

OPTIMASI MEMBRAN KITOSAN TERMODIFIKASI BERBASIS ENZIM AMOBIL PADA APLIKASI BIOSENSOR OPTIK

Hamsina¹⁾, Ruslan Hasani²⁾, Ismail³⁾

¹⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia Universitas Bosowa, Makassar

²⁾Dosen Jurusan Keperawatan Politeknik Kesehatan Makassar

³⁾Tenaga Pengajar Jurusan Biologi SMU Negeri 7, Makassar

ABSTRACT

Research on the optimization of modified chitosan membrane based on immobilized enzymes on optical biosensors has been carried out. The aim of the study was to determine the optimum conditions and characterization of natural zeolite-modified chitosan membrane in immobilized chitin deacetylase enzyme and determine the characterization of optical biosensors using modified chitosan membrane to monitor Cd (II) ions in water samples. The method used in this study is the design of chitosan membrane by dissolving 12 mg of deacetylase into a buffer solution and then part of the solution is dripped into a circular membrane. The membrane is then dried. all processes were carried out by comparison of chitosan: natural zeolite: chitin deacetylase (1; 1; 1 ; 1; 1; 2 dan 1; 2;1 dan 1 ; 2;2) until the covalent bond between chitin deacetylase and chitosan is well formed. after immobilization of chitin deacetylase is complete, the membrane is attached to the pH of the paper which is also in the form of a circle, which is the same as the membrane and then placed in a flow. Characterization of chitosan membrane and optical biosensor was carried out including testing of membrane permeability properties, percentage of inhibition and measurement concentration range as well as detection limit value. The results showed that the optimum conditions of chitosan membrane were obtained in the ratio of chitosan: natural zeolite concentration: chitin deacetylase of 1: 2: 2, where membrane permeability increased the concentration of natural zeolite. percentage of inhibition on optical biosensors of 27,126 % dan 29,461% with a measurement concentration range of $1,0 \times 10^{-8}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ M or equivalent 0,0830 - 8,30 ppm (10^{-3} Cd (II) 83,0 ppm). The detection limit value generated is equal to 6,5 and 6,8 or equivalent 5×10^{-6} M (0,028 ppm) and $5,3 \times 10^{-6}$ M (0,033 ppm). this value is relatively small for the measurement of Cd (II) ions when compared with the AAS measurement technique with the detection limit value 0,001 – 2 ppm.

Keywords: *Membrane optimization, Characterization, Chitosan membrane, Optical biosensor, chitin deacetylase immobilization*

1. PENDAHULUAN

Salah satu masalah utama yang dihadapi dalam pengembangan biosensor serat optik berbasis immobilisasi enzim yakni biosensor tersebut memiliki konstruksi yang lebih rumit baik dalam hal skema reaksi atau immobilisasi enzim maupun proses transduksinya, sehingga kurang efisien dan tidak ekonomis. Berkaitan dengan hal tersebut diatas, maka dalam rangka meningkatkan kinerja biosensor serat optik berbasis immobilisasi enzim, maka diperlukan suatu rancangan biosensor yang lebih sederhana dan lebih efisien dan dapat menganalisis ion logam yang ada dalam sampel secara keseluruhan.

Untuk tujuan tersebut maka dilakukan konstruksi biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase dalam membran kitosan yang berfungsi sebagai material pendukung pada biosensor tersebut. Membran kitosan merupakan agen pengkompleks logam berat yang baik, yang ditandai oleh pergeseran bilangan gelombang dari beberapa gugus fungsi dalam rantai kitosan tersebut. Menurut penelitian Guibal (2000) adsorben kitosan jauh lebih efektif mengadsorpsi ion logam Fe^{2+} , Ni^{2+} dan Cu^{2+} dibandingkan adsorben dari karbon aktif. Hal ini menunjukkan bahwa kitosan mempunyai potensi lebih besar dibandingkan karbon aktif untuk aplikasi adsorpsi logam berat.

