



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI PENGEMBANGAN IMMUNOSENSOR NANOPARTIKEL EMAS
(INTERAKSI NANOPARTIKEL DENGAN PROTEIN)**

SKRIPSI

**ANNISA FATIMAH
0606068871**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI PENGEMBANGAN IMMUNOSENSOR NANOPARTIKEL EMAS
(INTERAKSI NANOPARTIKEL DENGAN PROTEIN)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**ANNISA FATIMAH
0606068871**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi/Tesis/Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Annisa Fatimah

NPM : 0606068871

Tanda Tangan : ...

Tanggal : ...

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Annisa Fatimah
NPM : 0606068871
Program Studi : S1 Reguler Kimia
Judul Skripsi : Studi Pengembangan Immunosensor Nanopartikel Emas (Interaksi Nanopartikel Dengan Protein)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Ivandini TA, M.Si ()
Pembimbing : Dra. Sri Handayani, M.Biomed ()
Penguji : Dr. Yoki Yulizar ()
Penguji : Drs. Ismunaryo Moenandar, MPhil ()
Penguji : Dr. Endang Saepudin ()

Ditetapkan di :
Tanggal :

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, yang telah memberi limpahan nikmat yang tak ternilai sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, para keluarga, sahabat, serta umatnya yang setia hingga akhir zaman, dan semoga kita tergolong orang yang mendapat syafaatnya.

Penulisan skripsi yang berjudul Studi Pengembangan Immunosensor Nanopartikel Emas (Interaksi Nanopartikel dengan Protein) dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Departemen Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Ibu Dr. Ivandini Tribidasari A, selaku dosen pembimbing, dengan segenap keikhlasan dan kesabarannya telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini,
- (2) Ibu Dra. Sri Handayani, M. Biomed, selaku dosen pembimbing, dengan sabar dan ikhlas meluangkan waktu di tengah kesibukan untuk memberi saran dan masukan yang sangat berharga bagi penulis,
- (3) Bapak Dr. Ridla Bakri, M.Phil. selaku ketua Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia,
- (4) Bapak Asep Saefumillah S.Si., M.Si., Ph.D selaku pembimbing akademis yang telah sabar membimbing penulis selama menuntut ilmu di Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia,
- (5) Ibu Dra. Tresye Utari selaku koordinator penelitian Departemen Kimia FMIPA UI,

- (6) Bapak dan Ibu dosen Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia telah ikhlas dan sabar berbagi ilmu, nasehat dan pengalaman yang sangat berharga,
- (7) Bapak Drs Sunardi, M.Si dan seluruh staf laboratorium afiliasi yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data yang penulis perlukan,
- (8) Pak Mardji, Pak Hadi, Mas Eddy, Pak Trisno, Pak Hedi, Mbak Ina, Mbak Cucu, Mbak Atik, Mbak Indri, Mbak Emma, Mbak Tri, Pak Kiri, Pak Soleh dan seluruh staf Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia,
- (9) Papa, Mama, Hana, Kakek, Nenek dan keluarga besar yang telah memberikan bantuan dukungan moral, material, dan doa dengan ikhlas,
- (10) Muhammad Hafiz Auji, tambatan hati yang telah memberi dukungan, doa, *tausiyah* yang sangat berharga bagi penulis.
- (11) Sahabat yang setia berbagi cerita dan mewarnai hari-hari penulis Nissia, Faiza, Feri, Putu, Ayu, Kartika, dan Kharisma
- (12) Teman-temanku Sonia, Nadiroh, Nadia, Narita, Raima, Tere, Rindu, Egi, Reni, Lia, Nope, Wite, Tantri, Tanti, Nita, Desi W, Desi B, Linda, Nany, Nanik, Brit, Vania V, Vania R, Riri, Diana, Winda, Ntep, Nining, Kanty, Atyka, Indra, Hogan, Firman, Didit, Yudha, Zico, Noval yang telah membantu penulis di berbagai hal.
- (13) Kak Camelia, Kak Golda, Kak Iren, Kak Alex, Kak Trijan yang telah berbagi pengalaman, informasi, meminjamkan alat dan bahan penelitian.
- (14) Teman-teman angkatan 2005, 2006, 2007, 2008, 2009 dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, tanpa mengurangi rasa terima kasih penulis atas segala dukungan dan doa.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Meskipun skripsi ini jauh dari dari sempurna, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat bagi diri penulis pada khususnya dan para pembaca pada umumnya.

Penulis

2010

v

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annisa Fatimah
NPM : 0606068871
Program Studi : S1 Reguler
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :
Studi Pengembangan Immunosensor Nanopartikel Emas
(Interaksi Nanopartikel dengan Protein)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di :
Pada tanggal :
Yang menyatakan

(.....)

ABSTRAK

Nama : Annisa Fatimah
Program Studi : S1 Kimia
Judul : Studi Pengembangan Immunosensor Nanopartikel Emas
(Interaksi Nanopartikel dengan Protein)

Pengembangan biosensor berbasis antibodi (immunosensor) telah berkembang dalam beberapa tahun terakhir. Pada penelitian ini akan dikembangkan immunosensor menggunakan nanopartikel emas, sebagai *template*, yang dipadukan dengan teknik pelapisan bertahap (*layer by layer*) dengan polielektrolit membentuk nanokapsul. Nanokapsul ini peka terhadap antibodi (anti-insulin) sebagai lapisan terluar melalui adsorpsi elektrostatis. Nanokapsul yang dihasilkan digunakan untuk melakukan *sandwich immunoassay* untuk mendeteksi insulin. Penelitian ini membahas keefektifan metode assay dengan pemecahan inti dan tanpa pemecahan inti nanokapsul pada immunosensor yang dilakukan dengan teknik ASV, serta mengetahui ada tidaknya interaksi antara nanopartikel dengan protein yang dilakukan dengan spektrofotometer UV-Visible. Terjadinya perubahan absorbansi dan panjang gelombang pada spektrum menunjukkan adanya interaksi nanopartikel dengan protein. Nanopartikel lebih peka dengan protein dalam hal ini antibodi anti-insulin sebagai lapisan terluar melalui adsorpsi elektrostatis. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa konsentrasi Au hasil immunoassay tanpa pemecahan inti adalah sebesar 29,74 μM - 29,81 μM , sedangkan konsentrasi Au hasil immunoassay dengan pemecahan inti adalah sebesar 31,50 μM - 47,46 μM .

Kata kunci : nanopartikel, biosensor, immunosensor, *sandwich immunoassay*, teknik *layer by layer*
xii+52 halaman : 26 gambar; 2 tabel; 6 lampiran
Daftar Pustaka : 25 (1990-2010)

ABSTRACT

Name : Annisa Fatimah
Program Study : S1 Chemistry
Title : Development Study of Immunosensing Nanoparticles;
Interaction Study of Protein at Gold Nanoparticles

Development of biosensor based antibody (immunosensor) has grown in recent years. This research will develop immunosensor using gold nanoparticles as a template which is combined with layer by layer techniques to form polyelectrolyte nanocapsules. These are sensitive to antibody (anti-insulin) as the outer layer through electrostatic adsorption. Nanocapsules which are produced is used to make a sandwich immunoassay to detect insulin. This study discusses the effectiveness of the method of assay by core solution and without core solution of nanocapsule on immunosensor that was done by using ASV and determine whether there is interaction between the nanoparticles with the protein that was done by UV-Visible spectrophotometer, and also determine whether there is interaction between the nanoparticles with protein. UV-Visible spectrophotometer is used to characterize it. The change of absorbance and wavelength on the spectrum show the existence of nanoparticle interaction with proteins. Nanoparticles are more sensitive to the proteins (anti-insulin antibody as the outer layer) through electrostatic adsorption. The results of this study are immunoassay without core solution give concentration of Au amounted to 29.74 μM - 29.82 μM , whereas immunoassay with core solution give concentration of Au amounted to 31.50 μM - 47.46 μM .

Key Words : nanoparticle, biosensor, immunosensor, sandwich immunoassay, layer by layer technique

xii+52 pages : 26 pictures; 2 tables; 6 appendixes

Bibliography : 25 (1990-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kedudukan terhadap penelitian sebelumnya	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Nanopartikel	4
2.2 Nanopartikel emas	5
2.3 Teknik pembentukan layer by layer	6
2.4 Transmission Elektron Microscopy (TEM)	8
2.5 Immunosensor.....	9
2.6 Anodic Stripping Voltammetry	11
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Alat dan Bahan	14
3.1.1 Alat	14
3.1.2 Bahan	14
3.2 Prosedur Kerja	14
3.2.1 Pembuatan Larutan	14
3.2.1.1 Pembuatan Larutan HAuCl_4 1%	14
3.2.1.2 Pembuatan Larutan HAuCl_4 0.01 M	14
3.2.1.3 Pembuatan Larutan NaBH_4 0.075%	15
3.2.1.4 Pembuatan Larutan Natrium sitrat 38.8 mM	15
3.2.1.5 Pembuatan Larutan NaCl 1 mM	15
3.2.1.6 Pembuatan Larutan Poly (sodium-4-styrene-sulfonate) (PSS) 10mg/mL	15
3.2.1.7 Pembuatan Larutan Poly(diallyldimethyl-ammonium chloride) (PDDA) 10mg/mL	15
3.2.1.8 Pembuatan Larutan HCl 0.1 M	15
3.2.1.9 Pembuatan Deret Standar Au (III)	15
3.2.1.10 Pembuatan Larutan KCN 0.072 M	16

3.2.1.11	Pembuatan Larutan KCl 3.5 M	16
3.2.1.12	Pembuatan Jembatan Garam	16
3.2.1.13	Pembuatan Larutan PBS 0,5 M	16
3.2.1.14	Pembuatan Larutan Anti-Insulin	16
3.2.1.15	Pembuatan Deret Larutan Insulin	17
3.2.1.16	Pembuatan Larutan BSA 0,1% dalam PBS 0,1 M	17
3.2.1.17	Pembuatan Larutan BSA 1% dalam PBS 0,5 M	17
3.2.2	Sintesa Nanopartikel Emas	17
3.2.3	Sintesa Nanokapsul dengan Teknik <i>layer-by-layer</i>	17
3.2.4	Pelabelan Nanokapsul dengan Anti Insulin	18
3.2.5	<i>Immunoassay</i>	18
3.2.6	Pelabelan nanopartikel emas dengan insulin	18
3.2.7	Karakterisasi	18
3.2.7.1	Karakterisasi Nanopartikel Emas	18
3.2.7.2	Karakterisasi Nanokapsul	19
3.2.7.3	Karakterisasi Au (III) Hasil <i>Immunoassay</i>	19
3.2.7.4	Karakterisasi Au (III) Hasil <i>Immunoassay</i> dengan Penghancuran Inti Nanokapsul	19
3.2.7.5	Karakterisasi nanopartikel emas yang dilabel anti-insulin dan insulin	19
4.	PEMBAHASAN	20
4.1	Nanopartikel Emas (<i>Nanogold</i>)	20
4.1.1	Pembuatan nanopartikel emas	20
4.1.2	Karakterisasi koloid nanopartikel emas	23
4.1.2.1	Karakterisasi dengan spektrofotometer <i>UV-Visible</i>	23
4.1.2.2	Karakterisasi dengan <i>Transmission Electron Microscopy</i> (TEM)	24
4.2	Nanokapsul	25
4.2.1	Pembuatan nanokapsul	25
4.2.2	Karakterisasi nanokapsul	29
4.2.2.1	Karakterisasi dengan spektrofotometer <i>UV-Visible</i>	29
4.2.2.2	Karakterisasi dengan <i>Transmission Electron Microscopy</i> (TEM)	30
4.3	Penentuan kurva kalibrasi linier	31
4.4	Proses immunoassay insulin secara elektrokimia	35
4.5	Karakterisasi Au (III) secara Elektrokimia dengan ASV	37
4.6	Interaksi antara Nanopartikel Emas dengan Protein	41
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	44
	DAFTAR PUSTAKA	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kluster nanopartikel	5
Gambar 2.2	Nanogold dalam berbagai ukuran	6
Gambar 2.3	Struktur polielektrolit	7
Gambar 2.4	Ilustrasi teknik <i>layer by layer</i>	8
Gambar 2.5	Skema alat dan prinsip kerja TEM	9
Gambar 2.6	Skema prinsip kerja biosensor	10
Gambar 2.7	Ilustrasi proses <i>recognition</i> antibody dengan antigen	11
Gambar 2.8	Ilustrasi proses <i>anodic stripping voltametri</i>	13
Gambar 2.9	Contoh voltammogram	13
Gambar 4.1	Ilustrasi pembentukan nanopartikel emas	21
Gambar 4.2	(a) Larutan H ₂ AuCl ₄ (b) Larutan nanopartikel emas	22
Gambar 4.3	Spektra serapan UV-Vis larutan nanopartikel emas pada selang waktu tertentu	23
Gambar 4.4	Kurva kestabilan nanopartikel emas terhadap waktu	24
Gambar 4.5	Hasil foto TEM nanopartikel emas	25
Gambar 4.6	Ilustrasi interaksi elektrostatik antar lapisan polielektrolit	27
Gambar 4.7	Ilustrasi proses sentrifugasi	27
Gambar 4.8	Skema proses sentrifugasi dalam pengurangan jarak muatan ..	28
Gambar 4.9	Spektra serapan pembentukan lapisan nanokapsul	30
Gambar 4.10	Hasil foto TEM nanokapsul	31
Gambar 4.11	Voltamogram deret standar Au (III)	34
Gambar 4.12	Kurva kalibrasi Au(III)	34
Gambar 4.13	Skema immunoassay	36
Gambar 4.14	Ilustrasi proses <i>immunoassay</i> yang terjadi di dalam tabung mikroplat	37
Gambar 4.15	Karakterisasi Au (III) Hasil Proses <i>Immunoassay</i> tanpa pemecahan inti	38
Gambar 4.16	Skema <i>core dissolution</i> nanokapsul	39
Gambar 4.17	Karakterisasi Au (III) Hasil Proses <i>Immunoassay</i> dengan pemecahan inti	40
Gambar 4.18	Spektrum spektrofotometer nanopartikel emas dan insulin	42

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel respon arus Au (III) pada berbagai konsentrasi	34
Tabel 4.2	Tabel respon arus Au (III) pada berbagai konsentrasi insulin dengan pemecahan inti	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja Penelitian	46
Lampiran 2	Instrumen untuk Pengukuran	47
Lampiran 3	Data Pengamatan	48
Lampiran 4	Data Kestabilan Nanopartikel Emas Terhadap Waktu	49
Lampiran 5	Data Penentuan Kurva Kalibrasi Linier	50
Lampiran 6	Gambar Struktur Molekul	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Nanoteknologi, *nanoscience*, nanostruktur, dan nanopartikel adalah kata-kata yang sekarang ini banyak digunakan dalam literatur ilmiah. Material dengan skala nano memiliki aplikasi yang potensial di berbagai bidang antara lain kesehatan, industri, dan pendidikan. Penelitian mengenai nanopartikel telah banyak dilakukan antara lain menggunakan nanopartikel emas, perak, SiO₂, tembaga, dan sebagainya. Namun, dari berbagai material tersebut, nanopartikel emas memiliki karakter yang unik untuk diteliti. Nanopartikel Au memiliki *biocompatibility* yang baik dan menampilkan struktur elektronik, magnetik, sifat optis, dan katalitik yang unik. Sifat-sifat ini membuat nanopartikel Au sangat aplikatif sebagai bahan untuk sensor, baik biosensor maupun sensor kimia. (Sugunan, A., & Dutta, J. 2004)

Berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan daya guna nanopartikel emas, misalnya dengan modifikasi nanopartikel emas. Teknik pelapisan bertahap (*layer by layer*) menjadi pilihan alternatif untuk pembuatan nanostruktur seperti nanokapsul. Metode pelapisan bertahap (*layer by layer*) dapat mensinergikan antara bahan yang berbeda dengan cara yang relatif mudah, murah, dan sederhana. Keunggulan lain yang dimiliki oleh teknik pembentukan *layer by layer* (LbL) ini antara lain ketebalannya mudah dikontrol dan dapat digunakan untuk banyak molekul. Hal inilah yang mendorong para peneliti untuk menggunakan metode LbL untuk berbagai aplikasi, termasuk katalis, sensor elektrokimia, dan biosensor. Pembuatan nanokapsul dengan teknik LbL berprinsip pada interaksi elektrostatik. Di bidang bioteknologi, teknik ini dapat dilakukan untuk mempertahankan aktivitas biomolekul. (Crespilho, F. N., *et. al.* 2006).

