



UNIVERSITAS INDONESIA

**Studi Pengembangan Sensor BOD Dengan Elektroda Glassy
Carbon Terdeposisi Partikel Emas dan Terimobilisasi Mikroba
Candida Fukuyamaensis UICCY-247 Berbasis Sensor Oksigen**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**Dante Nathanael
0706263044**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
JUNI 2011**

Universitas Indonesia

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Dante Nathanael

NPM : 0706263044

Tanda Tangan : 

Tanggal : 7 Juli 2011

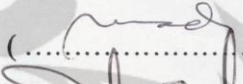
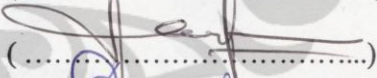
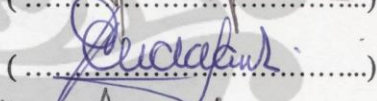
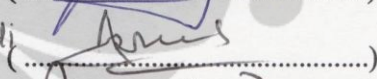

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Dante Nathanael
 NPM : 0706263044
 Program Studi : Kimia
 Judul Skripsi : Studi Pengembangan Sensor BOD Dengan Elektroda *Glassy Carbon* Terdeposisi Emas dan Terimobilisasi Mikroba *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 Berbasis Sensor Oksigen

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 I	: Dr Ivandini T.A.	()
Pembimbing II	: Dr Endang Saepudin	()
Penguji	: Dr Widayanti Wibowo	()
Penguji	: Dr Jarkuzi Gunlazuardi	()
Penguji	: Dra. Susilowati Hs, MSc	()

Ditetapkan di :

Tanggal :

Universitas Indonesia

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi yang berjudul “Studi Pengembangan Sensor BOD Dengan Elektroda Terdeposisi Emas dan Terimobilisasi Mikroba Candida Fukuyamaensis UICCY-247 Berbasis Sensor Oksigen” ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Begitu banyak bantuan yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini, oeh karena itu penulis berterimakasih kepada semua pihak yang turut membantu dalam terselesaikannya skripsi ini.

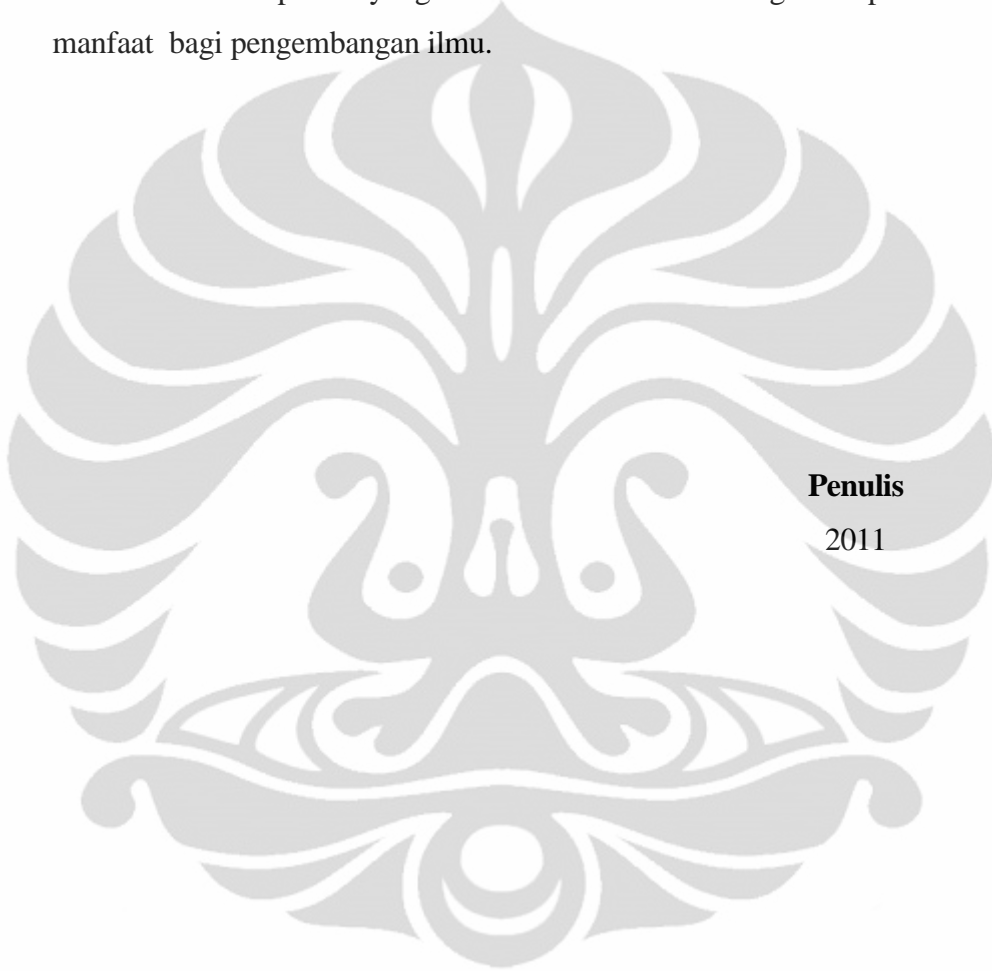
Penulis pun ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Ivandini Tribidasari A. selaku pembimbing I sekaligus pembimbing akademik dan Bapak Dr. Endang Saefudin selaku pembimbing II yang dengan sabar membimbing dan memberikan masukan, saran, arahan, serta diskusi yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini
2. Bapak Dr. Ridla Bakri, M.Phil selaku ketua Departemen Kimia.
3. Ibu Dr.rer.nat. Widajanti Wibowo selaku ketua KBI Kimia Fisik, Ibu Dra. Tresye Utari, M.Si selaku koordinator penelitian, Ibu Dra. Susilawati Hs., M.Si selaku manajer laboratorium penelitian, Ibu Ir. Widyastuti Samadi, M.Si selaku koordinator pendidikan,
4. Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan wawasan dan ilmu pengetahuan kepada penulis.
6. Bapak Hedi, Mba Ina, Mba Cucu, Mba Emma dan Mba Tri yang telah membantu dalam peminjaman alat dan penyediaan bahan.
7. Bapak Marji, Mas Edi, Bapak Trisno, Bapak Amin, Bapak Kiri, serta seluruh karyawan dan karyawanati Departemen Kimia FMIPA UI. Terima kasih atas bantuannya selama ini.

Universitas Indonesia

8. Teman-teman kimia angkatan 2006,2007 , dan 2008 yang selama ini terus memberikan semangat pada penulis.
9. Bu Yeni dan Bu Lili atas dukungan dan semangatnya.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.



Penulis
2011

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

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

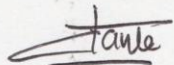
Nama : Dante Nathanael
NPM : 0706263044
Program Studi : Kimia Fisik
Departemen : Kimia
Fakultas : MIPA
Jenis karya : Skripsi

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 Sensor BOD Dengan Elektroda Terdeposisi Emas dan Terimobilisasi Mikroba *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 Berbasis Sensor Oksigen

berserta 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 : Depok
Pada tanggal : Juli 2011
Yang menyatakan



(**Dante Nathanael**)

Universitas Indonesia

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latarbelakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Sensor Kimia.....	4
2.2 Elektrokimia.....	5
2.3 Cyclic Voltametry.....	6
2.4 Amperometric Bisensor.....	7
2.5 Glassy carbon.....	9
2.6 Nanopartikel emas.....	11
2.7 Oksigen.....	11
2.8 BOD.....	12
2.9 Khamir,.....	13
2.6.1 Candida Fukuyamaensis UICCY-247.....	14
2.10 Imobilisasi khamir.....	14
2.11. Sensor Elektrokimia sebagai Pengukur BOD.....	15

BAB 3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Alat.....	16
3.2 Bahan.....	16
3.3 Prosedur Kerja.....	16
3.3.1 Sterilisasi Alat.....	16
3.3.2 Penyiapan Inokulum.....	17
3.3.3 Penentuan Kurva Pertumbuhan.....	18
3.3.3.1 Penentuan Jumlah sel khamir yang digunakan dengan kamar hitung (<i>Counting Chamber</i>).....	18
3.3.4 Pembuatan elektroda glasy carbon termodifikasi emas.....	18
3.3.4.1 Pembuatan Larutan.....	18
3.3.4.2 Preparasi Elektroda glassy carbon.....	19
3.3.4.3 Pembuatan Elektroda Terdeposisi emas.....	19
3.3.5 Imobilisasi Khamir.....	19
3.3.6 Pembuatan Larutan Buffer fosfat.....	20
3.3.7 Aplikasi Sensor BOD.....	20
3.3.7.1 perancangan sel elektrokimia.....	20
3.3.7.2 Penentuan potensial reduksi oksigen.....	20
3.3.7.3 Penentuan waktu optimum pengukuran BOD.....	20
3.3.7.4 Penentuan scan rate optimum.....	21
3.3.7.5 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan sel khamir bebas (<i>free cell</i>).....	21
3.3.7.6 Pengukuran ketebalan optimum lapisan imobilisasi.....	21
3.3.7.7 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan terimobilisasi.....	22
3.3.7.8 Pengukuran kestabilan lapisan tipis imobilisasi.....	22
3.3.7.9 Pengukuran reproducibility elektroda glassy karbon termodifikasi partikel emas tanpa kehadiran sel khamir dan lapisan imobilisasi.....	22
3.3.7.10 Penentuan <i>Limit Of Detection</i> (LOD) untuk keadaan terimobilisasi.....	23
3.3.7.11 Pengaruh keberadaan logam berat pada pengukuran BOD sensor.....	23