Krajewska (2008) melaporkan penggunaan membran kitosan untuk menurunkan kadar logam berat krom dan nikel dalam limbah cair industri pelapisan logam, dimana membran kitosan mampu menurunkan kadar logam Cr sebanyak 99,8% dan kadar logam Ni sebesar 91,13%. Beberapa penelitian tentang pemanfaatan membran kitosan sebagai media adsorben untuk logam berat telah dilakukan. Namun penelitian untuk menentukan optimasi komposisi dan karakterisasi membran kitosan immobilisasi kitin deasetilase pada aplikasi biosensor serat optik belum dilakukan. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan komposisi membran kitosan yang optimal dan karakterisasi membran kitosan immobilisasi kitin deasetilase pada biosensor serat optik yang meliputi penentuan kadar air, kadar abu, kadar nitrogen, viskositas, derajat

¹ Korespondensi penulis: Hamsina, 085299575018, hamsina.ruslan@ymail.com

deasetilase serta analisis gugus fungsi dengan spektroskopi IR dan analisis kristalinitas dengan difraksi sinar X.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah (1) diperoleh kondisi optimum komposisi membran kitosan pada biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase, (2) diperoleh karakterisasi membran kitosan pada biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase yang meliputi Karakterisasi morfologi komposit kitosan : pengukuran fluks air, struktur mikroskopi membran kitosan yang didasarkan pada hasil uji kualitatif menggunakan Spektroskopi IR dan SEM.

Urgensi Penelitian

Penggunaan biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase telah terbukti efektif dalam mendeteksi pencemaran ion logam berat di wilayah perairan, namun biosensor tersebut masih memiliki kelemahan yakni konstruksi yang lebih rumit baik dalam hal skema reaksi atau immobilisasi enzim maupun proses transduksinya, sehingga kurang efisien dan tidak ekonomis. Sejauh ini belum terdapat penelitian yang bertujuan untuk mempelajari optimasi komposisi membran kitosan dan karakterisasi membran kitosan pada biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase. Hasil penelitian yang banyak dilaporkan adalah pada proses isolasi, identifikasi dan penentuan aktivitas dan selektivitas enzim kitin deasetilase yang berasal dari bakteri termofilik yang digunakan pada rangkaian biosensor serat optik.

Berkaitan dengan potensi biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase yang sangat prospek untuk dikembangkan, maka diperlukan informasi mengenai optimasi dan karakterisasi membran kitosan yang meliputi perbandingan komposisi membran kitosan : kitin deasetilase serta penentuan kadar air, kadar abu, kadar nitrogen, viskositas, derajat deasetilase serta analisis gugus fungsi dengan spektroskopi IR dan analisis kristalinitas dengan difraksi sinar X.

Dengan adanya informasi mengenai kondisi optimum komposisi membran kitosan serta karakterisasi membran kitosan pada biosensor serat optik immobilisasi kitin deasetilase, diharapkan dapat diperoleh suatu rancangan biosensor yang lebih efisien dan ekonomis dan memiliki tingkat kepekaan yang tinggi dalam mendeteksi pencemaran ion logam berbahaya di wilayah perairan.

2. METODE PENELITIAN

Immobilisasi kitin deasetilase dalam membran kitosan. Membran kitosan yang telah terbentuk, digunakan sebagai material pendukung (solid support) immobilisasi untuk kitin deasetilase. Dalam hal ini 12 mg kitin deasetilase dilarutkan kedalam 200 ml buffer fosfat, dan kemudian sebagian dari larutan tersebut diteteskan pada membran yang berbentuk lingkaran. Membran tersebut kemudian dikeringkan. Semua proses dilakukan dengan berbagai perbandingan kitosan; asam asetat galsial; kitin deasetilase masing – masing (1; 1; 1; 1; 1; 2 dan 1; 2; 1 dan 1; 2; 2) hingga ikatan kovalen antara kitin deasetilase dengan membran kitosan terbentuk dengan baik. Setelah immobilisasi kitin deasetilase selesai dilakukan, membran tersebut dilekatkan pada kertas pH yang juga berbentuk lingkaran yang sama dengan membran, kemudian ditempatkan di dalam sel alir.