Biosensor merupakan salah satu metode analisis biomolekul yang sekarang ini banyak diteliti dan dikembangkan karena memiliki aplikasi di berbagai sektor, seperti kesehatan dan industri. Kombinasi reaksi biologis yang sangat spesifik dengan transduser yang tepat pada *biosensor* memberikan

sejumlah keuntungan, seperti sensitivitas dan spesifisitas unsur biologis yang tinggi. *Recognition* atau pengenalan analit oleh elemen biologis ini jauh lebih unggul dari sistem pengenalan bahan kimia. Beberapa enzim bahkan dapat membedakan stereoisomer dari analit. Biosensor juga menyediakan waktu respon yang pendek dan dalam banyak kasus memungkinkan pengukuran *real-time*.

Pengembangan *biosensor* berbasis antibodi, yang dikenal dengan immunosensor, telah berkembang selama beberapa tahun terakhir. Sebuah terobosan dalam bidang ini diumumkan oleh Leland C. Clark pada tahun 1962 di simposium New York Academy of Sciences. Penelitian ini menggambarkan konsep konstruksi perangkat elektrokimia untuk analisis glukosa yang cepat, murah, selektif, dan sensitif diproduksi dengan imobilisasi dari enzim glukosa oksidase di sekitar sensor elektrokimia oksigen [Clark dan Lyons, 1962]. Kemudian, setelah desain sensor ini berkembang secara signifikan, banyak penelitian dilakukan mengenai elektroda enzim. Enzim diimmobilisasi dengan prosedur, substrat, dan produk yang berbeda. Pada tahun 1969, Guilbault dan Montalvo melaporkan enzim pertama biosensor berdasarkan potensiometri. (Puari, L. O. A. 2009).

Beberapa studi telah dipublikasikan untuk menentukan level glukosa dan insulin. Deteksi insulin yang selama ini dilakukan antara lain dengan metode *radioimmunoassay* (RIA) atau *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA). Metode ini memiliki kelebihan dan kelemahan tersendiri. Misalnya metode *radioimmunoassay* (RIA) sangat spesifik dan sensitif, tetapi untuk melakukannya dibutuhkan alat khusus dan biaya mahal. RIA juga membutuhkan perlakuan khusus, karena melibatkan senyawa radioaktif. Oleh karena itu diperlukan adanya terobosan di bidang ini untuk mengembangkan potensi immunosensor dengan cara sederhana namun sensitif.

Aplikasi elektrokimia yang luas di bidang *monitoring* telah meningkatkan perhatian para peneliti untuk mengembangkan pengukuran level insulin dan glukosa dengan teknik elektrokimia. Pada penelitian ini akan dikembangkan immunosensor menggunakan nanopartikel emas yang dipadukan dengan teknik pelapisan bertahap (*layer by layer*) polielektrolit membentuk nanokapsul.

Nanokapsul dengan *template* nanopartikel emas ini peka terhadap antibodi (anti-insulin) sebagai lapisan terluar melalui adsorpsi elektrostatis. Nanokapsul yang dihasilkan digunakan untuk melakukan *sandwich immunoassay* untuk mendeteksi insulin dan dilakukan karakterisasi menggunakan teknik elektrokimia. Pada penelitian ini juga akan dibandingkan keefektifan *immunoassay* nanokapsul antara nanokapsul yang dipecah terlebih dahulu dengan tanpa pemecahan inti. Namun, penting untuk diketahui ada tidaknya interaksi antara nanopartikel dengan protein agar dapat memperoleh hasil yang optimal.

1.2 Perumusan masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas, yang telah memberi gambaran tentang pentingnya peranan modifikasi nanopartikel emas pada proses imunosensor, maka fokus permasalahan dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana keefektifan penggunaan nanokapsul dengan *template* nanopartikel emas
2. Apakah protein melekat pada nanokapsul
3. Adakah interaksi antara nanopartikel dan protein

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Membuat nanokapsul dari *template* nanopartikel emas dengan teknik pelapisan bertahap,
2. Mengaplikasikan nanokapsul yang dilapisi antigen sebagai imunosensor insulin,
3. Mengetahui adanya interaksi antara nanopartikel dengan protein

1.4 Kedudukan terhadap penelitian sebelumnya

Penelitian mengenai sintesis nanokapsul dengan teknik pelapisan bertahap (*layer-by-layer*) untuk pengembangan imunosensor telah banyak dilakukan di antaranya Lumita Oktarin Ayu Puari (2009) dan Camelia Nevrina Larasati (2009). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian tersebut.

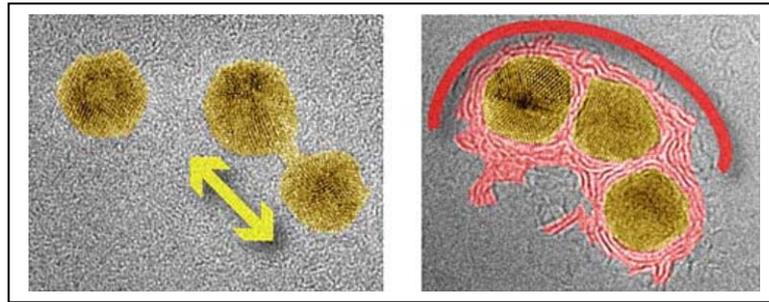
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanopartikel

Nanopartikel merupakan suatu material yang ukurannya berkisar antara 1-100 nm dan dapat berupa nonkristal, kristal teragregasi, atau kristal tunggal. Karakter nanopartikel meliputi sifat elektronik, optik, dan katalitik yang unik, yang berhubungan dengan metode bagaimana mempersiapkan nanopartikel untuk mengontrol bentuk dan ukuran nanopartikel serta fungsinya. Sifat fisik dan kimia yang unik dari material nanostruktur memberikan prospek yang sangat baik untuk peristiwa *interfacing biological recognition* dengan transduksi sinyal elektronik dan untuk merancang perangkat bioelektronik dengan fungsi tertentu. Bentuk nanopartikel bervariasi dari bentuk bulatan, berlapis-lapis, kristal, hingga tabung.

Nanopartikel dapat dibuat dengan berbagai cara di antaranya *wet chemical proces*, proses mekanik, *form-in-place process*, dan *gas-phase synthesis*. *Wet chemical process* yaitu proses seperti sintesis koloid (sol-gel) dan metode hidrotermal. Pada prinsipnya proses ini mencampur ion-ion dengan jumlah tertentu dengan mengontrol suhu dan tekanan untuk membentuk material yang tidak larut dalam larutannya dan endapan diperoleh setelah dilakukan penyaringan atau *spray drying*. Pada *mechanical process*, material ditumbuk secara mekanik untuk mendapatkan partikel yang lebih halus. *Form-in-place process* spesifik untuk membuat nanopartikel yang berlapis. *Gas-phase synthesis* biasa digunakan untuk mengontrol perkembangan *carbon nanotube* dengan proses *catalytic cracking*.



[Sumber : <http://www.bnl.gov/>]

Gambar 2.1 Nanopartikel Emas yang Dikarakterisasi dengan TEM

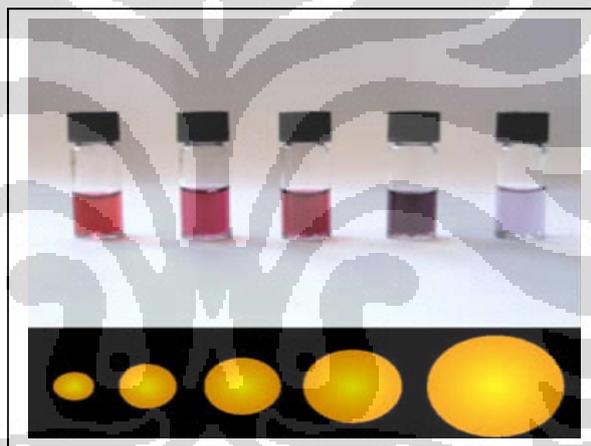
Karakterisasi nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam instrumen, di antaranya: *spektrofotometer UV-Vis*, *elektron microscopy (TEM, SEM)*, *Atomic Force Microscopy (AFM)*, *Dynamic Light Scattering (DLS)*, *X-ray Photoelektron Spectroscopy (XPS)*, *Powder X-ray Diffractometry (XRD)*, dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*.

2.2 Nanopartikel Emas

Nanopartikel emas (*nanogold*) merupakan partikel emas dengan ukuran berkisar antara 1-100 nm. Nanopartikel emas biasanya tersuspensi dalam cairan dan berupa koloid. Cairan tersebut memiliki warna yang berbeda-beda, bergantung pada ukuran partikel. Nanopartikel yang berukuran kurang dari 100 nm berwarna merah rubi, sedangkan material *bulk* emas berwarna kuning. Nanopartikel emas memiliki sifat fisik yang unik. Nanopartikel yang memiliki ukuran sama, dapat menghasilkan warna yang berbeda bergantung pada keadaan partikelnya. Nanogold yang berukuran di bawah 30 nm, akan berwarna merah rubi jika partikelnya dalam keadaan tunggal dan akan berwarna biru-keabu-abuan jika partikelnya saling bergabung. Perbedaan warna koloid partikel emas berdasarkan ukuran dapat dilihat pada Gambar 2.2. Nanopartikel emas sering digunakan pada berbagai aplikasi karena sifat optik dan sifat elektronik yang dimilikinya. Partikel ini menunjukkan *surface plasmon resonance (SPR)* yang kuat pada media *aqueous* pada 520 nm. Frekuensi resonansi nanopartikel diketahui bergantung pada ukuran, bentuk, sifat material, medium lingkungan,

dan interaksi dengan nanopartikel lainnya.

Cara yang lazim digunakan dalam sintesis nanopartikel yaitu sintesis dalam cairan (*liquid chemical methods*), yakni sintesis dalam liquid dengan cara mereduksi asam kloroaurat ($\text{H[AuCl}_4\text{]}$). Larutan $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ yang telah dilarutkan kemudian diaduk dengan kecepatan tinggi, sementara zat pereduksi ditambahkan yang bertujuan mereduksi ion Au^{3+} menjadi atom emas netral (Au^0). Larutan berada dalam keadaan jenuh ketika atom emas yang terbentuk semakin banyak dan lama-kelamaan akan mengendap dengan bentuk sub-nanometer, Kecepatan pengadukan yang tinggi akan mengakibatkan ukuran partikel menjadi seragam. Zat penstabil diperlukan dalam sintesis nanopartikel untuk mencegah penggumpalan nanopartikel emas akibat interaksi antar partikel logam.



[Sumber : <http://www.webexhibits.org/causesofcolor/9.html>]

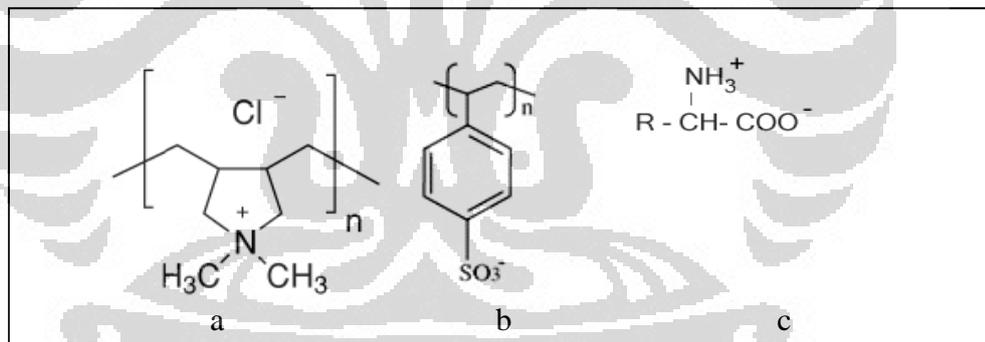
Gambar 2.2 Nanogold dalam Berbagai Ukuran

2.3 Teknik pembentukan *layer by layer*

Teknik pelapisan bertahap (*layer by layer*) telah menjadi pilihan alternatif untuk pembuatan nanostruktur seperti nanokapsul. Metode *layer by layer* (LbL) dapat mensinergikan antara bahan yang berbeda sifat dengan cara yang relatif mudah, murah, dan sederhana. Hal inilah yang mendorong peneliti untuk menggunakan metode LbL untuk berbagai aplikasi, termasuk katalis, sensor elektrokimia dan biosensor. Metode LbL juga berperan untuk studi dalam elektrokimia, seperti dalam mekanisme transport muatan dan imobilisasi mediator redoks.

Teknik pembentukan LbL didasarkan pada adsorpsi antara spesi bermuatan positif dan negatif yang terdapat dalam larutan. Kelebihan atau sisa larutannya setelah tiap tahapan adsorpsi, dicuci dengan pelarut dan sehingga didapatkan lapisan tipis dari spesi bermuatan pada permukaan yang siap digunakan untuk tahapan adsorpsi selanjutnya.

Polielektrolit yang digunakan pada teknik pelapisan bertahap terdiri atas beberapa jenis antara lain polikation, polianion, dan *polyampholyte*. Polikation merupakan polielektrolit yang terdiri atas muatan positif di sepanjang rantainya. Salah satu contoh polikationik yaitu polidialildimetil ammonium klorida (PDMA). Polianion merupakan polielektrolit yang terdiri atas muatan negatif di sepanjang rantainya, contohnya polistiren sulfonat (PSS). *Polyampholyte* adalah jenis polielektrolit yang memiliki muatan positif maupun negatif di sepanjang rantai. Contoh *polyampholyte* yaitu asam amino yang bersifat amfoter pada protein. Interaksi akibat perbedaan muatan pada masing-masing polielektrolit menjadi dasar dari teknik pelapisan bertahap.

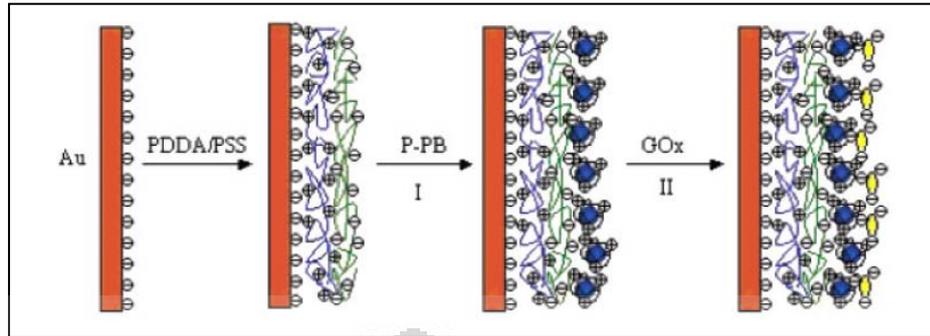


Keterangan :
 a = struktur polidialildimetil ammonium klorida (PDMA)
 b = struktur polistiren sulfonat (PSS)
 c = asam amino sebagai *zwitter ion*

[Sumber : http://www.chemistry.iitd.ac.in/chemcos/issue-V/SV_surfaces.html]

Gambar 2.3 Struktur Polielektrolit

Keunggulan yang dimiliki oleh teknik pembentukan LbL ini adalah mudah, ketebalan mudah dikontrol, dan dapat digunakan untuk banyak molekul. Proses pembentukan LbL ini tidak membutuhkan komponen dengan tingkat kemurnian yang tinggi dan peralatan yang canggih. Skema proses pembentukan LbL ditunjukkan pada Gambar 2.4.



[Sumber : Frank N, C., Valtencir , Z., Osvaldo, N., Oliveira Jr., dan Francisco, C.N. (2006). *Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review*. Brazil: Universidade de São Paulo.]

