) dalam larutan basa alkali sitrat oleh gula pereduksi. Tembaga (I) oksida tidak larut dalam air sehingga mengendap. Warna dari Cu_2O tergantung pada jumlah sampel yang akan menunjukkan endapan warna oranye, kuning, dan merah bata [15].

Teknik yang digunakan untuk mengimobilisasi reagen Benedict ke dalam selulosa nata adalah penjerapan. Keuntungan imobilisasi reagen Benedict ke dalam selulosa nata untuk meminimalkan terbentuknya endapan $\text{Cu}(\text{OH})_2$, berbeda dengan terbentuknya banyak endapan yang dihasilkan jika reagen Benedict direaksikan langsung dengan glukosa. Imobilisasi reagen Benedict ke selulosa nata menghasilkan ikatan fisik yang kemungkinan berupa ikatan yang disebabkan oleh gaya van der Waals antara selulosa dengan Benedict. Ikatan yang disebabkan oleh gaya van der Waals merupakan ikatan yang lebih lemah dari ikatan kovalen dan ikatan ionik yang tidak mempunyai arah yang teratur, ikatan ini menyebabkan molekul Benedict dengan selulosa dapat mengelompok.

Kompleks Cu-sitrat di dalamnya terjadi ikatan kovalen koordinasi yang menyebabkan ikatan antara Cu^{2+} dengan sitrat sangat kuat dan gugus sitrat mempunyai gugus yang besar yang mengakibatkan halangan steriknya besar sehingga kompleks Cu-sitrat yang direaksikan dengan glukosa mengalami reaksi transfer electron Ion Cu^{2+} bertindak sebagai logam pusat, sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ atau $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$) sebagai ligan sedangkan H_2O sebagai pelarut Benedict. Mekanisme yang terjadi adalah elektron dari glukosa memasuki logam pusat melalui ligan jembatan berupa sitrat atau ligan jembatan lain berupa H_2O yang merupakan mekanisme *inner sphere*. Jika mekanisme yang terjadi berupa *outer sphere* maka kemungkinan terjadi tunnelling (loncatan) elektron dari glukosa menuju logam pusat sehingga Cu^{2+} memperoleh 1 elektron dari glukosa berubah menjadi Cu^+ dalam bentuk Cu_2O yang berwarna kecoklatan. Cu^{2+} mengalami reduksi menjadi Cu^+ karena diberi 1 elektron dari glukosa, sedangkan glukosa teroksidasi menjadi asam glukonat. Intensitas sinyal sebanding dengan warna pembentukan endapan Cu_2O akibat dari glukosa

teroksidasi, sehingga kadar analit (glukosa) dapat ditentukan dengan reagen Benedict pada sistem sensor kimia optik tersebut.

Tabel 1. Optimasi Parameter Sensor Optik Glukosa

Parameter	Nilai Optimum
λ_{maks} (nm)	625.64
Konsentrasi Benedict (M)	0.4470
Perbandingan massa selulosa nata dan volume Benedict	1 : 3

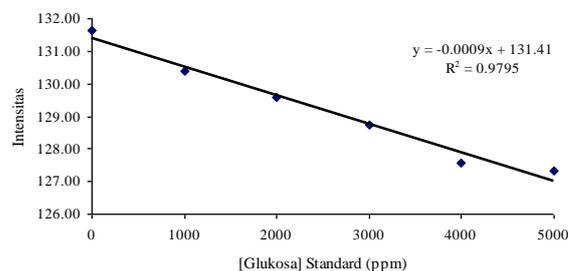
Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dengan intensitas terbesar yang dihasilkan dari selulosa nata-Benedict yang telah direaksikan dengan glukosa. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan salah satu konsentrasi glukosa standard. Pemilihan panjang gelombang maksimum pada 400-800 nm karena sensor berada pada daerah visible, seperti terlihat pada Tabel 1. Panjang gelombang maksimum selulosa nata-Benedict adalah sebesar 625.64 nm, artinya pada 625.64 terjadi refleksi maksimum selulosa nata-Benedict dengan glukosa. Panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk pengukuran selanjutnya.