.3.7.12 Pengujian kesetaraan pengukuran BOD konvensional dengan metode sensor kimia.....	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Kurva Pertumbuhan.....	24
4.2 Perhitungan Jumlah sel khamir dengan kamar hitung.....	25
4.2 Preparasi Elektroda Glassy carbon.....	26
4.3 Modifikasi Elektroda <i>Glassy Carbon</i> dengan partikel emas.....	27
4.4 Penentuan Potensial Reduksi Oksigen.....	29
4.5 Imobilisasi sel khamir <i>Candida Fukuyamaensi</i> UICCY-247.....	31
4.6 Aplikasi BOD sensor.....	33
4.6.1 Penentuan waktu optimum sensor BOD.....	33
4.6.2 Penentuan <i>scan rate</i> optimum pada sensor BOD.....	34
4.6.3 Kurva kalibrasi linier keadaan <i>free cell</i>	35
4.6.4 Penentuan ketebalan Optimum lapisan imobilisasi.....	36
4.6.5 Penentuan kalibrasi linier keadaan terimobilisasi.....	38
4.6.6 Kestabilan lapisan tipis imobilisasi.....	39
4.6.7 Reproducibility Elektroda GC-Au.....	41
4.6.8 Limit Of Detection.....	43
4.6.9 Pengaruh keberadaan logam berat pada sensor BOD.....	43
4.6.10 Uji kesetaraan sensor BOD dengan metode pengukuran BOD konvensional.....	46
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	50

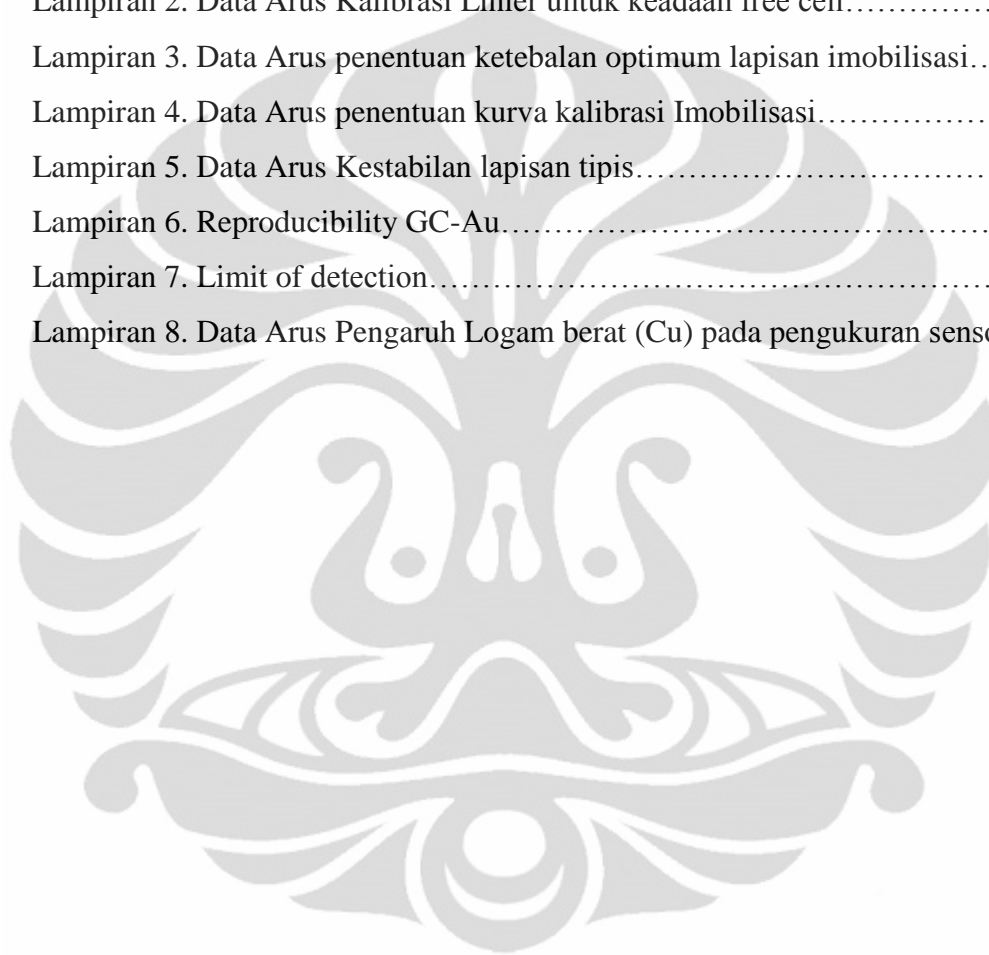
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Sensor Kimia.....	4
Gambar 2.2 Potensiostat dan sistem 3 elektroda.....	6
Gambar 2.3 Contoh siklik voltamogram.....	7
Gambar 2.4 Amperometrik voltamogram glukosa oksidase dalam larutan glukosa.....	9
Gambar 2.5 Glassy carbon.....	10
Gambar 2.6 Contoh spesies khamir.....	13
Gambar 2.7 Struktur Nafion.....	15
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan <i>Candida fukuyamaensis</i>	25
Gambar 4.2 Plot Hubungan antara nilai optical density dengan jumlah sel khamir per ml.....	26
Gambar 4.3 Cyclic Voltamogram 100 μM HAuCl_4 dalam 0,1 M HCl.....	28
Gambar 4.4 Hasil SEM elektroda glassy carbon terdeposisi emas.....	29
Gambar 4.5 Cyclic Voltamogram larutan oksigen dengan menggunakan elektroda <i>glassy carbon</i> termodifikasi nanopartikel emas.....	30
Gambar 4.6 Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen	31
Gambar 4.7 Matriks Agarose /KCl yang sudah diimobilisasi khamir.....	32
Gambar 4.8 Lapisan tipis imobilisasi pada Nafion®.....	33
Gambar 4.9 Amperogram Penentuan waktu optimum pengukuran Sensor BOD.....	34
Gambar 4.10 Amperogram penentuan scan rate optimum pengukuran Sensor BOD.....	34
Gambar 4.11 Amperogram kalibrasi linier keadaan <i>free cell</i>	35
Gambar 4.12 Plot grafik antara arus reduksi dengan variasi konsentrasi oksigen <i>free cell</i>	36
Gambar 4.13 Amperogram variasi ketebalan lapisan imobilisasi pada membran Nafion®.....	37
Gambar 4.14 Plot antara volume lapisan imobilisasi pada nafion dengan arus reduksi	37
Gambar 4.15 Amperogram kalibrasi imobilisasi dengan variasi konsentrasi oksigen.....	38

Gambar 4.16	Plot arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen keadaan terimobilisasi.....	39
Gambar 4.17	Amperogram Kestabilan Lapisan Tipis Imobilisasi.....	40
Gambar 4.18	Plot respon arus kestabilan lapisan tipis imobilisasi pada larutan oksigen (12 detik /36 ppm) dalam buffer fosfat.....	40
Gambar 4.19	Kurva % kenaikan arus reduksi pada larutan oksigen 12 detik (36 ppm) dalam buffer fosfat pda penentuan kestabilan lapisan tipis.....	41
Gambar 4.20	Reproducibility Glassy Carbon terdeposisi partikel emas tanpa kehadiran sel khamir.....	42
Gambar 4.21	Reproducibility elektroda Glassy carbon terdeposisi partikel emas pada keadaan terimobilisasi lapisan tipis mikroorganisme.....	42
Gambar 4.22	Gambar Amperogram pengaruh logam berat pada pengukuran sensor BOD dalam keadaan free cell.....	44
Gambar 4.23	Plot hubungan arus reduksi terhadap konsentrasi Cu (free cell).....	44
Gambar 4,24	Amperogram Pengaruh Cu pada pengukuran sensor BOD (keadaan terimobilisasi).....	45
Gambar 4.25	Plot hubungan arus reduksi dengan konsentrasi Cu (keadaan terimobilisasi).....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja.....	51
Lampiran 2. Data Arus Kalibrasi Linier untuk keadaan free cell.....	53
Lampiran 3. Data Arus penentuan ketebalan optimum lapisan imobilisasi.....	53
Lampiran 4. Data Arus penentuan kurva kalibrasi Imobilisasi.....	53
Lampiran 5. Data Arus Kestabilan lapisan tipis.....	53
Lampiran 6. Reproducibility GC-Au.....	54
Lampiran 7. Limit of detection.....	55
Lampiran 8. Data Arus Pengaruh Logam berat (Cu) pada pengukuran sensor.....	56



ABSTRAK

Nama : Dante Nathanael
 Program Studi : Kimia
 Judul : Studi Pengembangan Sensor BOD Dengan Elektroda *Glassy Carbon* Terdeposisi Emas dan Terimobilisasi Mikroba *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 Berbasis Sensor Oksigen.