Gambar 2.4 Ilustrasi Teknik *Layer by Layer*

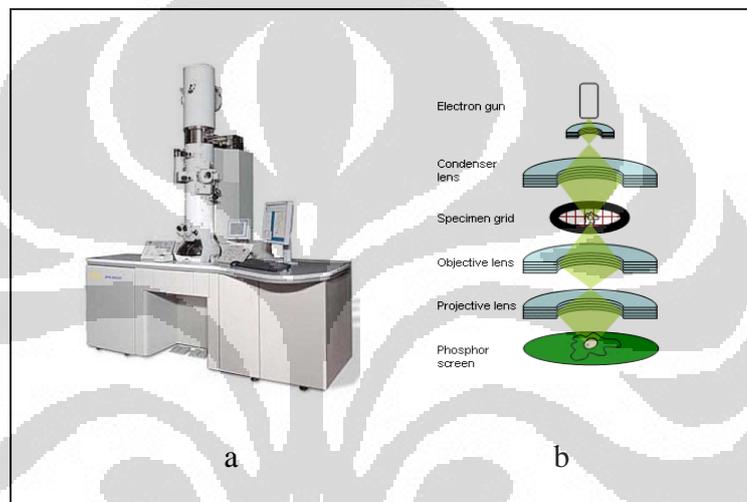
2.4 Transmission Elektron Microscopy (TEM)

Transmission elektron microscope (TEM) adalah sebuah mikroskop elektron yang cara kerjanya mirip dengan cara kerja proyektor *slide*, dalam metode ini, elektron ditembuskan ke dalam obyek pengamatan dan pengamat mengamati hasil tembusannya pada layar. Mikroskop transmisi eletron saa tini telah mengalami peningkatan kinerja hingga mampu menghasilkan resolusi hingga 0,1 nm (atau 1 angstrom) atau sama dengan pembesaran sampai satu juta kali.

Transmission elektron microscope (TEM) dapat mengkarakterisasi morfologi, kristalografi, dan komposisi suatu sampel. Morfologi yang dikarakterisasi dapat berupa ukuran, bentuk, dan susunan partikel yang membentuk spesi. Karakterisasi kristalografi bertujuan untuk mengetahui susunan atom dalam spesimen, derajat keteraturan, serta deteksi skala ukuran atom. Komposisi suatu sampel dikarakterisasi untuk mengetahui unsur-unsur dan senyawa yang terdapat pada sampel, rasio relatif, dan ukuran diameter atom unsur penyusunnya.

Prinsip kerja TEM yaitu sebuah sumber cahaya di bagian atas mikroskop memancarkan elektron yang berjalan melalui ruang vakum pada kolom mikroskop. TEM menggunakan lensa elektromagnetik untuk memfokuskan

elektron menjadi sinar yang sangat tipis. Berkas elektron kemudian akan melewati spesimen yang diamati bergantung pada kerapatan materinya, beberapa elektron tersebar dan menghilang dari *beam*. Kemudian elektron dikumpulkan menuju layar *fluorescent* yang menimbulkan citra bayangan dari spesimen. Citra bayangan bagian yang berbeda ditampilkan dalam kegelapan yang bervariasi menurut kepadatannya. Skema alat dan prinsip kerja TEM dapat dilihat pada Gambar 2.5.



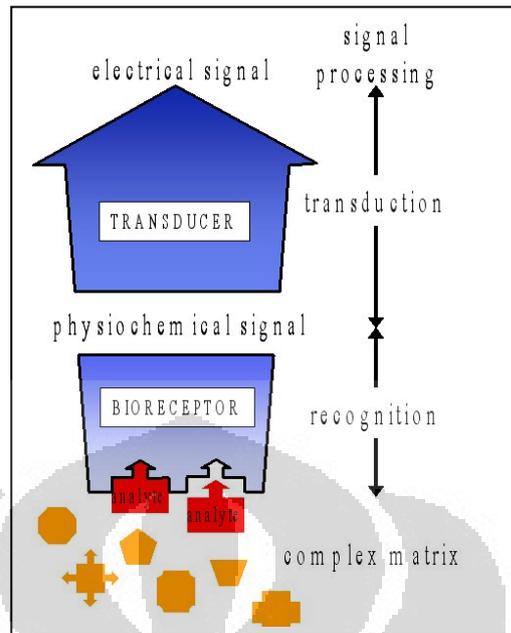
Keterangan : a = alat TEM
b = prinsip kerja TEM

[Sumber : <http://www.directindustry.com/prod/jeol/transmission-electron-microscope-tem-20754-105806.html>: <http://universe-review.ca/R11-13-microscopes.htm>]

Gambar 2.5 Skema Alat dan Prinsip Kerja TEM

2.5 Immunsensor

Biosensor adalah peralatan analitik yang merupakan penggabungan antara komponen biologi (enzim) dan transduser untuk mendeteksi suatu senyawa target. Enzim yang digunakan adalah yang dapat bereaksi secara selektif dengan substrat (Guilbault et al., 2004). Biosensor memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi, kecepatan respon, biaya yang rendah serta pengoperasiannya yang mudah. Oleh karena itu, biosensor menjadi suatu peralatan penting untuk mendeteksi komponen kimia dan biologi pada obat-obatan, makanan, dan pemantauan lingkungan.



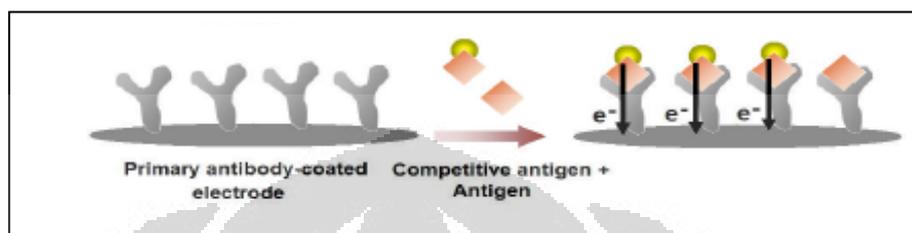
[Sumber : <http://www.karstenfaehnrich.de/Biosensors/biosensors.htm>]

Gambar 2.6 Skema Prinsip Kerja Biosensor

Prinsip kerja biosensor yaitu suatu sampel dilewatkan pada membran bioreseptor. Analit tertentu yang terdapat dalam sampel berinteraksi dengan sensor biologis yang sesuai. Proses ini dinamakan *biorecognition*. *Biorecognition* adalah pengenalan analit oleh *biological-sensing element*. Elemen ini selektif dalam mengenali molekul biologis tertentu melalui reaksi, adsorpsi spesifik, atau proses fisik atau kimia lainnya. *Biological-sensing element* dapat berupa enzim, antibodi, sel, jaringan, asam nukleat, asam nukleat peptida. Produk ini kemudian melewati membran lain dan mencapai transduser, yang berfungsi mengubah sinyal biokimia menjadi sebuah sinyal listrik.

Biosensor dapat diklasifikasikan menurut unsur pengenalan biologi, salah satunya immunosensor. Immunosensor merupakan jenis biosensor dengan reaksi biologis yang terjadi merupakan reaksi antara antibodi dengan antigen. Kerja immunosensor didasarkan pada prinsip pengujian sistem imun pada fase padat dengan menggunakan antibodi atau antigen yang diimmobilisasi pada suatu pendukung padat, sehingga terjadi interaksi permukaan padat-cair. Perubahan yang dihasilkan dari interaksi antara analit dengan bioreseptor akan diubah oleh

transduser menjadi sinyal yang dapat diukur. Desain dan persiapan antarmuka antara biokomponen dan *material detector* yang optimum adalah kunci penting pengembangan sensor. Gambar 2.8. merupakan skema pelekatan antibodi dengan antigen.



[Sumber : Mun'delanji, V., Kagan, K., dan Eiichi, T. An Overview of Label-free Electrochemical Protein Sensors. (2007). Jepang : Osaka University]

Gambar 2.7 Ilustrasi Proses Recognition Antibodi dengan Antigen

2.6 *Anodic Stripping Voltammetry*

Anodic Stripping Voltammetry (ASV) merupakan salah satu metode elektrokimia yang sangat sensitif digunakan untuk mendeteksi suatu logam karena memiliki kemampuan untuk mengukur konsentrasi yang sangat rendah (*low detection limit*). Instrumen yang digunakan dalam metode ASV adalah potensiostat, yang merupakan alat elektronik yang dapat mengontrol beda potensial antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dalam suatu sel elektrokimia. *Anodic Stripping Voltammetry* (ASV) menggunakan tiga sistem elektroda yaitu elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pembanding (*reference electrode*), dan elektroda pendukung (*counter electrode*).

Elektroda kerja merupakan tempat reaksi redoks berlangsung. Elektroda ini umumnya terbuat dari logam, bahan semikonduktor, dan juga karbon. Elektroda logam yang sering digunakan adalah emas (Au), platina (Pt), dan perak (Ag). Elektroda semikonduktor yang umum digunakan adalah silikon (Si) dan Galium (Ga). Elektroda karbon terdapat beberapa jenis antara lain pasta, *glassy carbon*, dan juga *pyrolytic graphite*.

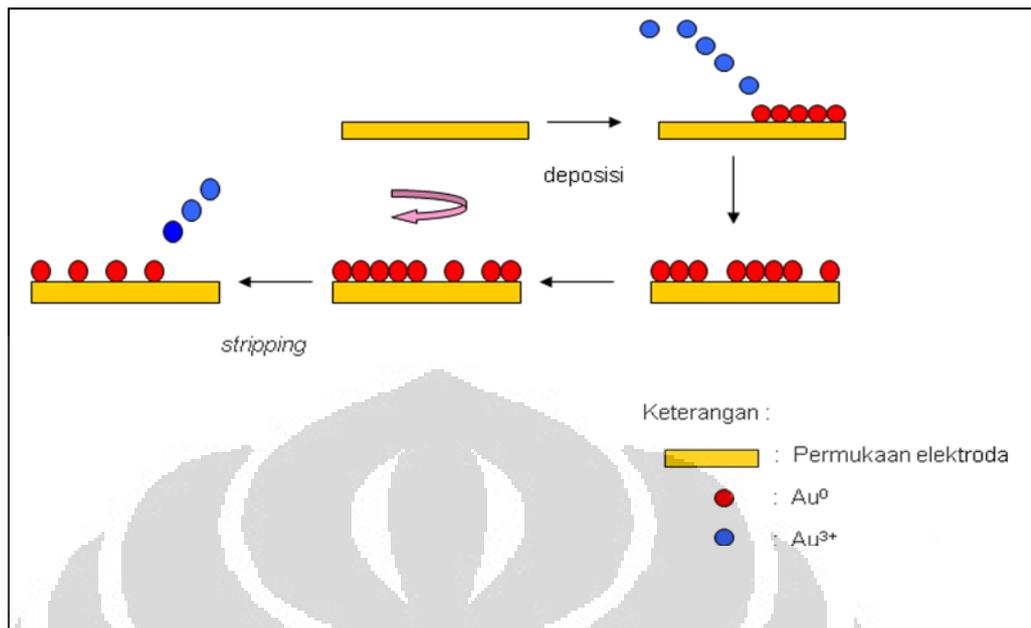
Elektroda pembanding adalah elektroda yang potensialnya dibuat konstan sehingga dapat digunakan sebagai pembanding terhadap perubahan yang terjadi

pada elektroda kerja. Elektroda pembanding memiliki syarat antara lain harga potensial setengah sel yang diketahui, konstan, dan tidak peka terhadap komposisi larutan yang sedang diamati. Contoh elektroda pembanding antara lain elektroda kalomel dan Ag/AgCl. Elektroda Ag/AgCl ini dapat dibuat dengan mudah melalui elektrolisis larutan klorida menggunakan anoda perak, sehingga membentuk lapisan elektrolit AgCl pada permukaan kawat perak.

Elektroda pendukung adalah elektroda yang berperan sebagai sumber atau tempat masuknya elektron, sehingga arus dapat dilewatkan melalui sel. Elektroda pendukung yang biasa digunakan adalah platina (Pt) yang dapat berupa kawat lurus, kawat spiral, atau cakram (*disk*). Zat lain yang bersifat inert seperti karbon grafit pun dapat juga digunakan sebagai elektroda pendukung.

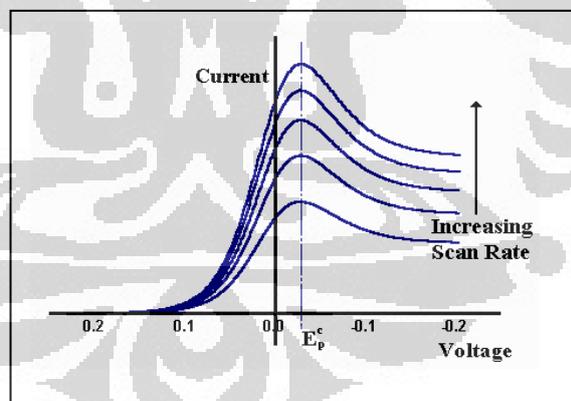
Dalam sel elektrokimia digunakan larutan elektrolit yang berfungsi sebagai medium penghantar. Dengan adanya larutan elektrolit, transfer muatan terjadi melalui pergerakan ion-ion elektrolit tersebut. Syarat larutan elektrolit yang digunakan harus dapat menghantarkan arus listrik dan tidak mengganggu reaksi kimia yang terjadi. Elektrolit dapat berupa larutan, garam, atau padatan konduktor seperti natrium- β -alumina yang memiliki ion natrium yang dapat bergerak. Untuk menambah konduktivitas elektrolit, kadang perlu ditambahkan suatu elektrolit pendukung seperti larutan garam anorganik, asam, atau basa.

Dalam metode ASV terdapat dua tahapan reaksi yang terjadi pada permukaan elektroda. Tahapan tersebut antara lain tahap deposisi dan tahap penglepasan (*stripping*). Tahap pertama yaitu tahap pre-konsentrasi atau tahap deposisi analit pada permukaan elektroda melalui reaksi reduksi. Dalam tahap ini elektroda diatur pada potensial tetap dan ion logam dalam larutan dibiarkan terdeposisi (tereduksi di permukaan elektroda). Dalam tahap ini analit yang telah dideposisikan di permukaan elektroda, yang berupa ion logam, dioksidasi kembali dengan memberikan potensial yang lebih positif sehingga arus anodik atau arus oksidasi dapat diukur. Pada proses ini, arus anodik yang terukur akan menghasilkan bentuk puncak (voltammogram) pada *analyzer* (kurva voltase dan arus) yang digunakan untuk analisis kuantitatif dan kualitatif untuk ion logam. Proses ASV diilustrasikan pada Gambar 2.9.



[Sumber : Caruso, F., Dieter, T., Helmuth, M.(2002). *Nanoencapsulated Microcrystalline Nanoparticles for Superamplified Biochemical Assay*. Jerman : 8sens.biognosticAG]

Gambar 2.8 Ilustrasi proses *Anodic Stripping Voltammetry*



[Sumber : <http://web.nmsu.edu/~snsn/classes/chem435/Lab13/intro.html>]

Gambar 2.9. Contoh Voltammogram

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain : peralatan gelas, timbangan analitis, tabung mikro, alat pengocok (Vortex), *centrifuge*, botol *vial*, *magnetic stirrer*, potensiostat, instrumen TEM, instrumen spektrofotometer UV-VIS, dan instrumen ASV.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa padatan dan larutan. Bahan padatan, antara lain : $\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich), Polistiren-sulfonat (PSS), natrium sitrat, NaBH_4 , NaCl , KCl , KCN , agar-agar, Bovine Serum Albumin (BSA), Anti-insulin, dan insulin. Sedangkan bahan berupa larutan, antara lain : polidialildimetilamonium klorida (PDDA), HCl , dan n-propanol.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Pembuatan Larutan

3.2.1.1 Pembuatan Larutan HAuCl_4 1%

Padatan $\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, Aldrich ($M_r = 339,79$ gram/mol) sebanyak 0,25 gram dilarutkan dalam aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas.

3.2.1.2 Pembuatan Larutan HAuCl_4 0,01 M

Padatan $\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, Aldrich ($M_r = 339,79$ gram/mol) sebanyak 0,034 gram dilarutkan dalam aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas.

3.2.1.3 Pembuatan Larutan NaBH_4 0,075%

Padatan NaBH_4 ($M_r = 37,87$ gram/mol) sebanyak 0,0075 gram dilarutkan dalam aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas. Larutan ini harus segar.

3.2.1.4 Pembuatan Larutan Natrium sitrat 38,8 mM

Padatan $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($M_r = 294,1$ gram/mol) sebanyak 0,1004 gram dilarutkan dalam aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas. Larutan ini harus segar.

3.2.1.5 Pembuatan Larutan NaCl 1 mM

Sebanyak 0,5 mL larutan NaCl 0,5 M diencerkan dengan aquades di dalam labu ukur 250 mL hingga tanda batas.