Parameter yang berpengaruh terhadap proses pengukuran sensor selulosa nata-Benedict antara lain konsentrasi Benedict, seperti terlihat pada Tabel 1. Konsentrasi Benedict menyatakan banyaknya jumlah Benedict yang terdapat dalam sejumlah volume tertentu. Penentuan konsentrasi Benedict optimum metode adsorpsi dan entrapment dilakukan dengan variasi konsentrasi 0.4470; 0.3576; 0.2682; 0.1788; 0.0894 M. Optimasi konsentrasi Benedict metode entrapment menghasilkan kondisi optimum 0.4470 M. Kenaikan konsentrasi Benedict dari 0.0894 M sampai 0.3557 M menyebabkan intensitas sensor naik. Dari konsentrasi 0.3557 ke 0.4470 M intensitasnya naik artinya terjadi proses penjerapan Benedict ke pori-pori selulosa nata.

Optimasi perbandingan massa selulosa nata dengan volume Benedict dilakukan untuk mengetahui jumlah maksimal Benedict yang berhasil dientrapment kedalam selulosa nata, seperti terlihat pada Tabel 1. Penentuan perbandingan selulosa nata dengan volume Benedict optimum dalam penelitian ini dilakukan dengan variasi 1: 1, 1: 2, 1: 3, 1: 4, 1: 5. Hasil pengukuran intensitas sinar yang direfleksikan oleh sensor selulosa nata- Benedict meningkat seiring dengan bertambahnya volume Benedict. Intensitas sensor meningkat dari perbandingan 1: 1 ke 1: 2 karena masih banyak ruang kosong dalam selulosa nata yang belum terisi oleh Benedict. Bila dilakukan penambahan Benedict masih memungkinkan Benedict untuk terjebak dalam selulosa. Perbandingan 1: 3 memiliki intensitas yang paling besar dan relatif konstan pada volume Benedict yang lebih besar. Perbandingan yang lebih besar dari 1: 3 intensitas yang dihasilkan yang relatif konstan karena selulosa sudah jenuh oleh Benedict.

Kondisi optimum pengukuran adalah pada

panjang gelombang maksimum pada 625.64 nm, metode entrapment: konsentrasi Benedict optimum 0,447 M dan perbandingan massa selulosa nata dengan volume Benedict optimum 1: 3.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Intensitas vs Konsentrasi Gula Standard

Kurva kalibrasi ini dibuat pada konsentrasi glukosa standard antara 0-5000 ppm, seperti terlihat pada Gambar 1. Hubungan linier ini menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding terbalik dengan intensitas sinyal produk yang direfleksikan. Semakin tinggi konsentrasi glukosa maka semakin rendah intensitas yang direfleksikan karena produk Cu_2O yang dihasilkan makin besar. Hubungan linier antara intensitas vs kadar glukosa standard memiliki persamaan $y = -0.0009x + 131.41$. Menurunnya intensitas disebabkan sensor yang merefleksikan sinar dihalangi oleh terbentuknya endapan Cu_2O . Koefisien regresi sebesar 0.9795, artinya $\pm 98\%$ perubahan intensitas dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi glukosa standard, sedangkan $\pm 2\%$ dipengaruhi faktor lain.

Limit deteksi suatu metode pengukuran adalah konsentrasi terkecil dari analit yang dapat diukur oleh alat dengan baik. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi maka semakin baik karakteristik sensor tersebut. Berdasarkan kurva kalibrasi pada Gambar 1 dan perhitungan limit deteksi sebesar 911.11 ppm. Jadi konsentrasi terkecil yang bisa diukur oleh alat adalah 911.11 ppm. Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit. Sensitivitas sensor selulosa nata-Benedict ini diperoleh berdasarkan slope dari kurva kalibrasi dengan range 0-5000 ppm pada Gambar 1. Sensitivitas sebesar 0.0009, artinya tiap satu satuan perubahan konsentrasi akan menghasilkan perubahan intensitas sebesar 0.0009.