Pengembangan sensor BOD dilakukan dengan elektroda glassy carbon terdeposisi partikel emas dan terimobilisasi lapisan tipis khamir *Candida fukuyamaensis* UICCY-247. Proses modifikasi *glassy carbon* dengan partikel emas dilakukan dengan proses elektrodeposisi pada potensial -300mV dengan menggunakan *Multi Pulse Amperometry* (MPA) terhadap Ag/AgCl. Karakterisasi dengan SEM menunjukkan ukuran partikel emas yang melapisi *glassy carbon* adalah sekitar 66 nm. Proses imobilisasi mikroba khamir dilakukan dengan matriks Agarose/KCl 2% yang diratakan pada permukaan membran Nafion®. Deteksi nilai oksigen yang digunakan oleh mikroorganisme dilakukan dengan teknik MPA pada potensial -600mV. Hasil pengukuran kalibrasi linier pada keadaan *free cell* dan keadaan terimobilisasi lapisan tipis khamir menunjukkan nilai daerah kelinieran yang baik dengan nilai regresi $R^2 = 0,93$ untuk keadaan *free cell* dan $R^2 = 0,933$ untuk keadaan terimobilisasi lapisan tipis khamir. Pengukuran terhadap kestabilan lapisan tipis menunjukkan bahwa pada setiap hari pengukuran, terjadi penurunan arus reduksi yang terukur sebagai akibat semakin sedikitnya jumlah sel khamir yang hidup dalam sistem. Presisi pengukuran dengan elektroda GC-Au pada 15 kali pengukuran dengan cyclic voltametry memberikan nilai RSD 18,49% untuk keadaan tanpa kehadiran sel khamir dan RSD 14,65% dalam keadaan terimobilisasi lapisan tipis sel khamir. Pengaruh kehadiran logam berat pada sistem pengukuran dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi spesi Cu. Pengukuran dengan MPA pada -600mV terhadap Ag/AgCl menunjukkan kenaikan arus reduksi terhadap kenaikan konsentrasi spesi Cu karena makin sedikit jumlah oksigen yang dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat jumlah mikroorganisme efektif dalam sistem akan semakin sedikit. Uji kesetaraan yang dilakukan antara metode sensor BOD dan BOD konvensional menghasilkan perbandingan yang cukup baik sehingga dapat disimpulkan metode sensor BOD memiliki keakuratan pengukuran yang cukup baik

.Kata Kunci : BOD, *Candida fukuyamaensis* UICCY-247, glassy carbon, oksigen, nanopartikel emas

Xiii+54 Hal : 25 gambar

Daftar Pustaka : 18 (1979-2010)

ABSTRACT

Name : Dante Nathanael
Program Study : Chemistry
Title : Development Study of BOD Sensor using Glassy Carbon Deposited Au Electrode and Immobilized *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 Based on Oxygen Sensor.

The development of BOD sensor conducted with glassy carbon gold particles deposited electrode and immobilized with a thin layer of yeast *Candida fukuyamaensis* UICCY-247. The process of glassy carbon modification with gold particles carried by the process of electrodeposition at a potential 300mV by using Multi-Pulse Amperometry (MPA) against Ag / AgCl. Characterization by SEM shows the size of gold particles lining the glassy carbon is about 66 nm. The process of microbial immobilization of yeast is done by using matrix agarose / KCl 2%, which flattened at the surface of Nafion[®] membrane. Detection of oxygen used by microorganisms was done by using MPA on the potential-600mV. Linear calibration measurement results on the state of free cell and immobilized state of a thin layer of yeast showed good linearity local value with the value of regression $R^2 = 0.93$ for the state of free cell and $R^2 = 0.933$ for the immobilized state of a thin layer of yeast. Measurements showed that the stability of a thin layer on each day of measurement, there was a measurable decrease in flow reduction as a result of the small number of yeast cells that live within the system. Precision measurement with GC-Au electrode in 15 times of measurement by cyclic voltametry 18.49% RSD value for the state without the presence of yeast cells and 14.65% RSD in the immobilized state of a thin layer of yeast cells. Effect of the presence of heavy metals on the measurement system is done by varying the concentration of Cu species. Measurements with MPA at-600mV against Ag / AgCl showed increased flow reduction of Cu species concentration increases because the less amount of oxygen that can be used by microorganisms due to the number of effective microorganisms in the system will be less. Equivalence test conducted between the sensor BOD and BOD methods of conventional produce a pretty good ratio so it can be concluded, BOD sensor has a good accuracy on measurement.

Keywords : BOD, *Candida fukuyamaensis* UICCY-247 cyclic voltametry, multi pulse amperometry, glassy carbon, oxygen, Gold nanoparticles.

Xiii+54 Hal : 25 gambar

Daftar Pustaka: 18 (1979-2010)

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sebagai salah satu komponen penyusun makhluk hidup termasuk manusia, air merupakan salah satu substansi kimia yang sangat penting bagi kehidupan. Oleh karena itu, air bersih yang bebas dari kontaminan merupakan suatu kebutuhan yang amat penting. Namun keadaan di alam jauh berbeda dari yang diharapkan. Air bersih yang diharapkan ternyata sebagian besar sudah terkontaminasi oleh zat-zat pencemar. Zat-zat pencemar tersebut dapat berupa logam-logam berat ataupun polutan-polutan organik seperti dedaunan atau rumput yang sudah mengering, sampah sisa makanan, dan lain-lain.

Salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menentukan kualitas air adalah *Biochemical Oxygen Demands* (BOD). Parameter ini didasarkan pada banyaknya konsumsi oksigen oleh mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa organik di air. Semakin banyak polutan organik, semakin banyak oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk mendegradasi polutan organik. Hal ini mengakibatkan terganggunya aktivitas organisme akuatik atau perairan lainnya yang juga membutuhkan oksigen dalam proses metabolismenya.

Pengukuran terhadap BOD biasanya dilakukan dengan metode konvensional, yang proses pengukurannya membutuhkan waktu sekitar 5 hari. Pengembangan metode sensor kimia berbasis mikroba menghasilkan pengukuran BOD dengan waktu yang relatif jauh lebih singkat, hingga hanya beberapa menit saja. Pengembangan sensor kimia terhadap BOD dilakukan dengan mengukur jumlah oksigen terlarut di dalam air. Nilai BOD didapat dengan mengurangi kadar oksigen terlarut sebelum dan sesudah dikonsumsi oleh bakteri.

Metode deteksi oksigen dengan sensor elektrokimia sebelumnya telah dikembangkan oleh Clark (Skoog-West, 2002), yang kemudian digunakan untuk pengukuran glukosa untuk kemudian berkembang lagi menjadi sensor BOD. Metode ini dilaporkan mampu mempercepat pengukuran BOD hingga hanya 30 menit saja dibandingkan dengan metode konvensional yang memakan waktu

hingga 5 hari. Dalam pengembangan sensor BOD, elektroda yang digunakan merupakan elektroda yang sensitif terhadap oksigen diantaranya adalah platina, emas dan perak.

Dalam penelitian ini digunakan elektroda glassy carbon yang dimodifikasi dengan partikel emas melalui metode elektrodeposisi. Deposisi partikel emas pada permukaan elektroda glassy carbon diharapkan mampu menambah sensitifitas dan respon elektroda terhadap oksigen sehingga dapat diaplikasikan dengan baik sebagai sensor BOD. Selain modifikasi dengan partikel emas sebagai sensor terhadap BOD, dilakukan penambahan material lain yang dapat membantu penyerapan oksigen oleh mikroorganisme, yaitu suatu lapisan mikroorganisme yang berperan dalam konsumsi terhadap oksigen terlarut. Lapisan mikroorganisme yang ditambahkan pada elektroda berupa lapisan imobilisasi mikroorganisme. Mikroba khamir dipilih karena selain sifat khamir yang tidak patogen serta kemampuannya untuk tumbuh tanpa membutuhkan perlakuan khusus, khamir juga memiliki kestabilan tinggi terhadap lingkungan. Khamir yang digunakan sebelumnya harus diimobilisasi agar berada dekat dengan elektroda, sehingga memungkinkan proses deteksi BOD dapat berlangsung cepat.

Imobilisasi merupakan suatu proses penjebakan mikroba untuk memperkecil pergerakannya yang didukung dengan adanya suatu media atau matriks yang sesuai dengan kondisi khamir yang telah memasuki pertumbuhan konstan. Untuk memudahkan penggunaannya dalam sistem mikroelektronik pada elektroda, proses imobilisasi ini kemudian dilakukan dengan teknik film tipis.