3.2.1.6 Pembuatan Larutan Poli(sodium-4-stirensulfonat) (PSS) 10mg/mL

Padatan poli(sodium-4-stirensulfonat) (PSS) sebanyak 1 gram dilarutkan dengan NaCl 1 mM dan diencerkan hingga tanda batas labu ukur 100 mL.

3.2.1.7 Pembuatan Larutan Poli(diallildimetil ammonium klorida) (PDDA) 10mg/mL

Padatan poli(diallildimetil ammonium klorida) (PDDA) sebanyak 1 gram dilarutkan dengan NaCl 1 mM dan diencerkan hingga tanda batas dalam labu ukur 100 mL.

3.2.1.8 Pembuatan Larutan HCl 0,1 M

25 mL larutan HCl 1 M diencerkan dengan aquades hingga tanda batas labu ukur 250 mL.

3.2.1.9 Pembuatan Deret Standar Au (III)

Larutan HAuCl_4 0.001 M sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL diencerkan dengan HCl 0,1 M di dalam labu ukur 25 mL hingga tanda batas.

3.2.1.10 Pembuatan Larutan KCN 0,072 M

KCN sebanyak 0,1167 gram dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan hingga tanda batas.

3.2.1.11 Pembuatan Larutan KCl 3,5 M

KCl sebanyak 2.6075 gram dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan hingga tanda batas.

3.2.1.12 Pembuatan Jembatan Garam

KCl sebanyak 1,75 gram dilarutkan dalam 5 mL aquades dan diaduk, kemudian bubuk agar-agar sebanyak 0,75 gram ditambahkan, selanjutnya dipanaskan hingga mengental. Tube elektroda pembanding dicelupkan dalam campuran tersebut hingga ketinggian 1,5 cm. Setelah itu tube diangkat, didinginkan dan disimpan dalam larutan KCl 3,5 M.

3.2.1.13 Pembuatan Larutan PBS 0,5 M

KH_2PO_4 sebanyak 4,25 gram dicampur dengan K_2HPO_4 sebanyak 5,4375 gram dilarutkan dalam labu ukur 250 mL dengan aquades

3.2.1.14 Pembuatan Larutan Anti-Insulin

Anti-insulin dengan kadar 47 mg/mL sebanyak 53 μL dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dengan PBS 0,1 M. Larutan anti-insulin ini memiliki kadar 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan anti-insulin ini sebanyak 20 μL kemudian diencerkan dalam labu ukur 50 mL untuk mendapatkan kadar anti-insulin sebesar 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan ini kemudian dipipet sebanyak 2,5 mL dan diencerkan dalam labu ukur 25 mL untuk mendapatkan kadar anti insulin 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.2.1.15 Pembuatan Deret Larutan Insulin

Insulin sebanyak 1 mg ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 50 mL. Larutan insulin tersebut dipipet sebanyak 2,5 mL dan dilarutkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL larutan tersebut diencerkan dalam masing-masing labu ukur 10 mL untuk membuat larutan insulin dengan kadar 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$.

3.2.1.16 Pembuatan Larutan BSA 0,1% dalam PBS 0,1 M

Bovine serum albumin (BSA) sebanyak 0,01 g dilarutkan dalam 10 mL PBS 0,1 M.

3.2.1.17 Pembuatan Larutan BSA 1% dalam PBS 0,5 M

BSA sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 10 mL PBS 0,5 M.

3.2.2 Sintesis Nanopartikel Emas

1 mL 1% HAuCl_4 ditambahkan ke dalam 99 mL air pada temperatur ruang (20–23 °C) dan diaduk selama 3 menit diikuti dengan penambahan 2 mL sodium sitrat 38.8 mM. Sesudah 3 menit, 1 mL larutan segar 0.075% NaHB_4 dimasukkan. Koloid yang dihasilkan diaduk selama 15 menit hingga koloid berubah warna menjadi merah rubi.

3.2.3 Sintesis Nanokapsul dengan Teknik *layer-by-layer*

Pembentukan nanokapsul dilakukan dengan proses adsorpsi 9 mL koloid nanopartikel emas dalam 5 mL larutan 10mg/mL poli(diialildimetil ammonium klorida) (PDDA) dalam 0,5 M NaCl. Campuran tersebut didispersikan selama 20 menit. Suspensi kemudian dicuci dengan cara disentrifugasi pada 3500 rpm hingga terendapkan sempurna, kemudian diredispersi. Deposisi lapisan selanjutnya dilakukan dalam 4 mL larutan 10 mg/mL poli(sodium-4-stirensulfonat) (PSS) dalam larutan 0,5 M NaCl untuk menghasilkan permukaan yang memiliki muatan berlawanan. Multilapisan PDDA-PSS-PDDA diharapkan dapat terbentuk.

3.2.4 Pelabelan Nanokapsul dengan Anti Insulin

Sebanyak 1 mL suspensi nanokapsul (0,8 mg/mL) ditambahkan 2 mL larutan anti-insulin 0,1 $\mu\text{g/mL}$ dalam PBS pH 7,4. Setelah itu, campuran diinkubasi pada 20 °C selama 20 menit, kemudian disentrifugasi pada 3500 rpm selama 4 menit. Anti-Insulin yang tidak berikatan dihilangkan dengan pencucian oleh PBS pH 7,4.

3.2.5 *Immunoassay*

Beberapa tabung mikropelat Nunc Maxisorp 96 dilapisi dengan 100 μL anti-insulin (0,1 $\mu\text{g/mL}$) dalam PBS 7,4 kemudian diinkubasi pada 4°C selama 1 malam. Sesudah proses inkubasi, plat dicuci dengan larutan 0,1% (w/v) BSA dalam 0,1 M PBS, diikuti dengan *blocking* dengan 1% BSA dalam 0,5 M PBS pada 37°C selama 1 jam. Sesudah pencucian insulin, dengan konsentrasi 0,01-0,05 $\mu\text{g/mL}$, sebanyak 100 μL dimasukkan ke 5 tabung berbeda dan diinkubasi pada 37°C selama 80 detik. Suspensi encer nanokapsul sebanyak 100 μL , yang telah dilabel dengan anti-insulin, kemudian dimasukkan ke 5 tabung yang telah berisi insulin terimobilisasi. Setelah itu, dilakukan inkubasi pada 37°C selama 20 menit. Nanokapsul yang tidak berikatan dihilangkan dengan pencucian.

3.2.6 Pelabelan nanopartikel emas dengan insulin

Tabung sentrifuge dilapisi dengan antiinsulin dan diinkubasi pada 4°C. Sebanyak 3 mL suspensi nanopartikel emas dimasukkan ke dalamnya disertai penambahan antiinsulin sebanyak 6 mL kemudian dikocok menggunakan vorteks. Ke dalam tabung tersebut, dimasukkan insulin dan dikocok perlahan kemudian dilakukan inkubasi pada 37°C selama 20 menit.

3.2.7 Karakterisasi

3.2.7.1 Karakterisasi Nanopartikel Emas

Nanopartikel emas yang telah terbentuk dikarakterisasi dengan instrumen TEM untuk mengetahui morfologinya. Dilakukan juga karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-800 nm untuk mengetahui

panjang gelombang maksimum yang akan menentukan ukuran nanopartikel emas yang terbentuk serta untuk melihat kestabilan nanopartikel emas yang terbentuk.

3.2.7.2 Karakterisasi Nanokapsul

Nanokapsul yang telah terbentuk dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 300-800 nm pada setiap pembentukan lapisan dan dengan instrument TEM untuk mengetahui morfologinya.

3.2.7.3 Karakterisasi Au (III) Hasil *Immunoassay*

Au yang terlibat dalam proses *Immunoassay* kemudian dilarutkan dengan HCl sebanyak 5 mL lalu dikarakterisasi menggunakan metode ASV.

3.2.7.4 Karakterisasi Au (III) Hasil *Immunoassay* dengan Penghancuran Inti Nanokapsul

Nanokapsul yang terbentuk ditambahkan 0,5 mL larutan KCN 0,072 M dan didiamkan semalam. Kemudian larutan yang dihasilkan diencerkan dalam HCl 0,1 M. Padatan dan larutan yang telah dipisahkan selanjutnya dikarakterisasi menggunakan metode ASV.

3.2.7.5 Karakterisasi nanopartikel emas yang dilabel antiinsulin dan insulin

Nanopartikel emas yang telah dilabel dengan antiinsulin dan insulin dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 200-800 nm pada setiap pelabelan untuk mengetahui adanya interaksi nanopartikel dengan protein.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Nanopartikel Emas

4.1.1 Pembuatan nanopartikel emas

Pada penelitian ini, nanopartikel emas (*nanogold*) disintesis dengan cara pembentukan koloid nanopartikel emas dengan cara mereduksi Au (III), yang berasal dari HAuCl_4 , menjadi atom Au^0 (netral). HAuCl_4 merupakan asam lemah yang membentuk suatu sistem kesetimbangan di dalam larutannya. Adapun reaksi yang terjadi adalah :



Metode pembentukan koloid digunakan dalam pembuatan nanopartikel emas, karena partikel dalam koloid cukup stabil akibat adanya gerak Brown. Gerak Brown merupakan gerak acak yang menyebabkan partikel saling bertumbukan ke segala arah.

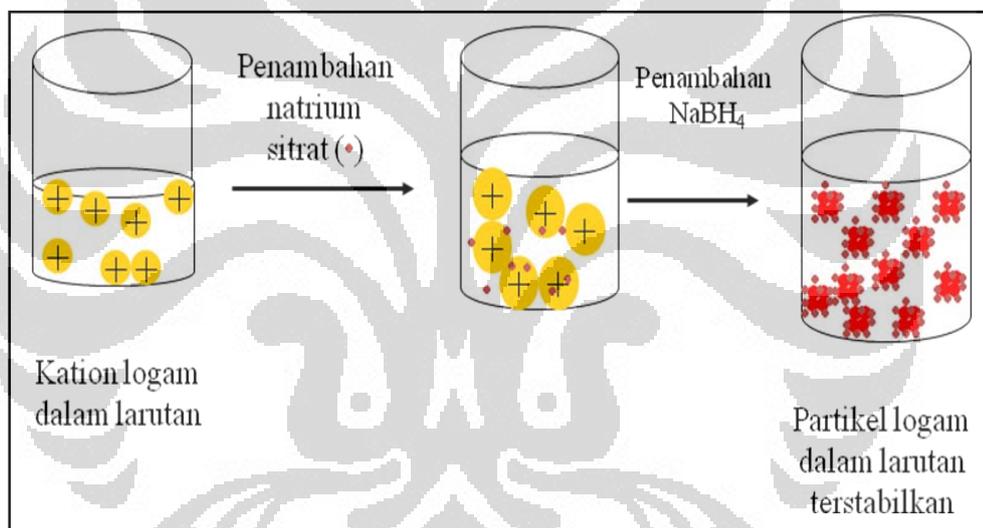
Partikel-partikel AuCl_4^- yang ada dalam larutan akan mengalami gaya tolakan akibat adanya muatan sejenis. Setelah Au^{3+} direduksi membentuk atom Au^0 (netral), partikel-partikel Au mendekat akibat adanya interaksi antar partikel Au melalui ikatan antar logam dan membentuk suatu kluster nanopartikel emas (Gambar 4.1).

Natrium sitrat merupakan agen pereduksi namun tidak cukup kuat untuk mereduksi Au(III) menjadi Au netral, sehingga digunakan pereduksi natrium tetrahidroborat (NaBH_4). Natrium sitrat berperan sebagai zat penstabil (*capping agent*) dalam sintesis nanopartikel emas. Tujuan penambahan natrium sitrat yaitu untuk mencegah agregasi partikel sehingga ukuran dan laju pertumbuhan partikel yang dihasilkan dapat terkontrol. Natrium sitrat menstabilkan nanopartikel emas secara elektrostatik. Muatan negatif dari ion sitrat yang teradsorpsi pada permukaan nanopartikel emas akan dapat mencegah terjadinya agregasi antar sesama nanopartikel emas karena adanya gaya tolakan antar muatan negatif pada permukaannya, sehingga partikel dapat tetap terdispersi dengan baik. Nanopartikel emas terbentuk dari lapisan listrik ganda bermuatan negatif yang terdiri atas ion sitrat, ion klorida, dan kation yang saling berinteraksi.

Reaksi yang terjadi :

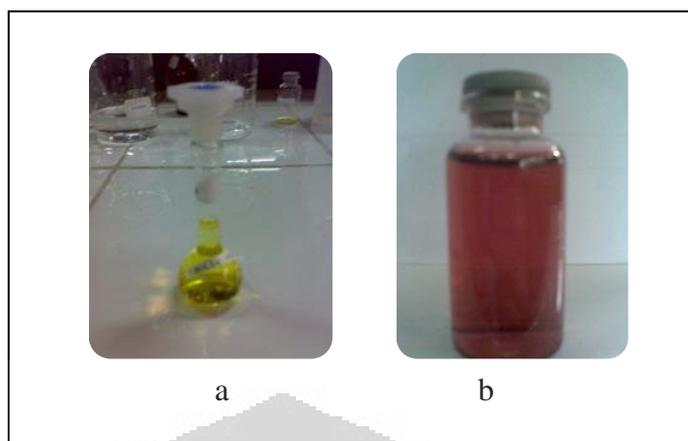


Pada pembuatan nanopartikel emas, zat penstabil (larutan natrium sitrat) dan zat pereduksi (larutan NaBH_4) dibuat segar untuk mengoptimalkan reaksi. Larutan HAuCl_4 yang semula berwarna kuning, berubah menjadi merah rubi setelah ditambahkan NaBH_4 (Gambar 4.2). Perubahan warna ini secara fisik menandakan bahwa nanopartikel emas telah terbentuk. Partikel nanopartikel emas yang berwarna merah rubi memiliki ukuran yang berkisar antara 2-30 nm (Sugunan, 2004).



[Sumber: Larasati, C.N. (2009). Studi Sintesis Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*Layer-By-Layer*) Untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Departemen Kimia UI]

Gambar 4.1. Ilustrasi Pembentukan Nanopartikel Emas



Keterangan : a = Larutan HAuCl_4

b = Koloid nanopartikel emas

Gambar 4.2. Bahan untuk sintesis nanopartikel emas dan nanopartikel emas

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi ukuran nanopartikel emas yang terbentuk, di antaranya jenis dan konsentrasi pereduksi yang digunakan, jenis zat penstabil, kecepatan pengadukan, dan temperatur reaksi. Besarnya ukuran partikel ditentukan pada tahap nukleasi atau pembentukan inti dan pertumbuhan selanjutnya.

Pada sintesis nanopartikel emas, ukuran partikel dapat dikontrol salah satunya dari zat pereduksi yang digunakan. Apabila digunakan zat pereduksi yang lemah, ukuran partikel yang dihasilkan lebih besar dibandingkan menggunakan pereduksi kuat. Daya reduksi yang lemah juga menyebabkan ukuran partikel yang dihasilkan menjadi tidak seragam karena terbentuknya inti baru. Apabila digunakan zat pereduksi yang kuat, akan dihasilkan inti partikel dalam jumlah yang besar sehingga terbentuk partikel emas yang lebih kecil dan relatif seragam. Meskipun demikian, partikel yang sangat kecil dan dalam jumlah yang banyak cenderung mengalami agregasi. Hal ini diakibatkan adanya gaya Van der Waals antar partikel yang dapat memicu interaksi antara dua atau lebih partikel dalam jarak yang berdekatan.