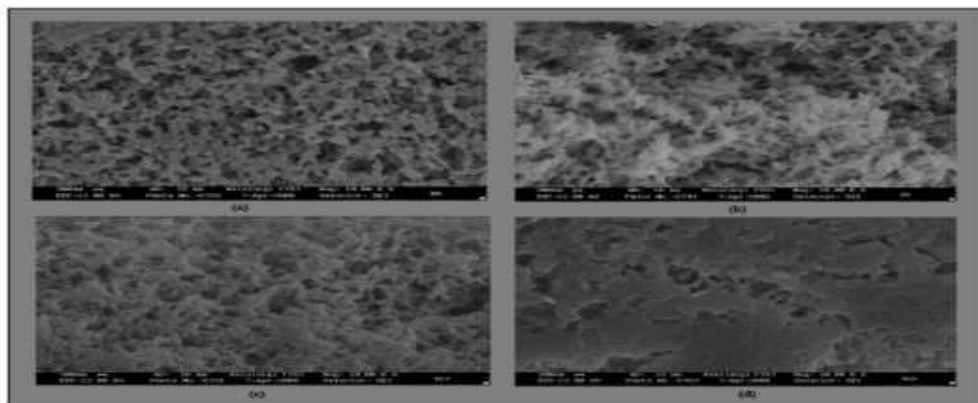
Konstruksi biosensor serat optik. Pada tahap ini dilakukan immobilisasi kitin deasetilase dalam membran kitosan dilekatkan pada kertas pH (keduanya berbentuk lingkaran) lalu ditempatkan secara berhati-hati ke dalam sel alir, yang dihubungkan dengan kolom dan baja antikorosi (stainless-steel) dengan diameter 0,6 cm dengan panjang 7 cm. Untuk menyediakan fasilitas reflektansi pada dasar (reflective surface backing) dalam sel alir tersebut, maka ditempatkan cermin dengan jarak 0,2 cm dari ujung biosensor serat optik tersebut.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum, membran pendukung kitosan dengan perbandingan : kitosan : zeolite alam : kitin deasetilase sebesar 1 : 2 : 2 merupakan kualitas terbaik untuk menghasilkan biosensor serat optik berbasis immobilisasi kitin deasetilase ion Cd (II), dengan sensitivitas optimum dan nilai intensitas optimum. Pada perbandingan membran tersebut memiliki nilai kemiringan (slope) masing-masing sebesar 31,19 dan 32,91 untuk ion Cd (II),

Membran kitosan nomor (4) tampaknya memiliki kelenturan dan porositas yang optimal untuk menyerap fasa kitin deasetilase didalam membran. Kedua sifat fisika ini merupakan sifat fisik yang diperlukan untuk mengetahui lipofilitas membran (Kuswandi, B, 2003). Membran biosensor kitin deasetilase yang baik harus memiliki komposisi bahan aktif yang dapat berikatan dengan analit pada permukaan membran – larutan

sampel dengan reaksi yang sangat cepat, reversibel dan selektif (Buhlman, 1998). Membran kitosan immobilisasi kitin deasetilase memiliki struktur pori yang asimetris terdiri dari lapisan permukaan atas (active layer) dan lapisan pendukung (support layer). Hal ini menyebabkan jumlah kitin deasetilase amobil lebih besar. Membran kitosan immobilisasi kitin deasetilase selanjutnya dilakukan proses Scanning Electron Microscopy yang bertujuan untuk mengetahui keberadaan enzim kitin deasetilase dalam membran kitosan.



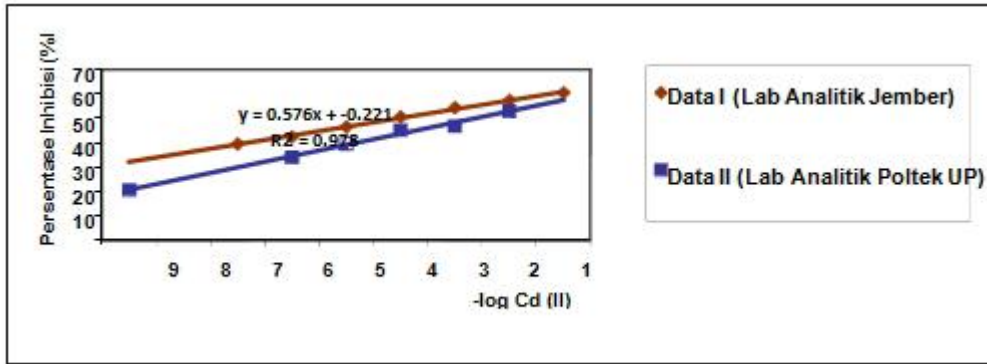
Gambar 1. Hasil foto Scanning Electron Microscopy (SEM) membran kitosan amobil.