1.2. Perumusan masalah

Pada penelitian ini, imobilisasi sel khamir dilakukan pada suatu matriks tanpa mengganggu aktifitas biologisnya dengan cara membuat lapisan tipis di atas permukaan membran Nafion 50 mikron. Proses pembuatan lapisan tipis dilakukan dengan teknik evaporasi pada temperatur ruang dengan variasi ketebalan lapisan imobilisasi. Lapisan imobilisasi tersebut kemudian digunakan untuk modifikasi transduser dengan melekatkan pada elektroda kerja untuk mempelajari sistem sensor elektrokimia dalam pengukuran BOD. Elektroda kerja yang digunakan

adalah elektroda glassy carbon termodifikasi partikel emas. Pengukuran BOD yang dilakukan dalam penelitian ini berupa pengukuran langsung terhadap kadar oksigen terlarut dalam air dengan metode sensor oksigen. Hasil yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan hasil dari metode standar atau metode konvensional. Pengaruh keberadaan spesi logam berat dilakukan dengan menambahkan logam berat dengan variasi konsentrasi tertentu ke dalam system pengukuran. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi UICC Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

1.3. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan suatu sensor BOD berbasis mikroba yang mampu mengukur secara langsung BOD melalui pengukuran terhadap kadar oksigen terlarut dalam air dan mengetahui pengaruh keberadaan spesi logam berat terhadap pengukuran BOD sensor.

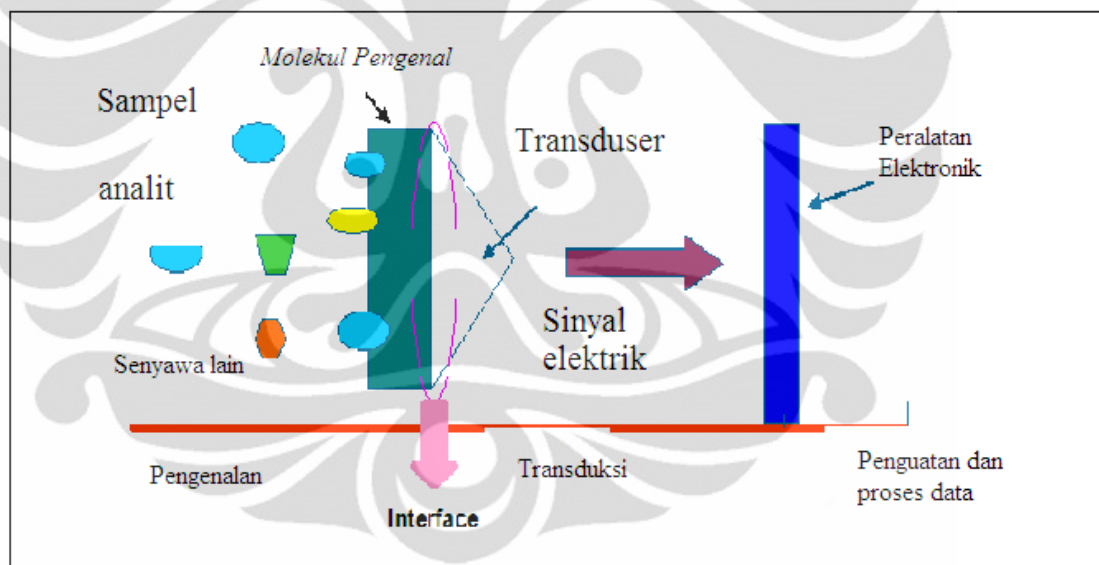
1.4. Hipotesis

1. Elektroda *glassy carbon* termodifikasi emas dapat digunakan sebagai sensor BOD dalam mengukur kadar oksigen.
2. Lapisan imobilisasi dari *Candida fukuyamaensis* UICCY-247 pada nafion berfungsi sebagai transducer, dimana oksigen yang terbaca merupakan oksigen yang digunakan oleh mikroba tersebut.
3. Keberadaan logam berat dalam sistem dapat mempengaruhi pengukuran BOD sensor.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sensor Kimia

Sensor kimia merupakan instrumen analisis yang dilengkapi suatu molekul pengenal berupa material biologis atau senyawa kimia yang secara langsung diubah menjadi sinyal elektrik oleh suatu pengubah sinyal (*transducer*). *Transducer* adalah alat yang dapat mengubah proses pengenalan molekul pengenal terhadap suatu analit menjadi data elektrik. Hasil kerja alat itu dapat dibaca dan digunakan untuk mengidentifikasi jenis dan jumlah analit. Sinyal yang terbentuk selanjutnya dihubungkan dengan konsentrasi analit tersebut. Secara umum gambaran mengenai sensor kimia dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 skema sensor kimia

(Sumber: Wibowo,2007)

2.2. Elektrokimia

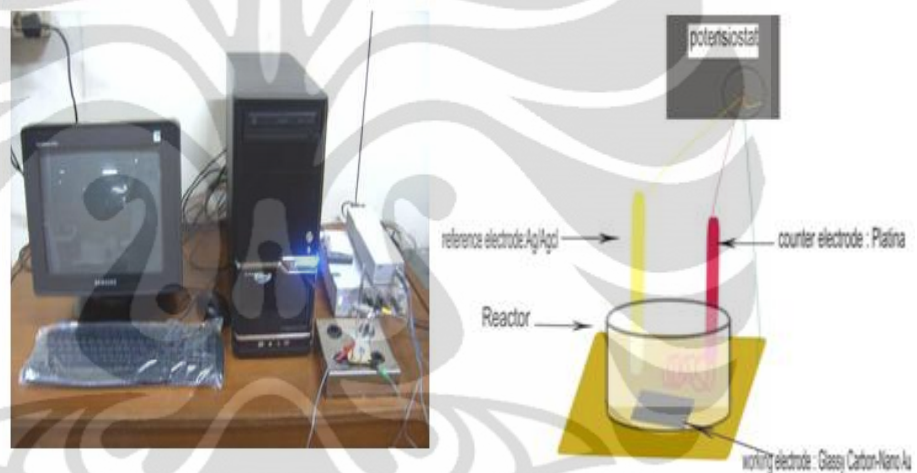
Elektrokimia adalah suatu hubungan antara perubahan reaksi kimia dengan kerja listrik. Ada dua jenis sel elektrokimia yaitu sel elektrokimia yang melakukan kerja dengan melakukan kerja dengan melepaskan energi dari reaksi spontan, dan sel elektrokimia yang menyerap energi dari sumber listrik untuk menggerakkan reaksi non spontan. Dalam sel elektrolisis, terdapat suatu gaya dorongan pada elektron sehingga mampu berpindah dari anoda ke arah katoda. Gaya dorongan ini disebabkan adanya perbedaan potensial listrik antara katoda dengan anoda. Kerja maksimum yang didapat dalam suatu sel elektrokimia tergantung daripada perbedaan potensial sel yang terjadi pada elektroda kerja. Suatu sel elektrokimia umumnya terdiri dari tiga jenis elektroda yaitu elektroda kerja, elektroda pendukung dan elektroda pembanding.

Elektroda kerja adalah elektroda tempat reaksi reduksi-oksidasi analit berlangsung. Elektroda ini umumnya terbuat dari logam, bahan semikonduktor, dan juga karbon. Elektroda logam yang sering digunakan adalah platina (Pt), emas (Au), dan perak (Ag). Sedangkan elektroda semikonduktor yang umum digunakan adalah Silikon (Si) dan Galium (Ga). Untuk elektroda karbon terdapat beberapa jenis, yaitu pasta, *glassy carbon*, dan juga *pyrolitic graphite*.

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.

Elektroda pembanding adalah elektroda yang potensialnya dibuat konstan sehingga dapat digunakan sebagai pembanding terhadap perubahan yang terjadi pada elektroda kerja. Fungsi elektroda pembanding adalah sebagai penstabil beda potensial pada elektroda kerja dalam sel elektrokimia. Elektroda pembanding yang biasa digunakan adalah 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.

Dalam metode analisis, terdapat tiga jenis metode elektrokimia yang biasa digunakan, yaitu konduktometri, potensiometrik, dan amperometrik. Konduktometri mengukur perubahan hantaran yang timbul antara dua buah elektroda, potensiometrik mengukur perbedaan potensial antara sampel dengan pembanding, di sini dilakukan monitor akumulasi muatan yang dihasilkan karena pengikatan selektif pada permukaan elektroda. Sedangkan amperometrik mengukur arus yang dihasilkan dari reaksi redoks pada potensial tertentu.