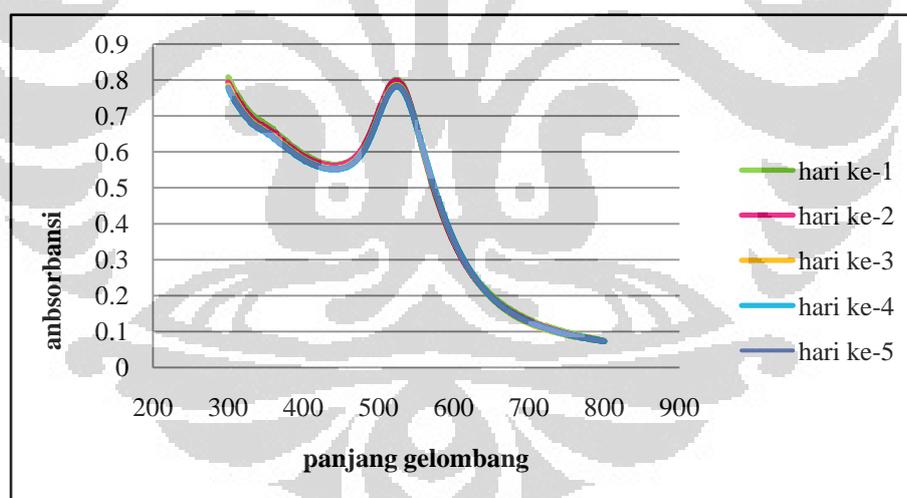
Dengan proses pengadukan yang cepat, atom emas selalu bergerak dengan cepat dan kontinyu, sehingga dapat mengurangi interaksi nanopartikel membentuk agregat akibat gaya *Van der Waals*. Untuk mencegah agregasi nanopartikel, diperlukan penambahan suatu zat penstabil (*capping agent*) serta mengontrol

kecepatan pengadukan. Penambahan zat penstabil harus disesuaikan dengan sifat dan konsentrasi zat pereduksi agar nanopartikel terbentuk secara optimal.

4.1.2 Karakterisasi koloid nanopartikel emas

4.1.2.1 Karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Visible

Nanopartikel emas yang telah dibuat dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Visible (UV-Vis) pada panjang gelombang 300 – 800 nm. Spektrum serapan UV-Vis koloid nanopartikel emas menunjukkan puncak yang cukup tajam pada 523 nm dengan absorbansi maksimum 0,801. Absorbansi maksimum pada panjang gelombang tertentu menunjukkan ukuran dari partikel emas tersebut. Hal ini disebabkan oleh karakteristik sifat optik dari *nanogold*. Kisaran warna koloid emas ditandai pada fenomena yang disebut *Surface Plasmon Resonance* (SPR). SPR terjadi akibat osilasi elektron pita konduksi dari nanopartikel emas akibat terjadinya iradiasi cahaya *visible*.

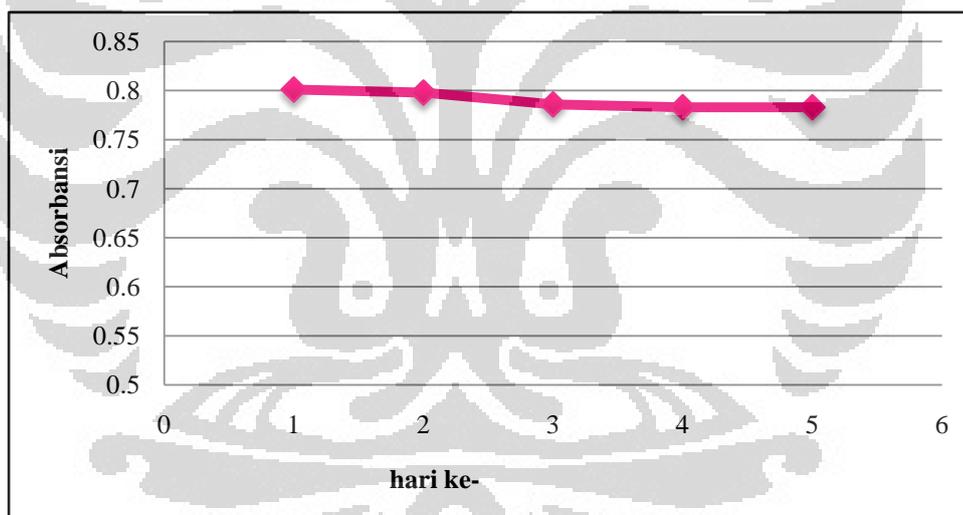


Gambar 4.3. Spektra Serapan UV-Vis Koloid Nanopartikel Emas pada Selang Waktu Tertentu

Gambar 4.3 menunjukkan spektrum serapan nanopartikel emas yang diukur selama 5 hari berselang satu hari. Pada grafik tersebut, tampak adanya sedikit pergeseran puncak serapan SPR. Hal ini dapat disebabkan zat penstabil

(*capping agent*) yang digunakan untuk menstabilkan nanopartikel emas, sedikit teradsorpsi ke permukaan nanopartikel sehingga mengubah indeks bias efektif dari sekitar nanopartikel tersebut. Selain itu, agregasi nanopartikel emas membentuk kluster-kluster akan memperkecil jarak partikel sehingga terjadi sedikit pergeseran dalam SPR.

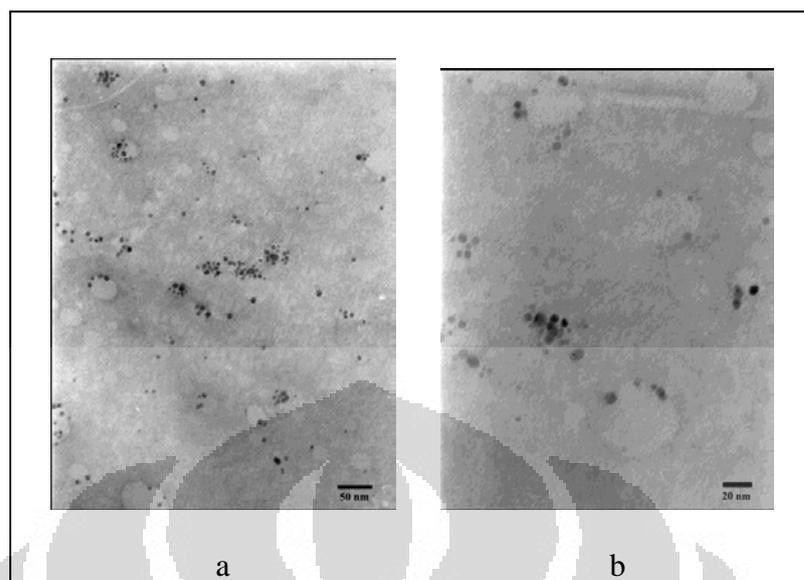
Dari pengukuran absorbansi nanopartikel emas dengan spektrofotometer UV-Vis selama 5 hari, dapat dilihat bahwa nilai absorbansi yang nanopartikel emas cukup stabil dan tidak terjadi perubahan yang signifikan seiring dengan bertambahnya waktu (Gambar 4.4). Pada hari pertama, absorbansi mencapai 0,801. Pada hari kedua hingga kelima, masing-masing menunjukkan absorbansi 0,789; 0,786; 0,783; dan 0,783. Hal ini menunjukkan nanopartikel emas yang dibuat pertumbuhannya masih terkontrol dan relatif stabil.



Gambar 4.4. Kurva kestabilan nanopartikel emas terhadap waktu

4.1.2.2 Karakterisasi dengan *Transmission Electron Microscopy* (TEM)

Berdasarkan penelitian sebelumnya, koloid nanopartikel emas yang telah dibuat dikarakterisasi dengan *Transmission Electron Microscopy* (TEM) untuk mengetahui ukuran, struktur, serta morfologi nanopartikel emas.



Keterangan : a = perbesaran 50.000 x, 80 KV
b = perbesaran 100.000 x, 80 KV

[Sumber : Lumita. (2009). Sintesa Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*layer-by-layer*) untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Universitas Indonesia]

Gambar 4.5 Hasil foto TEM nanopartikel emas

Gambar 4.5 di atas merupakan hasil foto TEM dengan perbesaran yang berbeda. Skala pada gambar menunjukkan bahwa diameter nanopartikel emas yang telah disintesis memiliki ukuran yang beragam dan kurang dari 20 nm. Nanopartikel yang diperoleh membentuk kluster-kluster yang tersebar. Kluster nanopartikel emas terbentuk akibat agregasi nanopartikel yang terkait dengan kestabilan nanopartikel. Dalam hal ini, pemilihan zat penstabil dan kondisi pada saat sintesis seperti kecepatan, lama pengadukan, serta suhu sangat mempengaruhi kestabilan nanopartikel.

4.2 Nanokapsul

4.2.1 Pembuatan nanokapsul

Nanokapsul dibuat dengan metode pelapisan bertahap atau dikenal dengan *Layer by Layer (LBL)*. Nanokapsul dibuat dengan cara melapisi nanopartikel emas dengan PDDA [poli(dialildimetil ammonium klorida)] sebagai polielektrolit

bermuatan positif dan PSS (polistiren sulfonat) sebagai polielektrolit bermuatan negatif. Metode *layer by layer* digunakan karena deposisi lapisan polikation dan polianion merupakan prosedur yang relatif mudah dan sederhana. Pada prinsipnya, adsorpsi elektrostatis dari polianion yang memiliki muatan berlawanan akan menghasilkan *ultrathin polyelectrolyte multilayer film* yang terkontrol. Metode ini juga memungkinkan ketebalan film dan komposisi dapat dikontrol dengan menyesuaikan jumlah lapisan dan material yang akan dideposisikan pada lapisan.

Lapisan pertama nanokapsul dibuat dengan menambahkan larutan PDDA ke dalam koloid nanopartikel emas. PDDA yang dilarutkan dalam air akan terionisasi membentuk ion-ionnya yaitu [poli(dialildimetil ammonium)]⁺ dan Cl⁻. Pada saat penambahan PDDA, ion [poli(dialildimetil ammonium)]⁺ akan teradsorpsi di permukaan nanopartikel emas, sehingga emas tersebut terselubungi oleh lapisan tipis yang terdiri atas ion-ion positif. Kemudian lapisan kedua dibuat dengan menambahkan larutan PSS yang bermuatan negatif. Interaksi antara muatan positif dan negatif yang berasal dari masing-masing polielektrolit akan membentuk lapisan film tipis berongga di permukaan nanopartikel emas (Gambar 4.6).

Besarnya gaya elektrostatis antar muatan positif dan negatif tersebut berbanding terbalik dengan kuadrat jarak antara kedua muatan. Hal ini dinyatakan dengan rumus gaya Coulomb sebagai berikut :

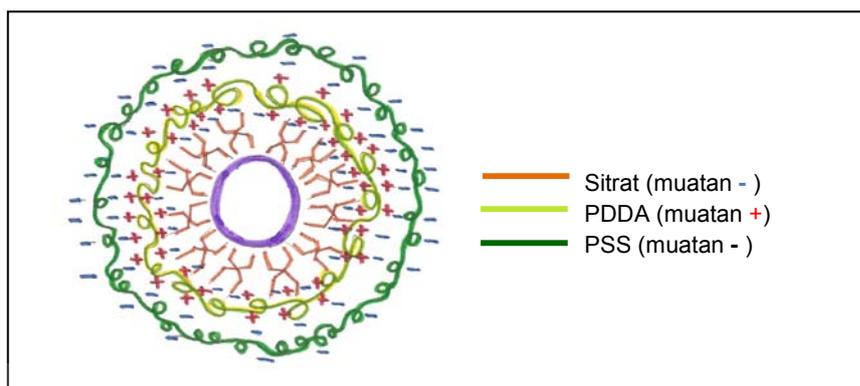
$$F = k \frac{q_1 q_2}{r^2}$$

dengan F : gaya Coulomb (N)

k : konstanta Coulomb = $9 \cdot 10^9 \text{ Nm}^2\text{C}^{-2}$

q_1, q_2 : muatan (C)

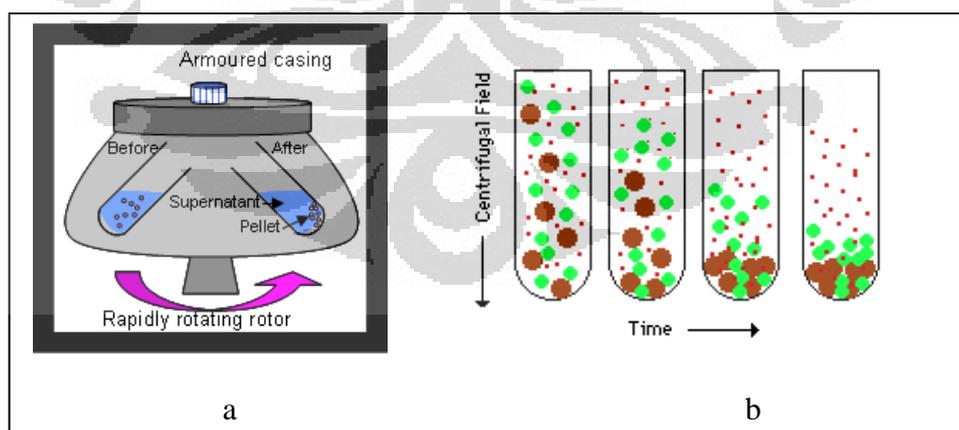
r : jarak muatan (m)



[Sumber : Bassi, Amarjeet S. dan Knopf, George K. (2010). *Smart Biosensor Technology*. CRC Press: Taylor and Francis Group]

Gambar 4.6 Iustrasi Interaksi Elektrostatik Antar Lapisan Polielektrolit

Untuk memperoleh gaya elektrostatik yang besar, maka jarak antara kedua muatan harus diperkecil. Teknik sentrifugasi merupakan salah satu cara untuk memperkecil jarak muatan akibat adanya gaya sentrifugal. Interaksi yang kuat diperlukan untuk memperoleh lapisan yang rapat. Apabila lapisan yang terbentuk kurang rapat, maka ada kemungkinan nanopartikel emas yang berperan sebagai *template* akan terlepas dari lapisan sehingga struktur nanokapsul berubah. Oleh karena itu, diperlukan sentrifugasi yang dilakukan secara berulang agar diperoleh nanokapsul dengan *template* nanopartikel emas yang diharapkan.



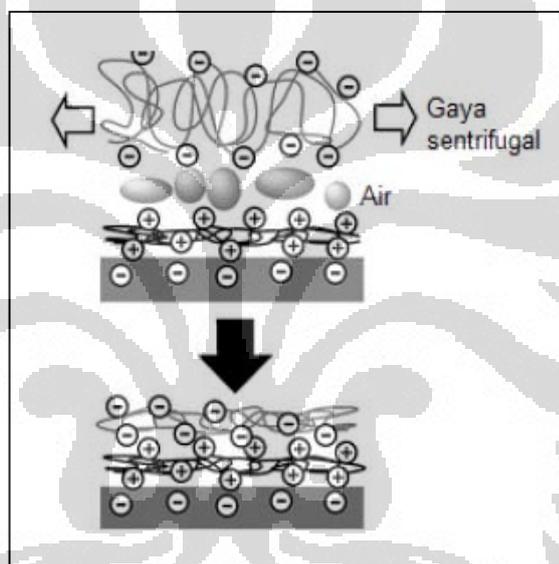
Keterangan : a = skema alat *centrifuge*

b = skema proses sentrifugasi

[Sumber : <http://bioweb.wku.edu/courses/Biol502/centrifugation.html>;
http://aminfarmasi.blogspot.com/2009_08_01_archive.html]

Gambar 4.7. Ilustrasi Proses Sentrifugasi

Pada penelitian ini, sentrifugasi dilakukan pada 3500 rpm. Sentrifugasi merupakan pemisahan padatan dari suatu suspensi dalam jumlah kecil dengan pemutaran yang sangat cepat. Pemisahan ini didasarkan atas gaya sentrifugal yang terjadi dan gaya gravitasi. Faktor yang mempengaruhi pemisahan endapan dengan teknik sentrifugasi antara lain kecepatan putar *centrifuge* dan waktu sentrifugasi. Semakin cepat putaran *centrifuge* dan semakin lama waktu sentrifugasi, endapan akan terpisah sempurna dan akan menghasilkan struktur yang rapat. Hal ini terjadi karena berkurangnya jarak antar muatan antara nanopartikel emas dan polielektrolit akibat gaya sentrifugal (Gambar 4.8).



[Sumber : Larasati, C.N. (2009). Studi Sintesa Nanokapsul Dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*Layer-By-Layer*) Untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Universitas Indonesia]

Gambar 4.8. Skema Proses Sentrifugasi dalam Pengurangan Jarak Muatan

Untuk mendispersikan koloid nanopartikel emas dengan polielektrolit, dilakukan pengocokan dengan alat pengocok (Vortex) sekitar 20 menit. Hal yang sama dilakukan pada setiap penambahan polielektrolit, di setiap lapisan, untuk mendapatkan nanokapsul yang homogen. Suspensi yang diperoleh dikarakterisasi dengan UV-Visible untuk mengetahui perubahan absorbansi di setiap lapisan. Kemudian suspensi nanokapsul disentrifugasi untuk memisahkan nanokapsul dengan supernatan. Setelah endapan nanokapsul terpisah dari suspensi, dilakukan dekantasi dan pencucian dengan aquades. Pencucian dilakukan untuk

menghilangkan nanopartikel maupun polielektrolit yang tidak berikatan. Prosedur ini dilakukan sebanyak empat tahap hingga diperoleh nanokapsul dengan empat lapis polielektrolit. Nanokapsul yang diperoleh berupa padatan halus dan membentuk gumpalan berwarna ungu kehitaman. Nanokapsul yang dihasilkan yaitu sebanyak 0,0039 gram.