Karakterisasi membrane diuji berdasarkan sifat permeabilitas suatu membrane dinyatakan dalam suatu nilai yang disebut dengan nilai fluks. Hasil uji permeabilitas dapat dilihat pada tabel 2. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa pada sampel I, II III, dan IV dibuat dengan merendam kertas saring dalam larutan kitosan (Chen, 2002) didapatkan data bahwa semakin banyak zeolit alam yang ditambahkan sebagai pembentuk porogen menyebabkan fluks permeat dan permeabilitas air menjadi tinggi. Penambahan zeolit alam pada larutan kitosan membuat membran menjadi porogen sehingga fluks permeat dan permeabilitas air menjadi tinggi. Permeabilitas membran secara keseluruhan dipengaruhi bagaimana pori-pori membran tersusun. Analisis morfologi membran dilakukan dengan menggunakan SEM. Hasilnya memperlihatkan bagian permukaan dan penampang lintang membran kitosan sehingga akan terlihat susunan dan kerapatan pori, ada tidaknya rongga besar yang terbentuk, kehalusan permukaan membran, serta cacat pada membran.. Proses pembentukan membran meliputi proses pembentukan inti (nukleasi) dan pertumbuhan inti, serta pembentukan celah dan rongga (Rohman T dkk, 2005). Proses ini terjadi di dalam tempat koagulasi sehingga baik komposisi membran yang dibuat dan komposisi koagulan yang digunakan sangat berpengaruh terhadap morfologi membran yang dihasilkan.

Sedangkan karakterisasi biosensor menggunakan membrane kitosan pada enzim amobil ditentukan berdasarkan persentase inhibisi enzim dan kisaran konsentrasi pengukuran. Untuk menentukan limit deteksi, selektivitas, dan reproduktibilitas. Penentuan persentase inhibisi dan kisaran pengukuran diperoleh dengan cara mengalurkan persentase inhibisi terhadap $-\log C$ untuk biosensor kitin deasetilase - Cd (II).

Tabel 1. Persentase inhibisi terhadap $-\log C$ (II)

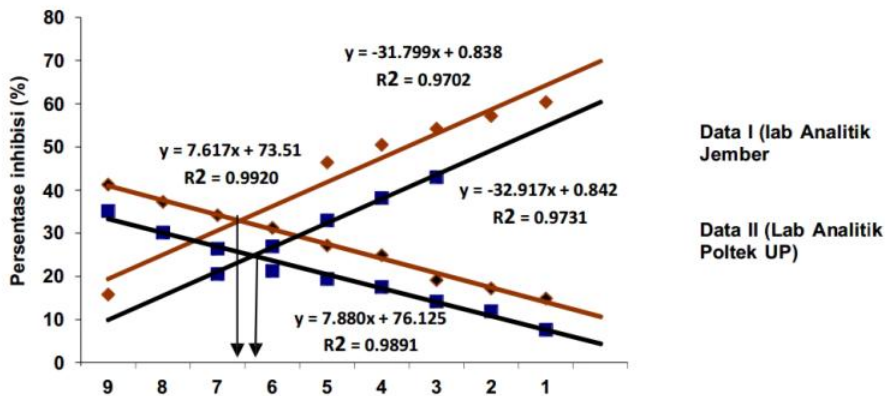
No	Molar	$-\log$ Cd (II)	Sblm Inhibisi (I_{n0})	Inten Sthl Inhibisi (I_{n1})	Persen Inhibisi (% I_1)	Inten Sblm Inhibisi (I_{n0})	Inten Sthl Inhibisi (I_{n2})	Persen Inhibisi (% I_2)
1	10^{-9}	9	2,331	1,962	15,830	1,782	1,415	20,594
2	10^{-8}	8	2,915	2,126	27,066	2,247	1,585	29,461
3	10^{-7}	7	3,527	2,133	39,523	2,492	1,673	32,865
4	10^{-6}	6	4,182	2,330	42,285	2,721	1,798	33,921
5	10^{-5}	5	4,518	2,422	46,392	3,193	1,812	39,536
6	10^{-4}	4	4,920	2,435	50,508	3,529	1,935	45,168
7	10^{-3}	3	5,527	2,530	54,224	3,813	2,030	46,761
8	10^{-2}	2	5,950	2,549	57,159	4,140	2,149	48,091
9	10^{-1}	1	6,449	2,557	60,350	4,568	2,257	50,591



Gambar 1. Hubungan konsentrasi ion Cd (II) terhadap persentase inhibisi

Kurva pada gambar 2 menunjukkan garis linear pada $-\log Cd$ dari 8 – 5 atau sama dengan konsentrasi $1,0 \times 10^{-8}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ M mempunyai kemiringan kurva (slope) masing-masing sebesar 0,576 dan 0,517 dengan nilai regresi masing-masing sebesar 0,978 dan 0,9819. Biosensor serat optik kitin deasetilase Cd(II) yang didesain dengan perbandingan kitosan : zeolite alam : kitin deasetilase (1:2:2) mempunyai nilai persentase inhibisi sebesar 27,126 % dan 29,461% dengan kisaran pengukuran $1,0 \times 10^{-8}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ M atau setara dengan 0,0830 - 8,30 ppm (10^{-3} Cd (II) 83,0 ppm). Pada kisaran konsentrasi ini dianggap paling baik untuk pengukuran ion d (II) karena persentase inhibisi paling mendekati nilai teoritis (20,30 %) Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa harga intensitas pada daerah linear mengalami kenaikan sesuai dengan bertambahnya konsentrasi ion Cd (II).