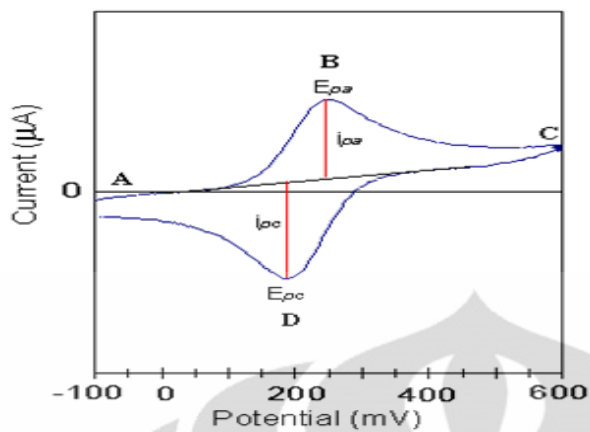


Gambar 2.2 Potensiostat dan sistem 3 elektroda

(Sumber : Aryani, 2010)

2.3. Cyclic Voltametry

Cyclic Voltametry adalah salah satu metode elektroanalisis yang digunakan dalam mempelajari mekanisme reaksi redoks yang terjadi pada elektroda. Metode ini mampu mendeteksi secara cepat potensial yang dimiliki elektroda baik dalam keadaan reduksi maupun oksidasi.



Keterangan

E_{pa} = Potensial pada saat terbentuknya *peak anodic*

E_{pc} = Potensial pada saat terbentuknya *peak cathodic*

I_{pa} = Arus pada saat terbentuknya *peak anodic*

I_{pc} = Arus pada saat terbentuknya *peak cathodic*

Gambar 2.3 Siklik voltamogram

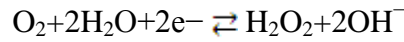
[Sumber: http://www.basinc.com/mans/EC_epsilon/Techniques/CycVolt/cv.html]

Jika salah satu puncak telah terdeteksi, maka puncak pasangannya akan mudah dikarakterisasi berdasarkan potensial dari puncak pada voltamogram *cyclic* dan dari perubahan variasi *scan rate*. *Cyclic voltametry* sendiri merupakan metode yang sangat menarik untuk mempelajari berbagai konsep dalam elektrokimia. Sistem ini digambarkan sebagai teknik yang aktif dalam metode elektrokimia karena mengemudikan langsung reaksi elektrokimia dengan menggabungkan kimia ke dalam suatu rangkaian listrik kemudian mengontrol reaksinya dengan suatu parameter rangkaian listrik seperti voltase.

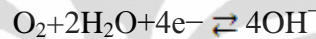
2.4 Amperometrik biosensor

Amperometrik biosensor berfungsi saat potensial diberikan antara dua elektroda dan menghasilkan arus. Umumnya memiliki respon terhadap waktu, range yang dinamis dan sensitifitas yang sama dengan potensiometrik biosensor. Sistem sensor oksigen digunakan dengan respon yang berasal dari elektroda karbon modifikasi nanopartikel emas yang berperan sebagai katoda dimana merupakan tempat terjadinya reduksi oksigen dan Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding serta dengan bantuan platina spiral sebagai elektroda counter yang berfungsi menangkap elektron .

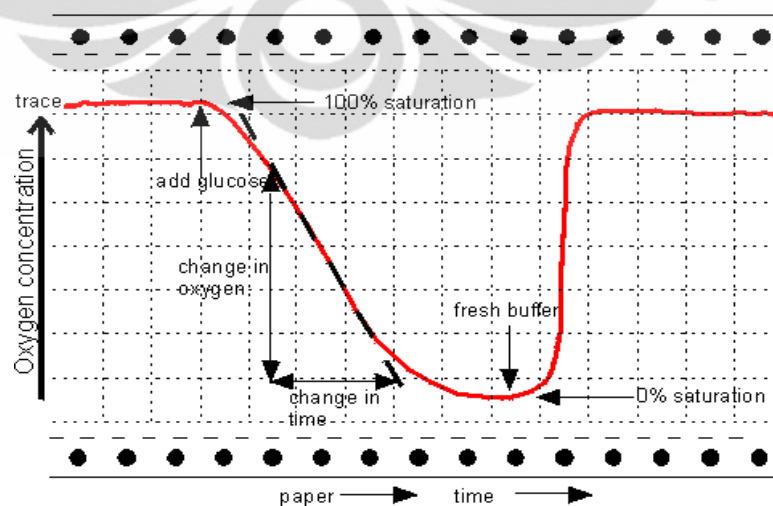
Ada dua mekanisme reaksi reduksi oksigen yang terjadi pada katoda. Mekanisme pertama adalah reaksi reduksi oksigen melalui tahap intermediet hidrogen peroksida yang melibatkan 2 elektron,



Mekanisme kedua merupakan merupakan reduksi oksigen secara langsung yang melibatkan 4 elektron,



Proses reduksi oksigen yang efisien terjadi pada bagian permukaan katoda dengan mengakibatkan konsentrasi oksigen berkurang hingga mendekati nol. Laju dari pengukuran reduksi oksigen ini sangat bergantung dari proses difusi oksigen ke bulk larutan yang bergantung pada gradient konsentrasi dan konsentrasi bulk oksigen. Sehingga banyaknya oksigen terlarut tersebut dikonsumsi dalam sistem ini. Dalam sistem ini digunakan larutan glukosa sebagai sumber karbon untuk khamir, sehingga terjadi proses biologis khamir yang juga menggunakan oksigen untuk bernafas. Proses perubahan oksigen yang terjadi diamati melalui proses reduksi oksigen yang terjadi pada permukaan elektroda.

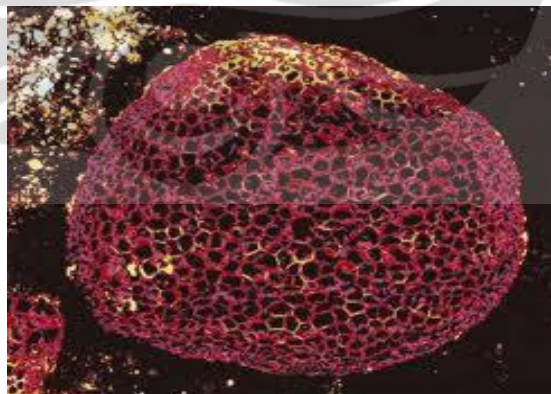


Gambar 2.4 Amperometrik voltamogram glukosa oksidase dalam larutan glukosa

Dalam uji sensor BOD digunakan elektroda kerja *glassy* karbon termodifikasi partikel emas yang dilakukan dengan metode elektrodeposisi. Penggunaan elektrolit di dalam sel elektrokimia juga merupakan hal yang penting di samping elektroda. Elektrolit berfungsi sebagai medium penghantar dimana transfer muatan terjadi melalui pergerakan ion-ion elektrolit tersebut. Larutan elektrolit yang digunakan harus 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 dari elektrolit kadang perlu ditambahkan suatu elektrolit pendukung seperti larutan garam anorganik, asam, atau basa.

2.5. *Glassy carbon*

Glassy carbon atau kaca karbon mempunyai bentuk fisik seperti kaca hitam yang mudah pecah. *Glassy carbon* mempunyai struktur *amorf*, mempunyai pori-pori yang berdekatan dalam ukuran yang kecil, bersifat inert, dan mempunyai kemurnian yang tinggi. Struktur *amorf glassy carbon* digambarkan dalam Gambar 2.5 berikut



r

2.2.5 *Glassy carbon*

[sumber: www.sciencedaily.com/releases/2007/09/070924172959.htm]

Glassy carbon sangat populer digunakan sebagai elektroda kerja karena memiliki sifat mekanik, elektrik, dan konduktivitas termal yang sangat baik, memiliki kisaran potensial yang lebar, inert secara kimia (tahan terhadap pelarut), dan relatif mudah diperoleh. Sifat elektrik yang dimiliki oleh *glassy carbon* disebabkan oleh hibridisasinya yang sama dengan grafit (hibridisasi sp^2) sehingga dapat menghantarkan arus listrik.

Sebelum digunakan sebagai elektroda kerja, perlu dilakukan *polishing* pada permukaan *glassy carbon*. *Polishing* ini dilakukan untuk membersihkan permukaan *glassy carbon* sehingga terlihat mirip seperti kaca. *Polishing* dapat dilakukan dengan menggunakan bahan yang bersifat *abrasive* (seperti alpha alumina). Setelah dibersihkan secara mekanik, kemudian *glassy carbon* dibersihkan secara fisika dengan sonikasi menggunakan propanol dan akuademin untuk membersihkan kotoran yang terperangkap pada pori-pori *glassy carbon*.

2.6 Nanopartikel emas

Nanopartikel merupakan partikel padat dalam daerah skala 1-100 nm yang dapat berupa nonkristal, agregat kristal, atau kristal tunggal. Ukuran nanopartikel yang lebih kecil dari material bulknya menyebabkan nanopartikel mempunyai luas permukaan yang lebih besar dibanding material bulknya. Selain itu, reduksi ukuran partikel emas juga dapat menyebabkan perbedaan titik leleh, sifat optis, warna, reaktifitas permukaan, sifat magnet, konduktivitas, dan panas spesifik dari material bulknya (Yulizar, 2004).