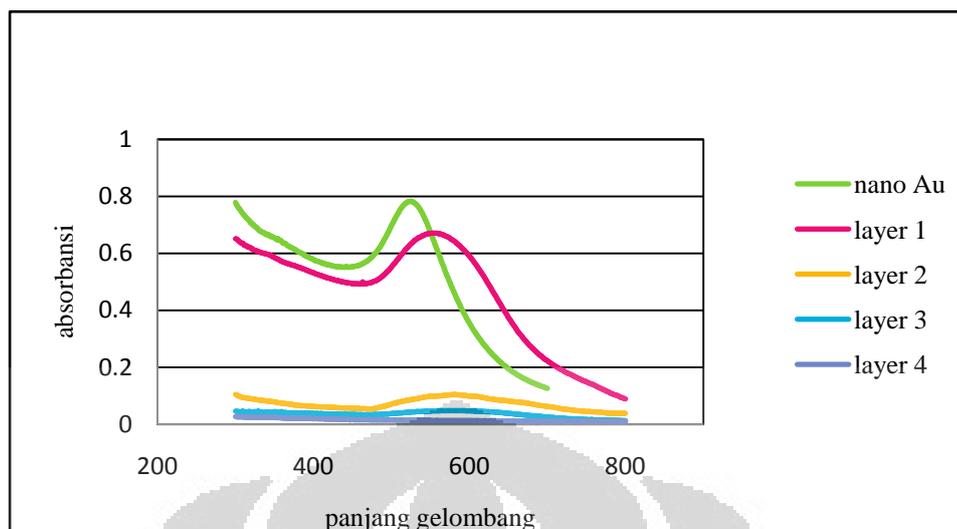
4.2.2 Karakterisasi nanokapsul

4.2.2.1 Karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Visible

Karakterisasi nanokapsul dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-800 nm. Karakterisasi dilakukan pada setiap pembentukan lapisan atau pada setiap penambahan polielektrolit. Pengukuran absorbansi setiap lapisan dilakukan sebelum suspensi disentrifuge. Tujuannya agar pada saat pengukuran absorbansi, suspensi nanokapsul masih dalam keadaan homogen dan belum terendapkan.

Absorbansi maksimum oleh nanokapsul diberikan pada panjang gelombang 555-594 nm (Gambar 4.9). Pada grafik dapat dilihat bahwa nilai absorbansi maksimum nanokapsul terus menurun pada setiap penambahan lapisan. Absorbansi maksimum pada lapisan pertama hingga lapisan ketiga berturut-turut 0,671; 0,105; 0,048. Pada lapisan keempat, absorbansi di setiap panjang gelombang terus mengalami penurunan dan tidak terdapat puncak serapan. Penurunan absorbansi disetiap pembentukan lapisan terjadi karena jumlah nanokapsul yang dihasilkan terus berkurang akibat proses dekantasi dan pencucian berulang-ulang.

Penurunan absorbansi yang drastis pada penambahan lapisan kedua dan seterusnya disebabkan karena telah terbentuk nanokapsul pada saat penambahan polielektrolit. Hal ini ditandai adanya endapan nanokapsul berwarna ungu kehitaman yang melayang di dalam suspensi. Oleh karena itu, pada saat pengukuran dengan UV-Vis, absorbansi yang terukur merupakan larutan polielektrolit yang tidak menempel pada nanopartikel emas.



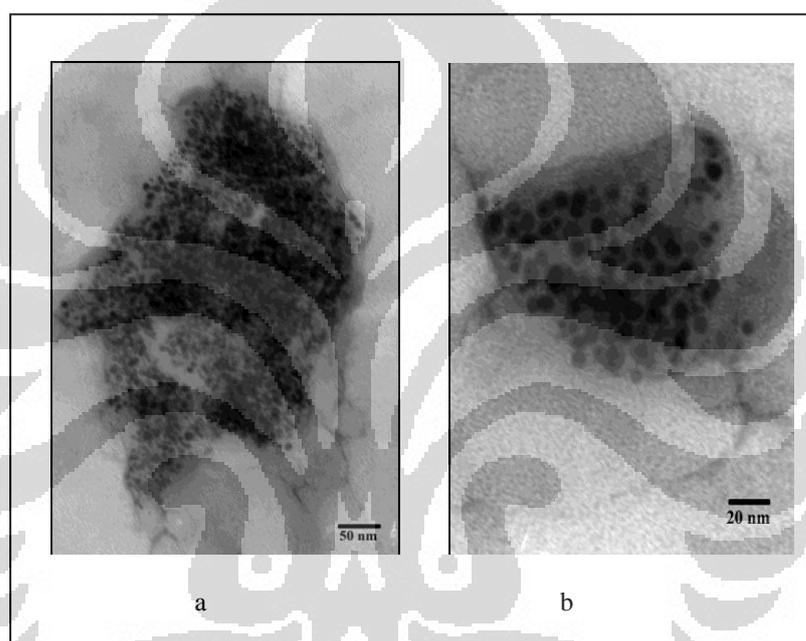
Gambar 4.9. Spektra serapan pembentukan lapisan nanokapsul

Pergeseran panjang gelombang nanopartikel emas (523 nm) ke panjang gelombang nanokapsul (555-594 nm) terjadi akibat ukuran partikel yang terus bertambah. Secara fisik, nanopartikel emas berwarna merah rubi. Nanopartikel emas mengabsorpsi cahaya pada daerah biru-hijau dari spektrum (~400-500 nm) sementara cahaya merah (~700 nm) direfleksikan sehingga dihasilkan warna merah gelap. Setelah nanopartikel emas didispersikan dengan PDDA, warna yang dihasilkan menjadi biru keunguan. Hal ini dapat disebabkan oleh ukuran partikel yang bertambah dan terjadinya koagulasi. Pertambahan ukuran partikel menyebabkan panjang gelombang saat terjadi *surface plasmon resonance* menjadi bergeser ke panjang gelombang yang lebih merah. Hal ini berarti cahaya merah diabsorpsi sementara cahaya biru direfleksikan sehingga menghasilkan partikel yang berwarna biru tua atau ungu.

4.2.2.2 Karakterisasi dengan *Transmission Electron Microscopy* (TEM)

Berdasarkan penelitian terdahulu, nanokapsul dengan template emas yang telah dibuat, dikarakterisasi menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Tujuannya adalah untuk mengetahui ukuran, struktur, serta morfologi dari nanopartikel emas.

Gambar 4.10 menunjukkan foto TEM nanokapsul yang tersebar dengan diameter bervariasi dengan kisaran kurang dari 20 nm. Jika dibandingkan dengan foto TEM nanopartikel emas (Gambar 4.5), tampak perbedaan yang sangat jelas dari segi ukuran partikel dan morfologinya. Nanokapsul tampak tebal dibandingkan nanopartikel emas sebelum dilapisi polielektrolit. Perbedaan ini menunjukkan bahwa polielektrolit telah menyelubungi nanopartikel emas sehingga membentuk nanokapsul.



Keterangan : a = perbesaran 50.000 x, 80 KV

b = perbesaran 100.000 x, 80 KV

[Sumber : Lumita. (2009). Sintesa Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*layer-by-layer*) untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Universitas Indonesia]

Gambar 4.10 Hasil foto TEM nanokapsul

4.3 Penentuan kurva kalibrasi linier

Penentuan kurva kalibrasi linier dilakukan dengan melakukan variasi konsentrasi Au (III), yaitu 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 μM . Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilakukan optimasi kondisi pengukuran Au (III) pada elektroda *glassy carbon* (GC) dengan metode ASV (*Anodic Stripping Voltametry*) yang dilakukan rentang potensial optimal antara 0 hingga 1500 mV (vs Ag/AgCl)

dengan waktu deposisi 300 detik, potensial deposisi -600 mV, dan *scan rate* 250 mV/s.

Waktu deposisi adalah waktu yang dibutuhkan untuk mereduksi Au (III) menjadi Au pada permukaan elektroda. Pada penelitian ini, digunakan konsentrasi Au (III) yang sangat rendah. Oleh karena itu, waktu deposisi yang diperlukan untuk mendeteksi Au (III) tersebut cukup lama yakni 300 detik. Hal ini dimaksudkan agar ion emas dalam larutan dapat tereduksi sempurna menjadi atom emas netral pada permukaan elektroda, sehingga pada saat proses *stripping* terjadi, besar arus anodik yang terukur sebanding dengan konsentrasi Au (III) yang terdapat di dalam larutan. Pada pendeteksian Au (III) pada konsentrasi tinggi, waktu deposisi yang digunakan relatif singkat untuk mencegah penjumlahan pada permukaan elektroda. Pada penelitian sebelumnya, telah diperoleh waktu deposisi optimum pada deteksi Au(III) adalah 300 detik. Pada waktu deposisi 300 detik seluruh Au (III) yang berada di dalam larutan telah tereduksi sempurna.

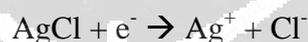
Potensial deposisi adalah besar potensial yang dibutuhkan untuk mereduksi Au (III) yang terdapat di dalam larutan menjadi atom Au netral pada permukaan elektroda. Semakin besar potensial deposisi yang diberikan, kemampuan untuk mereduksi Au (III) yang berada di dalam larutan menjadi Au juga semakin besar. Oleh karena itu, semakin banyak ion Au (III) yang terdeposisi di permukaan elektroda, maka atom Au yang akan dioksidasi pada tahap *stripping* juga semakin banyak sehingga arus yang dihasilkan juga besar. Pada penelitian terdahulu, telah diperoleh potensial deposisi optimum pada deteksi Au (III) adalah -600 mV. Pada potensial deposisi -600mV inilah potensial deposisi dengan Au (III) paling banyak terdeposisi.

Scan rate (kecepatan *scan*) pada pengukuran ASV mempengaruhi ketebalan lapisan difusi. Semakin besar *scan rate* yang digunakan, arus yang dihasilkan akan semakin besar karena *scan rate* yang besar akan membuat transfer elektron lebih mudah terjadi akibatnya arus yang dihasilkan menjadi semakin besar. Apabila digunakan *scan rate* yang kecil, transfer elektron ke permukaan elektroda akan menjadi terhambat sehingga arus yang dihasilkan menjadi kecil.

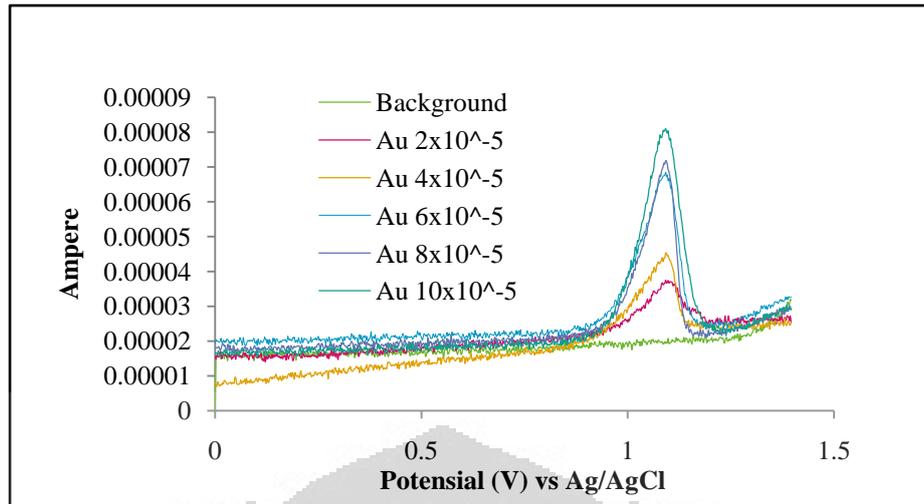
Proses oksidasi dapat berlangsung dengan baik dengan menggunakan *scan rate* yang rendah. Dengan *scan rate* yang rendah, analit (Au) dapat berada di

permukaan elektroda dalam waktu yang cukup lama sehingga dapat teroksidasi dengan baik. Sebaliknya, penggunaan *scan rate* yang terlalu tinggi dapat menyebabkan reaksi oksidasi dari analit menjadi tidak sempurna. Hal ini terjadi karena waktu kontak analit dengan elektroda terlalu cepat. Akan tetapi, jika *scan rate* yang digunakan terlalu rendah, maka akan berdampak kurang baik untuk proses oksidasi. Hal ini disebabkan *scan rate* yang terlalu rendah dapat memicu terjadinya reaksi lain pada system, sehingga dapat mengganggu sinyal yang dihasilkan. *Scan rate* optimum untuk deteksi Au (III) telah diperoleh pada penelitian terdahulu yaitu 250 mV/s.

Elektroda pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah elektroda elektroda perak. Elektroda tersebut mengandung larutan KCl yang dijenuhkan dengan AgCl dan reaksi setengah selnya adalah :



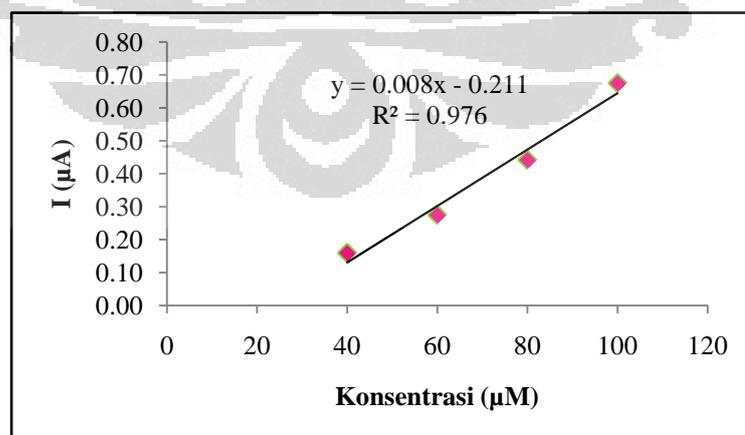
Dari Gambar 4.11 dapat disimpulkan bahwa arus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi Au (III). Hal ini berkaitan dengan kuantitas ion logam Au (III) yang terukur. Semakin besar konsentrasi larutan Au (III), maka semakin banyak ion Au (III) yang akan mengalami deposisi dan proses *stripping* pada permukaan elektroda, sehingga arus yang terukur semakin besar.



Gambar 4.11 Voltamogram deret standar Au (III)

Tabel 4.1 Tabel Respon Arus Au (III) pada Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi Au (μM)	Arus 1	Arus 2	Arus 3	Arus rata-rata
40	0,16	0,13	0,19	0,16
60	0,29	0,29	0,24	0,27
80	0,43	0,42	0,47	0,44
100	0,69	0,68	0,65	0,67



Gambar 4.12. Kurva kalibrasi Au(III)

4.4 Proses *Immunoassay* Insulin secara Elektrokimia

Immunoassay merupakan suatu metode yang didasarkan pada reaksi antara antigen dengan antibodi selektif membentuk produk antigen-antibodi yang terukur. Pada penelitian ini, *immunoassay* dilakukan dengan melapisi tabung mikroplat dengan larutan anti-insulin dalam PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pH 7,4 dan diinkubasi pada 4°C selama satu malam. Anti-insulin yang digunakan harus memiliki kemurnian tinggi agar tidak terjadi interaksi non-spesifik yang mungkin terjadi. Dalam hal ini, PBS berfungsi untuk menjaga pH agar anti-insulin tidak rusak. Tujuan dari proses inkubasi adalah agar anti-insulin dapat termobilisasi dengan baik pada permukaan mikroplat. Setelah diinkubasi, plat dicuci dengan BSA (*Bovine Serum Albumin*) untuk menghilangkan kelebihan anti-insulin yang tidak termobilisasi pada permukaan mikroplat.

