

Pengembangan Metode Deteksi Neuraminidase Berdasarkan Reaksi Inhibisi Enzimatis Oleh Zanamivir Menggunakan Elektroda Boron Doped Diamond Termodifikasi Emas = Development of Neuraminidase Detection Method Based on Its Enzymatic Inhibition by Zanamivir Using Gold Modified Boron Doped Diamond Electrodes

Wulan Tri Wahyuni, examiner

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20424769&lokasi=lokal>

Abstrak

Neuraminidase (NA) merupakan enzim yang dapat dimiliki oleh virus, mikroba, dan mamalia, termasuk di antaranya mikroba dan virus patogen. Deteksi NA merupakan aspek penting dalam upaya mengawasi penyebaran penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba dan virus patogen tersebut. Di samping itu, analisis kuantitatif NA penting dalam penentuan komposisi vaksin. Pada penelitian ini dikembangkan metode deteksi NA dengan teknik elektrokimia berdasarkan inhibisi NA oleh zanamivir. Deteksi NA dilakukan berdasarkan perubahan respon elektrokimia zanamivir dalam buffer fosfat pH 5,5 saat terdapat NA dan tidak. Elektroda Boron doped diamond termodifikasi emas, yaitu Au-BDD dan AuNPs-BDD digunakan sebagai elektroda kerja dan pengukuran dilakukan menggunakan teknik voltametri siklik. Deteksi NA dikembangkan juga pada sistem magnetic beads dan sistem strip test. Pengembangan sistem magnetic beads dimaksudkan sebagai upaya untuk meningkatkan sensitivitas deteksi, sementara sistem strip test merupakan pengembangan awal untuk membuat piranti praktis pengukuran NA. Pengaruh mucin terhadap performa deteksi NA diamati dengan menggunakan mucin submaxillary 0,33 mg/mL.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terjadi korelasi linear antara konsentrasi zanamivir dengan intensitas puncak arus oksidasi dan reduksi Au pada elektroda BDD termodifikasi emas. Linearitas pengukuran zanamivir berdasarkan puncak arus reduksi emas pada elektroda Au-BDD diperoleh pada kisaran 5×10^{-6} - 1×10^{-4} M ($R^2 = 0,990$) dengan limit deteksi (LOD) $1,49 \times 10^{-6}$ M, sementara pada elektroda AuNPs-BDD diperoleh pada kisaran konsentrasi 1×10^{-6} - 1×10^{-5} M ($R^2 = 0,998$) dengan LOD $2,29 \times 10^{-6}$ M. Keberadaan NA menyebabkan konsentrasi zanamivir bebas dalam larutan berkurang dan menurunkan zanamivir yang teradsorpsi pada permukaan selektroda. Akibatnya puncak arus oksidasi dan reduksi Au pada elektroda Au-BDD dan AuNPs-BDD meningkat. Kalibrasi linear konsentrasi NA dengan puncak arus reduksi Au pada elektroda Au-BDD diperoleh pada kisaran 0 - 15 mU ($R^2 = 0,996$) dengan LOD 0,25 mU dan %RSD 1,18 %, sementara kisaran linear 0 - 12 mU ($R^2 = 0,997$), LOD 0,12 mU, dan %RSD 2,49% diperoleh saat pengukuran dilakukan dengan elektroda AuNPs-BDD. Keberadaan mucin tidak memberikan pengaruh yang berarti terhadap deteksi NA dengan metode yang dikembangkan. Sistem magnetic beads belum berhasil meningkatkan sensitivitas deteksi NA. Nilai LOD pengukuran yang diperoleh ialah sebesar 0,64 mU pada kisaran linear 0 - 8 mU. Deteksi NA pada sistem strip test yang dikombinasikan dengan pengukuran elektrokimia telah berhasil dikembangkan pada kisaran linear 0 - 15 mU dengan nilai LOD sebesar 0,26 mU. Deteksi NA dalam matriks mucin dapat dilakukan pada sistem strip test sekalipun keberadaan mucin dilaporkan dapat menurunkan presisi pengukuran.

.....Neuraminidase (NA) is a hydrolase enzyme which is commonly found in viruses, microbes, and mammals, including pathogenic microbes and viruses. Detection of NA is very important for monitoring the spread of such pathogen microbes and viruses. Meanwhile, the quantification of NA is also crucial for

vaccine composition investigation. Development of an electrochemical method for NA detection using gold modified boron doped diamond (Au-BDD and AuNPs-BDD) electrodes were conducted in this study. The detection method was developed based on the difference of electrochemical responses of zanamivir in the presence and the absence of NA in phosphate buffer solution pH 5,5. Measurements were performed using cyclic voltammetry technique. Detection of NA also developed on magnetic beads in order to improve the sensitivity of measurement. On the other hand, to build up a practical devices for NA detection, preliminary development of strip test was conducted by using Au-BDD as working electrode. The performance of detection method was evaluated in the presence of 0,33 mg/mL bovine submaxillary gland mucin. A linear calibration curve of zanamivir was observed in the concentration range of 5×10^{-6} - 1×10^{-4} M ($R^2 = 0,990$) with limit of detection (LOD) of $1,49 \times 10^{-6}$ M for Au-BDD electrode. Linear calibration curve in the concentration range of 1×10^{-6} - 1×10^{-5} M ($R^2 = 0,998$) with LOD $2,29 \times 10^{-6}$ M was observed on AuNPs-BDD. The presence of NA caused the concentration of free zanamivir in the solution decreases and less zanamivir can be adsorbed at the electrode.

As the result, the oxidation and the reduction peak currents of gold were increase. Linear calibration curve of NA was obtained in the concentration range of 0 - 15 mU ($R^2 = 0,996$), a LOD of 0,25 mU and %RSD of 1,18 % was achieved on Au-BDD electrode. Furthermore, linear calibration curve of NA on AuNPs-BDD electrode was in the concentration range of 0 - 12 mU ($R^2 = 0,997$) with LOD of 0,12 mU and %RSD of 2,49%. A comparable performance of NA detection was observed in the presence of mucin. Sensitivity of NA detection was decrease in magnetic beads system, the LOD of 0,64 mU was achieved in linear range of 0 - 8 mU. Detection of NA on strip test system was successfully developed in linear range of 0 - 15 mU with LOD of 0,26 mU. NA detection in the presence of mucin was demonstrated on strip test system, the result suggested that the precision was decreased. Nevertheless the method is still promising for pharmaceutical or medical application.