Limit deteksi ditentukan dengan membuat garis singgung pada fungsi linear yang Nernstian dan nonNernstian. Titik potong kedua garis diekstrapolasikan ke sumbu x sehingga diperoleh konsentrasi limit deteksi. Hasil penentuan limit deteksi untuk ion Cd (II) dapat dilihat pada gambar 5 berikut. Dari hasil ekstrapolasi terhadap sumbu x : $-\log Cd$ (II) diperoleh limit deteksi masing-masing sebesar 6,5 dan 6,8 atau setara dengan 5×10^{-6} M (0,028 ppm) dan $5,3 \times 10^{-6}$ M (0,033 ppm). Nilai ini relatif cukup kecil untuk pengukuran ion Cd (II) apabila dibandingkan dengan teknik SSA limit deteksinya 0,001 – 2 ppm. Kisaran pengukuran adalah 10^{-8} – 10^{-5} M. Kisaran yang lebar dapat dimungkinkan untuk mengukur Cd (II) pada berbagai konsentrasi sampel



Gambar 2. Nilai Limit Deteksi

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

Kondisi optimum membran kitosan enzim amobil pada aplikasi biosensor optik diperoleh pada membran nomor 2 dengan perbandingan kitosan: zeolite alam: kitin deasetilase (1 : 2 : 2)

1. Permeabilitas membran semakin meningkat dengan semakin meningkat konsentrasi zeolite alam
2. Persentase inhibisi pada biosensor optik hasil desain sebesar 27,126 % dan 29,461% dengan kisaran pengukuran $1,0 \times 10^{-8}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ M atau setara dengan 0,0830 - 8,30 ppm (10^{-3} Cd (II) 83,0 ppm).
3. Nilai limit deteksi yang dihasilkan sebesar 6,5 dan 6,8 atau setara dengan 5×10^{-6} M (0,028 ppm) dan $5,3 \times 10^{-6}$ M (0,033 ppm). Nilai ini relatif cukup kecil untuk pengukuran ion Cd (II) apabila dibandingkan dengan teknik SSA limit deteksinya 0,001 – 2 ppm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Agullo., 2003. Present and Future Role of Chitin and Chitosan in Food. *Journal Macromol. Bioschi.* 3 : 521 – 530.
- Ahmad, M dan Shahidan., 2003. Membran Kitosan Terdrop dengan Bromotimol Biru sebagai Penderia untuk Pengesanan Gas CO₂ Terlarut. *Malaysian Journal of Chemistry* Vol 5 No. 1 : 015 – 022.
- Alfonso, C., Nuero, OM., Santamaria, F., Reyes, F., 1995. Purification of a Heat- stable Chitin deacetylase from *Aspergillus nidulans* and its Role in Cell Wall Degradation. *Current Microbiol* (30) : 49 -54.
- Andreas, R. T and Narayanaswamy. R., 1995. Effect of Coupling Reagent on the Metal Inhibition of Immobilised Rease in an Optical Biosensor. *Journal Analyst*, 120 : 1549-1554
- Andreas, R. T and Narayanaswamy. R., 1997. Fibre Optic Pesticide Biosensor Based on Covalently Immobilised Acetylcholinesterase and Thymol blue ", *Talanta* , 44 : 1335-1352
- Boyer., Rodney., 2002. *Concepts in Biochemistry*. New York, Chichester, Toronto. John Wiley and Sons, Inc.
- Briggs, G.E., Haldane, J. B.S., 1995. A Note on The Kinetics of Enzyme Action. *Biochem. J.* 19.
- Cass, T and Ligler, F.S., 1998. *Immobilised Biomolecules in Analysis*. Oxford University Press. New York.
- Chen, 2002. Antibacterial Properties of Chitosan in Waterbone Pathogen. *J. Environ. Sci. Health A.* 37 : 1379-1390
- Guibal, 2004. Interaction Metal Ion with Chitosan – based Sorbents. *A Review Separation and Purification Technology*, 38 : 43 – 47.
- Krajewska, B, 2008. Urease Immobilised on Chitosan Membrane, Inactivation by Heavy Metal Ions ", *J. Chem Tech. Biotechnol* 52: 157-162.