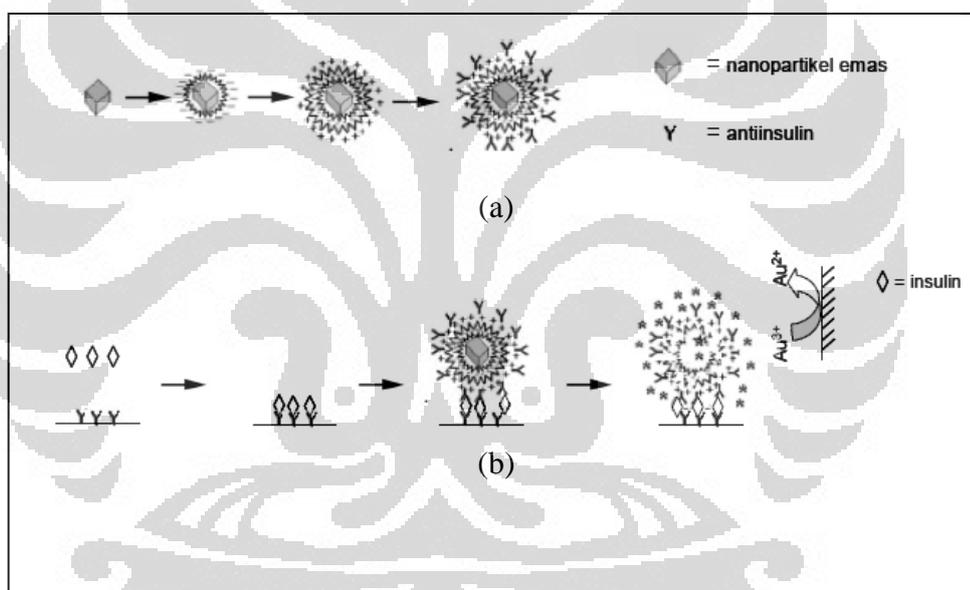
Setelah tahap pencucian, dilakukan *blocking* menggunakan BSA. *Blocking* menggunakan BSA penting dilakukan untuk mencegah pengikatan non-spesifik pada saat deteksi antibodi. Setiap protein yang tidak memiliki afinitas ikatan dengan target dapat digunakan sebagai *blocking agent* pada proses *immunoassay*. Oleh karena itu, BSA digunakan sebagai *blocking agent* karena tidak memiliki afinitas ikatan dengan target (anti-insulin), sehingga penggunaan BSA tidak mempengaruhi ikatan antara anti-insulin dan insulin. Selain itu, BSA digunakan karena memiliki stabilitas yang tinggi.

Keberhasilan suatu teknik assay salah satunya ditentukan oleh jenis *blocking agent* yang digunakan. *Blocking agent* yang digunakan bergantung dari jenis assay, antibodi maupun antigennya. Bila *blocking agent* yang digunakan telah sesuai, maka hal ini dapat meningkatkan sensitivitas assay karena interferensi *background* berkurang. Selanjutnya, insulin dengan variasi konsentrasi, masing-masing ditambahkan ke dalam beberapa mikroplat berbeda yang telah diblok dengan BSA. Dengan demikian, insulin akan berikatan secara spesifik dengan anti-insulin pada permukaan mikroplat.

Nanokapsul yang telah disintesis sebelumnya, dilapisi dengan anti-insulin dengan mekanisme adsorpsi elektrostatis. Hal ini dimaksudkan agar reaksi *immunorecognition* dapat terjadi karena nanokapsul yang telah dilapisi anti-insulin akan berikatan secara spesifik dengan insulin yang ada pada tabung

mikroplat. Ilustrasi proses *immunoassay* pada tabung mikroplat ditunjukkan pada Gambar 4.14.

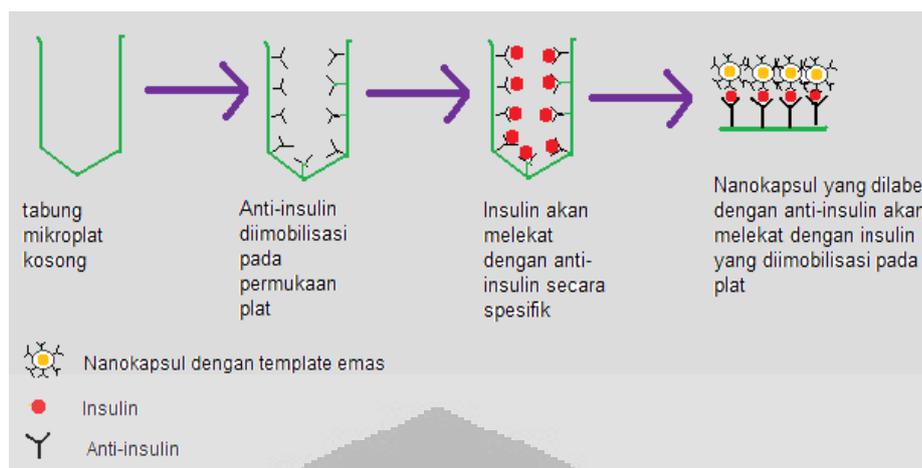
Untuk menyempurnakan reaksi *immunorecognition* tersebut, maka perlu dilakukan inkubasi selama 20 menit. Kemudian dilakukan pencucian untuk menghilangkan kelebihan nanokapsul yang tidak berikatan dengan insulin pada permukaan plat. Konsentrasi Au (III) yang terlibat dalam proses *immunorecognition* dapat ditentukan dengan mengukur konsentrasi nanokapsul/anti-insulin yang berinteraksi dengan insulin termobilisasi pada permukaan plat. Gambar 4.13 di bawah ini merupakan skema ilustrasi proses enkapsulasi, *biolabeling*, dan proses deteksi insulin. (Subramanian, V, 2006).



Keterangan : a = ilustrasi proses enkapsulasi dan *biolabelling*
b = proses deteksi insulin

[Sumber : Subramanian, V. dan Ja-an. A.H. (2006). *Dual electrochemical determination of glucose and insulin using enzyme and ferrocene microcapsules*. Taiwan: National Tsing Hua University]

Gambar 4.13 Skema Immunoassay



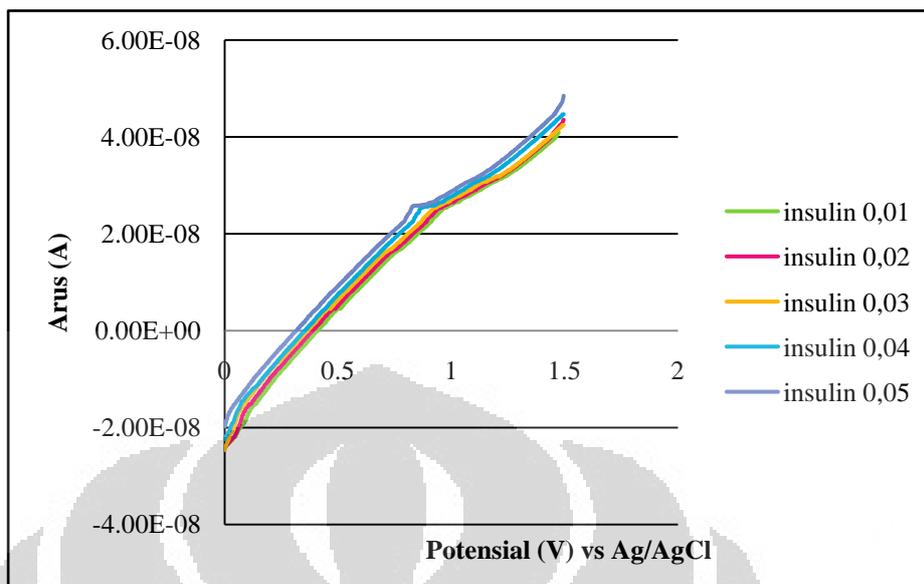
[Sumber : Larasati, C.N. (2009). Studi Sintesis Nanokapsul Dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*Layer-By-Layer*) Untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Universitas Indonesia]

Gambar 4.14 Ilustrasi Proses *Immunoassay* yang terjadi di dalam tabung mikroplat

4.5 Karakterisasi Au (III) secara Elektrokimia dengan ASV

Setelah proses immunoassay selesai dilakukan, dilakukan karakterisasi Au (III) pada nanokapsul hasil immunoassay. Pada tahap preparasi, nanokapsul dibagi menjadi dua bagian yang akan mengalami perlakuan yang berbeda yakni pengukuran tanpa penghancuran inti nanokapsul dan pengukuran dengan penghancuran inti nanokapsul.

Masing-masing nanokapsul hasil immunoassay ditempatkan di dalam tabung mikroplat. Pada tabung pertama, nanokapsul dilarutkan dalam larutan HCl untuk mengubah nanopartikel Au menjadi ion Au (III). Kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan metode ASV dengan kondisi pengukuran optimum yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yakni rentang potensial antara 0 hingga 1500 mV (vs Ag/AgCl) dengan waktu deposisi 300 detik, potensial deposisi -600 mV, dan *scan rate* 250 mV/s.



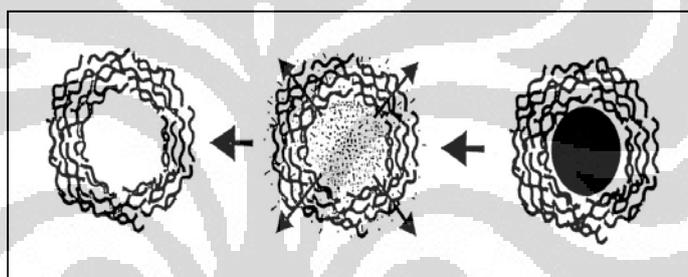
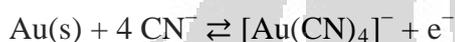
Gambar 4.15 Karakterisasi Au (III) Hasil Proses *Immunoassay* tanpa Pemecahan Inti

Pada Gambar 4.15 dapat dilihat bahwa respon besarnya arus berbanding terbalik dengan konsentrasi insulin yang digunakan. Semakin besar konsentrasi insulin yang digunakan, arus yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi insulin, maka insulin yang menyelubungi nanokapsul semakin banyak sehingga arus yang dihasilkan dari proses deposisi dan *stripping* semakin kecil akibat Au yang akan diukur terhalang oleh insulin.

Dari hasil pengukuran, tampak puncak yang dapat menggambarkan konsentrasi Au (III) yang dihasilkan. Puncak yang diperoleh merupakan arus maksimum yang terbaca. Dari nilai arus ini, konsentrasi Au (III) dapat diperoleh dengan memasukkan nilai arus ke persamaan kurva kalibrasi linear Au (III) $y=0,0086x - 0,2119$ dengan y merupakan fungsi arus, dan x merupakan fungsi konsentrasi. Akan tetapi, dari voltammogram dapat dilihat bahwa puncak hanya tampak pada konsentrasi insulin 0,01 μM dan 0,02 μM berturut-turut sebesar 0,0269 μA dan 0,0275 μA . Dari data arus tersebut, konsentrasi Au (III) yang terukur berturut-turut sebesar 29,74 μM dan 29,81 μM . Nilai konsentrasi

berbanding lurus sehingga semakin kecil arus maka konsentrasi Au yang terukur semakin kecil pula.

Pada tabung kedua, nanokapsul didiamkan selama satu malam dalam larutan KCN 0,0072 M, yang bertujuan menghancurkan inti (nanopartikel emas) yang ada dalam polielektrolit *multilayer*. Ion sianida akan mengakibatkan solvasi pada nanopartikel emas yang terperangkap di dalam lapisan dengan membentuk ion kompleks Au-sianida yang dapat larut. Dengan terbentuknya ion kompleks Au-sianida, nanopartikel Au dapat keluar dari lapisan polielektrolit (Gambar 4.16). Reaksi yang terjadi antara nanopartikel emas dengan ion sianida adalah sebagai berikut:



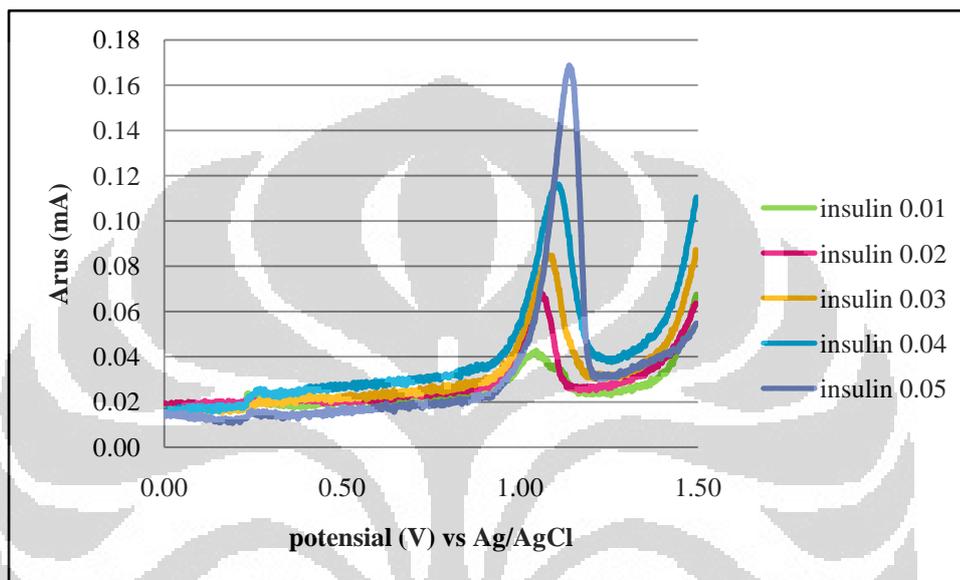
[Sumber : Lumita. (2009). Sintesa Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (*layer-by-layer*) untuk Pengembangan Immunosensor. Depok: Universitas Indonesia]

Gambar 4.16 Skema Core Dissolution Nanokapsul

Tahap selanjutnya adalah pemisahan padatan (nanokapsul berongga) dengan cairannya yang mengandung ion kompleks Au-sianida. Cairannya diencerkan dengan HCl 0,1 M sebanyak 10 mL. HCl merupakan larutan polielektrolit yang berfungsi sebagai medium penghantar tempat transfer muatan terjadi melalui pergerakan ion-ion elektrolit tersebut. Penambahan HCl ini memungkinkan terjadinya pertukaran ligan antara ion sianida dan ion klorida, sehingga terbentuk ion kompleks $[\text{AuCl}_4]^-$. Kemudian larutan ini dikarakterisasi menggunakan metode *stripping* voltametri.

Tahap awal dari metode ASV yaitu tahap deposisi Au (I) pada permukaan elektroda karbon melalui reaksi reduksi. Kondisi pengukuran diatur pada rentang potensial antara 0 hingga 1500 mV (vs Ag/AgCl), potensial -600 mV, waktu

deposisi 300 detik, dan *scan rate* 250 mV/s. Ion Au (I) dibiarkan terdepositasi di permukaan elektroda, dilanjutkan ke tahap tahap pelepasan (*stripping*) yaitu tahapan pada saat Au yang telah terdepositasi pada elektroda, dioksidasi kembali dengan memberikan potensial yang lebih positif sehingga arus anodik (arus oksidasi) dapat diukur.