Reprodusibilitas merupakan suatu metode pengulangan yang dilakukan agar dihasilkan limit antar pengukuran sekecil mungkin atau data yang dihasilkan harus presisi. Diharapkan hasil pengukuran memberikan nilai 95% setiap satu kali pengulangan atau lebih yang berbeda. Reprodusibilitas yang dinyatakan dengan K_v (Koefisien Variasi) menunjukkan tingkat kesalahan pengukuran akibat pengulangan. K_v hasil dari perhitungan sebesar 0.2295%. Hal tersebut berarti dalam 100x pengukuran dilakukan kesalahan 0.2013 kali dan 0.2295 kali.

Sensor optik masih bisa digunakan pada pengukuran ke-2 karena penurunan respon terhadap arus tidak lebih dari 5 % yang menunjukkan bahwa hanya perubahan konsentrasi glukosa yang mengakibatkan perubahan respon yang dideteksi dibandingkan dengan faktor lain. Pada pengukuran ke-3 respon yang terukur apabila dibandingkan dengan respon awal adalah 54 %. Penurunan respon yang sangat besar yaitu sebesar 46 % kemungkinan disebabkan karena *leaching* Benedict dari membran selulosa nata sehingga respon terhadap glukosa juga menurun dan intensitas dihasilkan juga menurun.

KESIMPULAN

Membran selulosa nata/benedict untuk penentuan glukosa memiliki kondisi optimum pengukuran pada panjang gelombang maksimum adalah 541.57 nm, konsentrasi Benedict sebesar 0.4470 M dan perbandingan massa selulosa nata dengan volume Benedict yaitu 1: 3. Hasil karakterisasi sensor optik selulosa nata/Benedict yaitu pada range kerja 0-5000 ppm, limit deteksi sebesar 911.11 ppm, sensitivitas sebesar 0.0009, dan reproduksibilitas sebesar 0.2295%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Garris, D. R. & Garris, B. L. (2003). Diabetes-Induced Progressive Endometrial Involution Characterization of Periluminal Epithelial Lipoatrophy, *Experimental Biology and Medicine*, 52(1). 51-58.
- [2] Chang, A. S., Dale, A. N. & Moley, K. H. (2005). Maternal Diabetes Adversely Affects Preovulatory Oocyte Maturation, Development and Granulosa Cell Apoptosis, *Endocrinology*, 146(5). 2445-2453.
- [3] Koolman, J. & Rohm, K. H. (2001). *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Terjemahan Dr.

Ret. physiol dan dr. Septelia Inawati Wanandi. Jakarta: Penerbit Hipokrates.

- [4] Koch, Bernd. (2004). The Role of Urine Glucose Testing in the Management of Diabetes Mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*. 28 (1). 238-245
- [5] Kuswandi, B., Andreas, R. & Ramaier, N. (2001). Optical Fibre Biosensor Based on Immobilized Enzyme. *The Analyst*, 126.1469-1491.
- [6] Jandura, P., Rield, B. & Kokta, B. V. (2000). Thermal Degradation Behavior of Cellulose Fibers Partially Esterified with Some Long Chain Organic Acids, *Polymer Degradation and Stability*, 70. 387-394.
- [7] Valente, A. J. M., Burrows, H. D., Polishchuk, A. Y., Domingues, C. P., Borges, O. M. F., Eusebio, M. E. S., Maria, T. M. R., Lobo, V. M. M. & Monkman, A. P. (2005). Permeation of Sodium Dodecyl Sulfate through Polyaniline modified Cellulose Acetate Membranes, *Polymer*, 46. 5918-5928.
- [8] Tanabe T., Tauma, K., Hamasaki, K. & Ueno, A. (2001). Immobilized fluorescent Cyclodextrin on a Cellulose Membrane as a Chemosensor for Molecule Detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 73. 3126-3130.
- [9] Kristinowicz (2005). Molecular Basis of Cellulose Biosynthesis Disappearance in Submerged Culture of *Acetobacter xylinum*. *Jurnal Acta Biochimica Polonica*, 52(3). 691-698.
- [10] Piluharto, B. 2003. Kajian Sifat Fisik Film Tipis Nata de Coco Sebagai Membran Ultrafiltrasi. *Jurnal Ilmu Dasar*, 4(1). 52-57.
- [11] Rezaee (2005). Role Plasmid in Production of *Acetobacter xylinum* Biofilms. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3. 121-125.