Pada proses pembuatannya, pengontrolan ukuran, bentuk, pertumbuhan, dan keseragaman dari nanopartikel perlu dilakukan. Dengan adanya pengontrolan tersebut, diharapkan nanopartikel yang terbentuk tidak mengalami aglomerasi, dan mempunyai ukuran serta bentuk yang seragam. Dalam sintesis nanopartikel, pengontrolan dapat dilakukan secara kimia yaitu dengan cara menambahkan zat penstabil yang dapat mencegah agregasi dan pertumbuhan partikel yang tidak terkontrol akibat energi permukaan dari nanopartikel yang besar. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi hasil sintesis nanopartikel yang diperoleh, diantaranya

jenis zat penstabil yang digunakan, pH larutan, lamanya perlakuan panas, dan konsentrasi reaktan. Hasil sintesis nanopartikel emas mempunyai warna yang bervariasi dari merah ke ungu tergantung pada ukuran partikelnya. Warna-warna yang timbul merupakan hasil frekuensi pita plasmon yang berada pada daerah visible yang menyerap warna biru dan memantulkan warna merah (Winter, 2007)

2.7 Oksigen

Oksigen adalah unsur kimia dalam sistem tabel periodik yang menempati golongan VI A dan periode 2 serta mempunyai konfigurasi elektron $1s^2 2s^2 2p^4$. Oksigen mempunyai lambang O dan nomor atom 8. Oksigen merupakan unsur kimia paling melimpah ketiga di alam semesta, setelah hidrogen dan helium. Oksigen dapat dengan mudah bereaksi dengan hampir semua unsur lainnya (utamanya menjadi oksida). Pada tekanan dan temperatur standar, dua unsur oksigen berikatan membentuk senyawa gas diatomik O_2 yang tidak berasa, tidak berbau, dan tidak berwarna. Gas oksigen diatomik mengisi 20,9% volume atmosfer bumi (*Oxygen*, 2010). Adanya oksigen di atmosfer bumi merupakan akibat dari siklus oksigen. Faktor utama yang mendorong siklus oksigen ini adalah fotosintesis.

Oksigen mempunyai kemampuan larut dalam air. Seberapa banyak oksigen yang terlarut dalam air sangat tergantung pada tekanan yang terdapat pada air. Semakin besar tekanan gas oksigen terhadap permukaan air semakin besar oksigen dapat larut dalam air. Selain itu, jumlah mineral dan suhu yang terdapat dalam air turut menentukan jumlah oksigen yang dapat larut dalam air. Semakin besar jumlah mineral dalam air, semakin kecil oksigen yang dapat larut ke dalam air. Semakin meningkat suhu air maka semakin menurun kadar oksigen yang dapat larut ke dalam air (*Teknologi*, 2009).

2.8. BOD

BOD atau Biochemical Oxygen Demands adalah suatu analisis empiris yang mencoba mendekati secara global proses mikrobiologis yang benar-benar terjadi di dalam air. Angka BOD merupakan suatu ukuran jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh bakteri untuk menguraikan (mengoksidasi) hampir semua zat organik yang terlarut dan sebagian zat organik yang tersuspensi dalam air. Pengukuran BOD sangat penting sebagai parameter kualitas dari air, karena secara tidak langsung menunjukkan beban pencemaran. Metode penentuan BOD biasanya dilakukan dengan metode konvensional. Metode ini dilakukan dengan membiarkan mikroorganisme berkembang biak dalam sistem yang diamati selama 5 hari pada saat pertumbuhannya di dalam air dianggap mencapai konstan dan mengukur konsentrasi oksigen yang digunakan selama jangka waktu tersebut. Oleh karenanya dibutuhkan waktu selama 5 hari untuk pengukuran BOD

2.9. Khamir

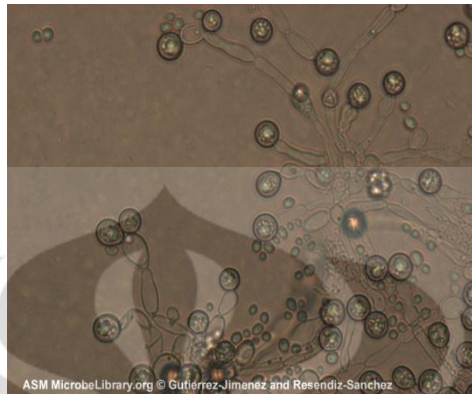
Khamir adalah fungi ekasel (uniselular) yang beberapa jenis spesiesnya umum digunakan untuk membuat roti, fermentasi minuman beralkohol, dan bahkan digunakan percobaan sel bahan bakar. Kebanyakan khamir merupakan anggota divisi Ascomycota, walaupun ada juga yang digolongkan dalam Basidiomycota. Khamir sendiri merupakan mikroorganisme aerob yang artinya menyerap oksigen maka dari itu dapat digunakan dalam pengukuran parameter BOD. Salah satu kelebihan dari khamir adalah kemampuannya untuk membuat suatu lapisan film diatas permukaan medium cair.

Taksonomi khamir adalah sebagai berikut:

Taksonomi Candida adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycotina
Sub divisi	: Saccharomycotina
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: Candida

Contoh Spesies : C.Fukuyamaensis ; C.Boidinii ; C.albican ; C.utilis
C.parapsilosis C.Tropicalis ; C.krusei ; C.oleophila



Gambar 2.6 Contoh spesies khamir
(sumber: en.wikipedia.org)

2.9.1. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Candida fukuyamaensis UICC Y-247 merupakan khamir yang didapat dari UCC (UI Culture Collection). Khamir ini ditumbuhkan pada suhu ruang dalam medium Yeast Malt Agar(YMA). Koloni berwarna putih agak krem, permukaan dan tekstur koloni licin, mengkilap seperti mentega, profil dan tepi koloni menggungung, dan lurus (Feni Triana Zulfia, 2010). Khamir ini dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologisnya dalam air karena bersifat anaerob fakultatif yaitu dapat hidup dengan atau tanpa oksigen. Proses elektrokimia yang digunakan memanfaatkan khamir yang sudah memasuki fase pertumbuhan yang maksimum dan konstan.

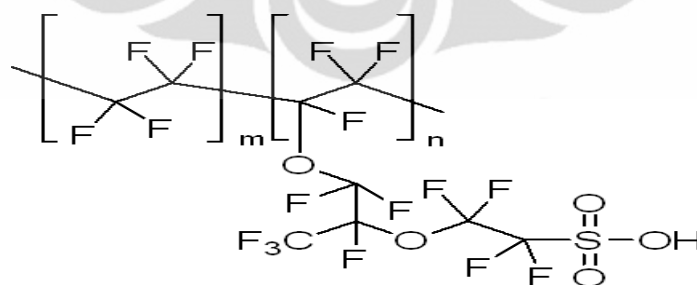
2.10 Immobilisasi khamir

Immobilisasi merupakan suatu proses penjebakan sel mikroorganisme dalam suatu matriks yang sesuai dengan tingkat pertumbuhan mikroorganisme. Dalam matriks tersebut diharapkan mikroorganisme tidak memerlukan waktu dan kondisi tambahan untuk mencapai pertumbuhan maksimal, sehingga digunakan

mikroorganisme yang telah ditumbuhkan terlebih dahulu di media cairnya hingga mencapai fase stasionernya.

Matriks yang digunakan disesuaikan dengan komponen media pertumbuhan khamir yaitu agarose/KCl, dimana KCl ditambahkan untuk menambahkan efektifitas *ion exchange*. Untuk proses aplikasi dalam sel elektrokimia, maka diperlukan suatu lapisan tipis yang direkatkan pada transduser, namun perlu adanya suatu tambahan materi yang memudahkan perekatan tersebut seperti misalnya membran yang dapat melewati gas dan efektifitas tinggi sebagai *ion exchange*. Salah satu membran memiliki syarat tersebut adalah membrane Nafion.

Membran Nafion (*PERFLUOROSULFONATE IONOMER MEMBRANES*) terbuat dari polimer yang memiliki kapasitas sebagai *ion exchange*. Perflourinated polimer menghasilkan kestabilan kimiawi dan termal yang sama seperti yang dimiliki polimer Teflon (. Membran ini merupakan lapisan polimer yang sangat tipis dan sangat berguna sebagai pemisah dalam berbagai macam aplikasi. Dalam sebuah tipe proses yang menggunakan membran, cairan mengandung satu atau lebih komponen akan berhubungan dengan salah satu sisi dari membran dan membran akan *permeable* hanya pada satu jenis komponen. Komponen yang lebih disukai tersebut akan ditransfer melewati membran akibat pengaruh perbedaan konsentrasi, potensial listrik dan tekanan hidrostatik.



Gambar 2.7 Struktur Nafion (perflourosulfonate ionomer membran)

(Sumber : en.wikipedia.org)

2.11 Sensor Elektrokimia sebagai pengukur BOD

Sensor elektrokimia dapat digunakan selama ada transfer elektron di dalam sistem. Sensor BOD yang dibuat menggunakan mikroorganisme yang diimobilisasikan ke dalam suatu matriks. Dengan mengkondisikan matriks tersebut sesuai dengan tingkat pertumbuhan mikroorganisme yang telah mencapai konstan, maka nilai BOD dapat diukur.