Gambar 4.17 Karakterisasi Secara Elektrokimia Au (III) Hasil Proses *Immunoassay* dengan Pemecahan Inti

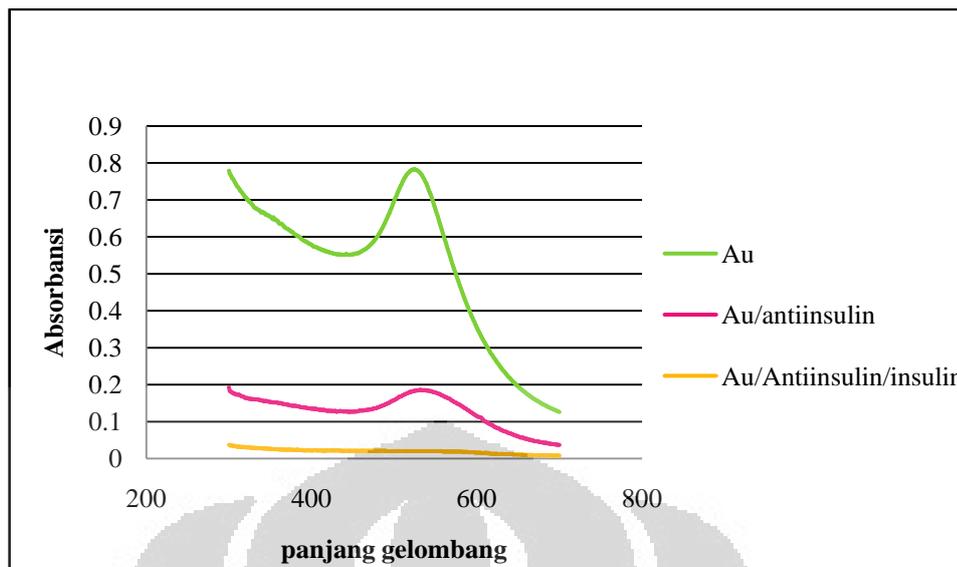
Tabel 4.2 Tabel Respon Arus Au (III) pada Berbagai Konsentrasi Insulin dengan Pemecahan Inti

Konsentrasi insulin (μM)	Arus (μA)	Konsentrasi Au (μM)
0.01	0.0410	31,50
0.02	0.0683	34,91
0.03	0.0846	36,95
0.04	0.1161	40,89
0.05	0.1687	47,46

Dari Tabel 4.2 besarnya konsentrasi insulin berbanding lurus dengan arus yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi insulin, maka semakin banyak nanopartikel emas yang dapat mengalami proses *immunorecognition*. Puncak yang dihasilkan pada proses *immunoassay* dengan pemecahan inti lebih tajam dibandingkan *immunoassay* tanpa pemecahan inti. Hal ini terjadi karena dengan pemecahan inti, Au tidak lagi terperangkap dalam nanokapsul sehingga Au yang terukur lebih banyak. Besarnya arus sebanding dengan konsentrasi. Konsentrasi Au hasil *immunoassay* dengan pemecahan inti lebih besar dibandingkan *immunoassay* tanpa pemecahan inti.

4.6 Interaksi antara Nanopartikel Emas dengan Protein

Ada tidaknya interaksi antara nanopartikel dengan protein dapat diketahui dengan cara yang sederhana. Koloid nanopartikel emas yang berwarna merah rubi, warnanya memudar menjadi merah muda kebiruan. setelah ditambahkan anti-insulin. Hal yang sama juga terjadi pada saat penambahan insulin. Warna yang dihasilkan semakin memudar hingga sedikit bening. Pada Gambar 4.18, spektrum UV-Vis menunjukkan penurunan absorbansi yang cukup drastis antara absorbansi nanopartikel emas dengan nanopartikel emas yang telah dilapisi anti-insulin dan insulin. Selain itu panjang gelombang maksimumnya juga mengalami sedikit pergeseran. Pada dasarnya perubahan panjang gelombang pada nanopartikel emas terjadi karena adanya perubahan jarak intrapartikel. Perubahan jarak intrapartikel dapat disebabkan adanya interaksi dengan molekul lain, dalam hal ini protein. Struktur protein memiliki gugus positif dan negatif (amfoter). Hal ini memungkinkan terjadinya interaksi elektrostatik antara koloid nanopartikel emas yang bermuatan negatif dengan gugus ionik pada protein. Akibatnya, kestabilan nanopartikel emas terganggu, yang secara fisik ditandai dengan berubahnya warna koloid.



Gambar 4.18 Spektrum Spektrofotometer Nanopartikel Emas, Nanopartikel Emas yang Dilabel Anti-Insulin dan Insulin.

Nanopartikel emas dapat berikatan dengan protein, dalam hal ini anti-insulin dan insulin, sebagai lapisan terluar melalui adsorpsi elektrostatis. Protein dapat melekat pada nanokapsul akibat interaksi spesifik. Interaksi yang mungkin terjadi antara nanokapsul dan protein antara lain ikatan hidrogen, gaya elektrostatis, ikatan disulfida, dan ikatan dengan gugus tiol.

Ikatan hidrogen merupakan gaya tarik menarik antara hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom yang bersifat elektronegatif dari satu molekul dengan atom elektronegatif lainnya. Kekuatan ikatan hidrogen ini dipengaruhi oleh perbedaan elektronegativitas antara atom-atom dalam molekul tersebut. Semakin besar perbedaannya, semakin besar ikatan hidrogen yang terbentuk. Ikatan hidrogen dapat terjadi pada nanopartikel dan protein akibat adanya ikatan antara atom H dengan N dan H dengan O.

Ikatan disulfida dan ikatan dengan gugus tiol ($-SH$) dapat terjadi antara nanokapsul dengan protein karena pada nanokapsul, digunakan polielektrolit anionik yaitu polystyrene sulfonat (PSS) yang mengandung unsur S.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Nanokapsul dengan *template* nanopartikel emas cukup efektif digunakan sebagai immunosensor.
2. Konsentrasi Au hasil immunoassay tanpa pemecahan inti adalah sebesar 29,7375 - 29,8125 μM , sedangkan konsentrasi Au hasil immunoassay dengan pemecahan inti adalah sebesar 31,5000 - 47,4625 μM .
3. Pada immunoassay tanpa pemecahan inti, arus yang dihasilkan berbanding terbalik dengan besarnya konsentrasi insulin.
4. Pada immunoassay dengan pemecahan inti, arus yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi insulin.
5. Metode immunoassay dengan pemecahan inti nanokapsul lebih baik dilakukan dibandingkan immunoassay tanpa pemecahan inti.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui faktor yang mempengaruhi pembentukan nanokapsul dan interaksi antara nanopartikel. Selain itu, diperlukan percobaan pemecahan inti nanokapsul dengan menggunakan reagen lain yang lebih aman digunakan.

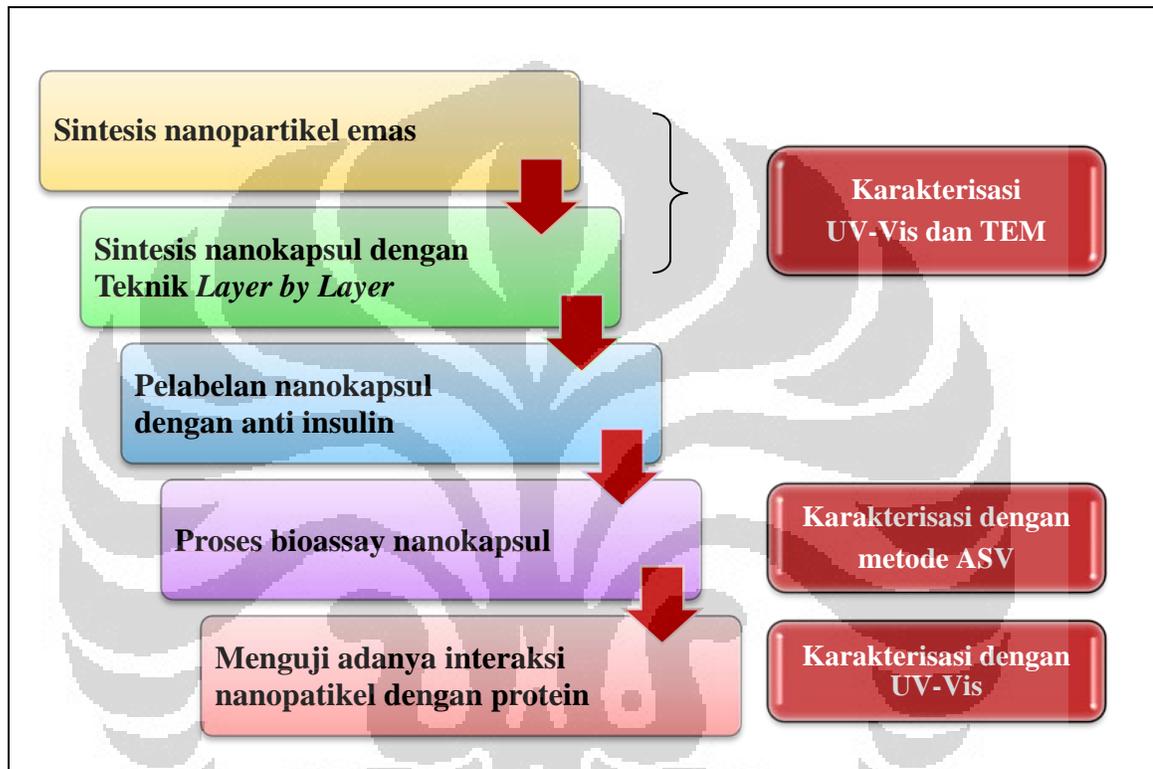
DAFTAR PUSTAKA

- An Interactive Museum (1999). Maret 01,2010.
<http://www.webexhibits.org/>
- Badugu, Ramachandram, Lakowicz, Joseph, R., dan Ray, Krishanu. (2009). *Polyelectrolyte Layer-by-Layer Assembly to Control the Distance between Fluorophores and Plasmonic Nanostructures*. Maryland: Center for Fluorescence Spectroscopy, Departement of Biochemistry and Molecular Biology, University of Maryland.
- Bassi, A. S., dan Knopf, G. K. (2010). *Smart Biosensor Technology*. CRC Press: Taylor and Francis Group.
- Caruso, F., et al. (2002). *Nanoencapsulated Microcrystalline Nanoparticles for Superamplified Biochemical Assay*. Jerman : 8sens.biognosticAG dan Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Hongkong :The Hongkong University of Science and Technology.
- Crespilho, F. N., et. al. *Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review*. (2006). Brazil: Universidade de São Paulo
- Direct Industry, *Transmission Electron Microscopy* (n.d.). March 29, 2010.
<http://www.directindustry.com/prod/jeol/transmission-electron-microscope-tem-20754-105806.html>
- Gittins, D. I., dan Frank, C. (2000). *Multilayered Polymer Nanocapsules Derived from Gold Nanoparticle Templates*. Jerman : Max Planck Institute of Colloids and Interfaces.
- Valmalette, J. et. al. (1996). *Optical properties of metal cluster based nanocomposite: Analisis Magazine*, 24, m23-25
- K. Fährnrich. *Biosensor*. (n.d.). April 1, 2010
<http://www.karstenfaehrich.de/Biosensors/biosensors.htm>
- Kbasisostoff, R. N., Koytcheff, R. G., Lau, C. G. Y., (2009). *Structure of the nanoscience and nanotechnology applications literature. The Journal of Technology Transfer*, 1-13
- Khopkar, S.M.(1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Kusharyoto, W. *Diagnosis dan terapi kanker dengan antibodi*. (2005). *Bio Trends*, Vol I No I, p 17-19
- Larasati, C.N. (2009). *Studi Sintesa Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (Layer-By-Layer) Untuk Pengembangan Immunosensor*. Depok: Departemen Kimia UI

- Nanotechnologydevelopment, *Layer-by-Layer Assembled Nanocomposites*. (n.d.).
April 17, 2010
<http://www.nanotechnologydevelopment.com/research/layer-by-layer-assembled-nanocomposites.html>.
- Mun'delanji, V., Kagan, K., dan Eiichi, T. (2007). *An Overview of Label-free Electrochemical Protein Sensors*. Jepang : Osaka University
- Puari, L. O. A. (2009). *Studi Sintesa Nanokapsul dengan Teknik Pelapisan Bertahap (Layer-by-Layer) untuk Pengembangan Immunosensor*. Depok: Departemen Kimia, FMIPA UI
- Sapin, R., et. al. (2001). *Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lipro*. February 12, 2010
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/47/3/602>.
- Subramanian, V. dan Ja-an. A.H. (2006). *Dual electrochemical determination of glucose and insulin using enzyme and ferrocene microcapsules*. Taiwan: National Tsing Hua University.
- Sugunan, A., & Dutta, J. (2004). Nanoparticles for Nanotechnology. *Journal of Physics Science and Idea* 4 No. 1 & 2.
- Nano.ait (n.d.). *Synthesis Of Bio-Compatible Gold Nanoparticles*. February 13, 2010
<http://www.nano.ait.ac.th/Download/AIT%20Papers/2005/Synthesis%20of%20Biocompatible%20gold%20nanoparticles%20Chiang%20Mai.pdf>.
- Tang, J.L., Cheng, S. F., Hsu, W. T., Chiang, T. Y., Chau, L. K. (2006) *Fiber-optic biochemical sensing with a colloidal gold-modified long period fiber grating*. *Sensors and Actuators B: Chemical* 119 (1), 105-109.
- Wang, J.(2000). *Analytical Electrochemistry*, 2nd edition. USA: A John Wiley and Sons , Inc
- Western Kentucky University.(n.d.).April 15, 2010
<http://bioweb.wku.edu/>
- Working Principle of Biosensors. (n.d.). April 1, 2010
<http://www.studentsguide.in/biotechnology-genomics/biosensor-biotechnology-tools/working-principle-of-biosensors.html>
- Yulizar, Yoki. (2004). *NanoScience – NanoTechnology "NanoChemistry".ppt*. Departemen Kimia. FMIPA UI.
- Zhang, Z., et. al. (2008).Layer-by-layer Self-Assembly of Colloidal Gold-Silica Multilayers. *The Chemical Educator*, Vol. 13, No. 3

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Instrumen untuk Pengukuran



Gambar Instrumen Spektrofotometer UV-VIS



Gambar Instrumen TEM



Gambar instrument potensiostat



Gambar susunan elektroda : elektroda kerja (hijau), elektroda pembanding (kuning), dan elektroda pendukung (merah).

Lampiran 3. Data Pengamatan



Gambar nanopartikel emas



Gambar nanopartikel emas + PDPA



Gambar nanopartikel emas + PDDA+PSS



Gambar Nanokapsul

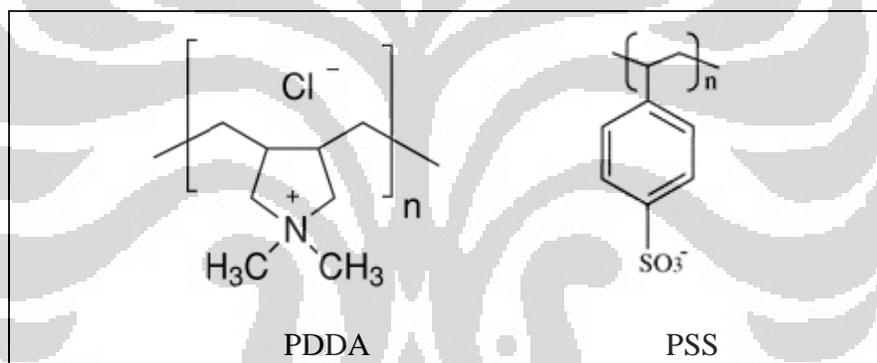
Lampiran 4. Data Kestabilan Nanopartikel Emas Terhadap Waktu

Waktu (hari)	Absorbansi
1	0.801
2	0.798
3	0.786
4	0.783
5	0.783

Lampiran 5. Data Penentuan Kurva Kalibrasi Linier

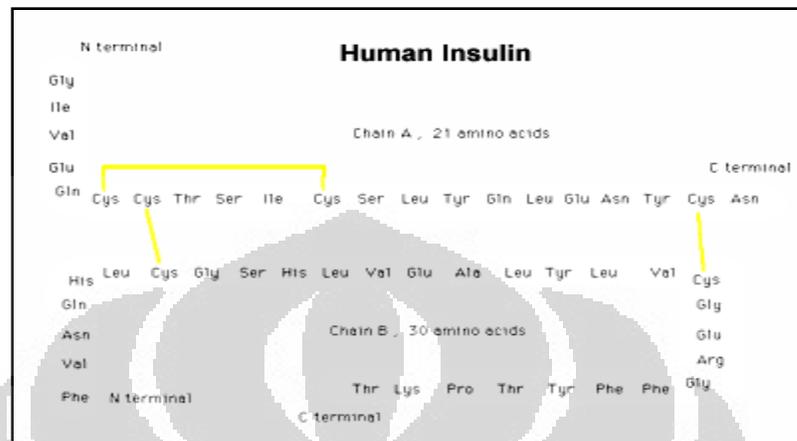
Konsentrasi Au (μM)	Arus 1	Arus 2	Arus 3	Arus rata-rata
40	0,16	0,13	0,19	0,16
60	0,29	0,29	0,24	0,27
80	0,43	0,42	0,47	0,44
100	0,69	0,68	0,65	0,67

Lampiran 6. Gambar Struktur Molekul



[Sumber : http://www.chemistry.iitd.ac.in/chemcos/issue-V/SV_surfaces.html]

Struktur Molekul PDDA dan PSS



[Sumber: http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Williford/assignment2_home.htm]

Struktur Insulin