Pengukuran BOD dilakukan dengan mengukur jumlah transfer elektron yang diperoleh dari reaksi oksidasi NADH dengan oksigen di dalam mikroorganisme sebagai berikut



Oksigen yang tidak digunakan oleh mikroorganisme dapat diukur menggunakan reaksi reduksi oksigen pada permukaan katoda. Pengukuran dilakukan dengan metode amperometrik. Kuat arus yang dihasilkan akan sebanding dengan jumlah oksigen yang terdapat dalam larutan dan nilai BOD dapat langsung terbaca.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat-alat yang digunakan

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, botol timbang, batang pengaduk, kaca preparat, labu ukur, pipet tetes dan pipet ukur, beaker glass, dan alat-alat besi seperti spatula, crucible tong, jarum ose, sel elektrokimia yang terdiri dari, lempeng kuningan, platina spiral, tutup botol, penyangga yang terbuat dari skrub dan mur, dan elektroda *glassy carbon*.

Selain itu juga digunakan alat-alat instrumen seperti autoklaf, inkubator shaker, oven, potensiostat, uv spectronic 20, alat timbang analitis, pH meter, alat sentrifuge, dan DO meter.

3.2 Bahan – bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah glukosa, yeast ekstrak, malt ekstrak, pepton, agar, KCl, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , aquademin, aquademin steril, kapas berlemak., $HAuCl_4$, alpha-alumina, 2-propanol.

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA UI. Jenis khamir ini diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat.

3.3 Prosedur kerja

3.3.1 Sterilisasi alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan untuk media pertumbuhan khamir dan yang digunakan untuk regenerasi khamir seperti, tabung reaksi, pipet, cawan petri, erlenmeyer, disterilisasi terlebih dahulu dalam oven $160^{\circ}C$ 2 jam. Media untuk pertumbuhan khamir seperti YMA (*Yeast Malt Agar*), dan aquademin juga perlu dilakukan sterilisasi didalam autoklaf $121^{\circ}C$ selama 15 menit.

3.3.2 Penyiapan inokulum

1. Dalam proses ini digunakan sel mikroba berupa ragi dari spesies *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia Culture Center)
2. Medium agar yang digunakan adalah *Yeast Malt Agar* (YMA) dengan komposisi glukosa 10 g/L, malt ekstrak 3g/L, yeast ekstrak 3g/L, pepton 5 g/L dan agar 15 g/L. Terlebih dahulu komponen dicampurkan dan dilarutkan dengan akuademin, kecuali glukosa, perlakuannya terpisah dengan komponen lain. Setelah larut kemudian dilakukan sterilisasi dalam autoklaf 121°C selama 15 menit. Setelah itu baru dicampurkan sesuai komposisi.
3. Kultur yang diperoleh dimurnikan dengan metode cawan gores

Cawan petri yang telah digores diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 2 hari. Setelah dua hari, secara aseptik biakan yang berasal dari sel tunggal diambil dan dipindahkan ke dalam agar miring yang telah disiapkan. Biakan dalam agar miring diinkubasi kembali selama 2 hari pada suhu 30°C untuk dilakukan fermentasi. Suspensi sel dibuat dengan cara menuangkan 9 mL akuades steril ke dalam agar miring berisi biakan hasil permunian sebelumnya. Jarum ose digoreskan secara aseptik ke dalam tabung reaksi dan suspensi yang didapat ditempatkan dalam erlenmeyer steril kemudian diaduk menggunakan vortex. Sebanyak 5 mL suspensi sel dimasukkan ke dalam 100 mL medium fermentasi steril kemudiandiinkubasi pada suhu 30°C selama 2 hari dengan laju guncangan 110 rpm.

3.3.3. Penentuan Kurva Pertumbuhan

Sejumlah erlenmeyer disiapkan dan diurutkan sesuai dengan waktu pengamatan yaitu 0, 6, 12, 24, 30, 42, dan 48 jam. Masing-masing erlenmeyer diisi dengan 25 mL media fermentasi cair YMB (YMA tanpa agar) dan 1,25 mL suspensi sel. Fermentasi dilakukan menggunakan inkubator *shaker* pada suhu 30°C selama 2 hari dengan guncangan 110 rpm. Jumlah sel kemudian diamati

sesuai dengan waktu yang ditentukan, dengan mengamati perubahan kekeruhan menggunakan alat *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm.

3.3.3.1 Penentuan Jumlah sel khamir yang digunakan dengan kamar hitung (*Counting Chamber*)

Metode ini dilakukan dengan mengencerkan 10 ml suspensi sel yang didapat dari biakan agar miring dengan variasi pengenceran 10 kali, 100 kali, 1.000 kali, dan 10.000 kali. Masing-masing pengenceran dihitung jumlah sel khamir yang terdapat di dalamnya dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x pada wadah *counting chamber* dan juga diukur nilai *optical density* dengan *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm

3.3.4. Pembuatan Elektroda Glassy Carbon Terdeposisi Emas

3.3.4.1. Pembuatan Larutan

Tahap preparasi dilakukan dengan pembuatan larutan HAuCl_4 100 μM dalam HCl 0,1 M. larutan HAuCl_4 100 μM dalam HCl 0,1 M dibuat dengan mencampurkan 0,25 ml HAuCl_4 0,01 M dan 2,5 ml HCl 1 M dalam labu ukur 25 ml, kemudian diencerkan dengan akuademin sampai tanda batas.

3.3.4.2. Preparasi Elektroda Glassy Carbon

Pembersihan secara mekanik dilakukan dengan mengamplas salah satu sisi permukaannya (permukaan yang akan dimodifikasi) dengan Alpha-alumina 0,5 mikrometer sampai permukaannya mengkilap seperti kaca. Setelah itu elektroda disonikasi dalam 2-propanol dan akuademin masing-masing selama 10 menit.

3.3.4.3. Pembuatan Elektroda Terdeposisi Emas

Larutan HAuCl_4 100 μM dalam 0,1 M HCl dilakukan *cyclic voltametry* untuk mengetahui potensial reduksi dari Au. Potensial yang didapat kemudian dipakai untuk mendeposisi emas pada permukaan glassy carbon dengan menggunakan Multi Pulse Amperometric terhadap Ag/AgCl. Elektroda glassy carbon yang telah dideposisi dengan emas kemudian dikarakterisasi dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

3.3.5. Imobilisasi Khamir

Suspensi khamir yang telah didapatkan dari proses fermentasi, kemudian dilakukan perlakuan imobilisasi dengan membuat biomembran dari 2% agarose dalam larutan buffer fosfat. Larutan agarose dipanaskan sampai mendidih kemudian didinginkan pada 36°C dan 2 mL suspensi khamir ditambahkan ke dalamnya. Hasil campuran kemudian disebarkan ke membran Nafion dengan ukuran 1,5 cm x 2,5 cm sampai mencapai ketebalan tertentu. Dua buah potongan kaca digunakan untuk meratakan lapisan. Ketebalan lapisan divariasikan dengan memvariasikan volume campuran sebanyak 0,05 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, dan 0,5 ml. Lapisan imobilisasi kemudian disimpan dalam larutan buffer fosfat untuk disimpan dalam temperatur ruang. Setiap kali akan dipakai, membran dipotong dan dilekatkan ke sel elektrokimia.

3.3.6. Pembuatan larutan buffer fosfat

Larutan buffer fosfat pH 7 dibuat dengan cara menimbang K_2HPO_4 sebanyak 0,4355 g dan KH_2PO_4 sebanyak 0,3402 g kemudian dilarutkan dengan akuademin dalam labu ukur 50 mL.

3.3.7 Aplikasi sebagai sensor BOD

3.3.7.1 Perancangan sel elektrokimia

Untuk pengukuran dengan potensiostat, dilakukan dengan mengukur 2 keadaan sel yaitu pada saat keadaan bebas (*free cell*) dan saat keadaan terimobilisasi.

3.3.7.2 Penentuan potensial reduksi oksigen

Potensial reduksi dari oksigen ditentukan dengan *cyclic voltametry* dengan scanrate 100 mV/s menggunakan elektroda glassy carbon termodifikasi partikel emasterhadap Ag/AgCl dalam larutan buffer fosfat pH 7 yang dibubling menggunakan oksigen. Variasi waktu bubling oksigen dilakukan setiap 2 detik. Sebelum dibubling dengan oksigen, larutan buffer fosfat pH 7 dibubling dengan nitrogen selama satu menit untuk mengusir oksigen yang sebelumnya sudah ada dalam larutan, Hal yang sama juga dilakukan terhadap elektroda glassy carbon tidak termodifikasi partikel emas sebagai perbandingan

3.3.7.3 Penentuan waktu optimum pengukuran BOD

Elektroda *glassy carbon* termodifikasi nanopartikel emas kemudian diaplikasikan untuk sensor BOD dengan mendeteksi waktu optimum nilai BOD dapat dihitung. Dilakukan dengan menggunakan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) dengan memvariasikan waktu pengukuran selama 5 menit, 10 menit, 20 menit dan 30 menit, dengan potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl.

3.3.7.4 Penentuan scan rate optimum

Untuk mengetahui adanya reaksi oksidasi dan reduksi dalam sistem digunakan teknik *cyclic voltametry* dengan kisaran potensial -1000 mV sampai 1000 mV terhadap Ag/AgCl. Kemudian divariasikan scan rate yang digunakan dari 40, 80, 100, 200, 250 mV/s pada larutan uji glukosa dalam buffer fosfat dan menggunakan sel khamir bebas.

Keadaan reaksi kemudian dibandingkan pada saat keadaan 0 menit dan pada saat keadaan BOD telah terukur, yaitu setelah 20 menit.

3.3.7.5 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan sel khamir bebas (*free cell*)

Sel elektrokimia disiapkan dengan mencampurkan 4,5mL larutan buffer fosfat dan 0,5 mL larutan glukosa 10 ppm (untuk konsentrasi glukosa 1 ppm)

didalam kontainer. Larutan tersebut terlebih dahulu dibebaskan dari oksigen dengan menjenuhkan larutan dengan gas nitrogen selama 1 menit. Kemudian oksigen kembali dibubling pada larutan dengan memvariasikan waktu bubling setiap dua detik. Setelah larutan siap, 2 mL suspensi khamir ditambahkan. Sistem elektrokimia diukur dengan menggunakan teknik MPA pada potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum 20 menit. Kadar oksigen pada setiap waktu bubling diukur dengan DO meter secara terpisah.

3.3.7.6 Pengukuran ketebalan optimum lapisan imobilisasi

Lapisan imobilisasi yang sudah divariasikan ketebalannya dilekatkan pada permukaan elektroda kerja. Larutan yang digunakan adalah 4.5 mL larutan buffer fosfat pH 7 dan 0,5 mL larutan glukosa 10 ppm. Larutan tersebut terlebih dahulu dibebaskan dari oksigen dengan menjenuhkan larutan dengan gas nitrogen selama 1 menit. Kemudian bubling oksigen dilakukan selama 12 detik (konsentrasi oksigen yang memberikan respon maksimum). Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA dengan potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dan waktu optimum 20 menit. Kadar oksigen pada setiap larutan diukur secara terpisah dengan DO meter.

3.3.7.7 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan terimobilisasi

Lapisan imobilisasi dilekatkan pada permukaan elektroda kerja. Sel elektrokimia disiapkan dengan mencampurkan 4,5 mL larutan buffer pospat dan 0,5 mL larutan glukosa 10 ppm didalam kontainer. Larutan tersebut terlebih dahulu dibebaskan dari oksigen dengan menjenuhkan larutan dengan gas nitrogen selama 1 menit. Kemudian bubling oksigen dilakukan dengan variasi waktu setiap 2 detik. Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA dengan potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dan waktu optimum 20 menit. Kadar oksigen terlarut diukur secara terpisah dengan menggunakan DO meter.

3.3.7.8 Pengukuran kestabilan lapisan tipis imobilisasi

Elektroda glassy karbon termodifikasi nanopartikel emas yang telah dilapisi oleh lapisan tipis imobilisasi khamir dilakukan pengujian kestabilan secara elektrokimia dengan mengamati selama satu minggu dengan selang waktu

pemakaian satu hari, menggunakan larutan oksigen 12 detik (setara dengan 36 ppm) dalam buffer fosfat pH 7 dengan teknik MPA dengan potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dan waktu optimum 20 menit.

3.3.7.9 Pengukuran *reproducibility* elektroda glassy karbon termodifikasi partikel emastanpa kehadiran sel khamir dan lapisan imobilisasi

Elektroda glassy karbon termodifikasi nanopartikel emas di uji dalam larutan oksigen yang memberikan respon maksimum (12 detik) dalam buffer fosfat pH 7 tanpa kehadiran sel khamir dan dengan menggunakan lapisan imobilisasi sebanyak lima belas kali dengan teknik *cyclic voltametry* pada kisaran potensial -1000 mV sampai 1000 mV dengan *scan rate* optimum 100 mV/s.

3.3.7.10 Penentuan *Limit of Detection* (LOD) untuk keadaan terimobilisasi

Penentuan batas deteksi untuk elektroda kerja glassy karbon termodifikasi nanopartikel emas dan sudah terlapisasi lapisan imobilisasi dilakukan menggunakan larutan glukosa dalam larutan buffer fosfat yang memberikan arus linier. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pengulangan. Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA pada potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum 20 menit.

3.3.7.11 Pengaruh keberadaan logam berat pada pengukuran BOD sensor

Pengaruh logam berat dilakukan dengan menambahkan spesi logam berat Cu pada larutan oksigen 12 detik dalam buffer fosfat pH 7. logam berat Cu yang divariasikan yaitu 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm, dan 0,4 ppm. Pengukuran dilakukan dengan MPA pada potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl selama waktu optimum 20 menit. Pengukuran dilakukan baik dalam keadaan *free cell* maupun keadaan terimobilisasi.

3.3.7.12 Pengujian kesetaraan pengukuran BOD konvensional dengan metode sensor kimia

Pengujian perbandingan pengukuran nilai BOD konvensional dengan metode sensor kimia, dilakukan dengan menguji sampel dengan cara uji analisis BOD 5 hari (metode konvensional) dan dengan sensor kimia, menggunakan teknik *MPA* pada potensial -600 mV dengan waktu optimum 20 menit. Metode pengukuran BOD secara konvensional dilakukan dengan mengukur nilai oksigen terlarut (*dissolved oxygen*) dari sampel pada hari pertama dan kelima.



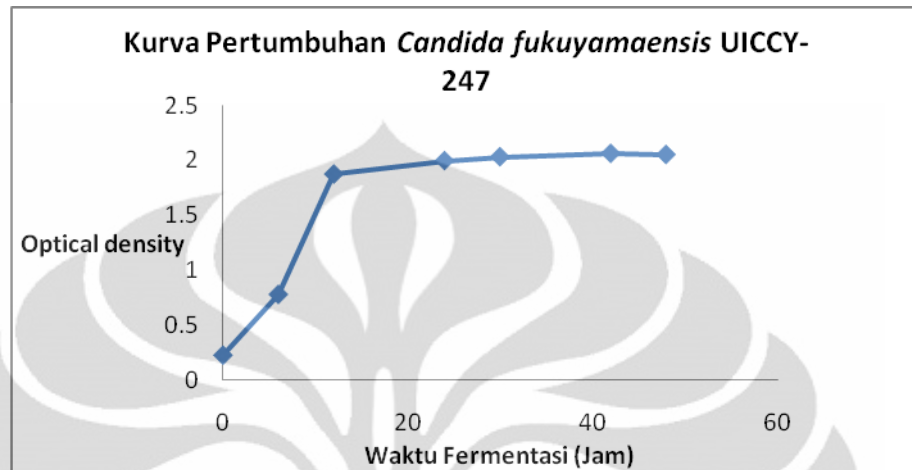
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan teknik pengukuran pada sensor BOD yang menggunakan elektroda glassy carbon terdeposisi partikel emas dan terimobilisasi mikroorganisme *Candida fukuyamaensis* UICCY-247 agar dapat secara langsung mengukur kadar oksigen yang digunakan oleh mikroorganisme tersebut. Oksigen sendiri digunakan oleh mikroba untuk melakukan biooksidasi terhadap senyawa organik yang terlarut dalam air. Proses imobilisasi dilakukan dengan menggunakan agarose/KCl biomembran yang dilekatkan pada elektroda. Pada penelitian dilakukan dengan memvariasikan kadar oksigen yang terdapat dalam larutan uji (glukosa) yang dibuat konstan. Pengukuran oksigen yang digunakan oleh mikroorganisme tersebut dilakukan dengan Multi Pulse Amperometrik pada potensial -600 mV. Pengukuran BOD dengan menggunakan metode sensor ini merupakan suatu metode yang memerlukan waktu pengukuran yang jauh lebih singkat daripada metode pengukuran BOD secara konvensional, sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif cara pengukuran.

4.1. Penentuan Kurva pertumbuhan *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan waktu maksimum pertumbuhannya dengan metode *optical density* (OD) dengan UV spectronic 20 pada panjang gelombang 600 nm. Hasil dari penentuan kurva pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 4.1. Pada saat 0-6 jam, mikroorganisme memasuki fasa eksponensial. Pada fasa ini mikroorganisme menggunakan cadangan energi untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan barunya yang miskin nutrisi dari lingkungan asalnya yang kaya nutrisi. Memasuki waktu 12-24 jam, mikroorganisme memasuki fasa logaritmik, dimana terjadi penambahan mikroorganisme seiring bertambahnya waktu. Memasuki waktu 30 jam, mikroorganisme memasuki fasa stasioner dimana jumlah mikroorganisme

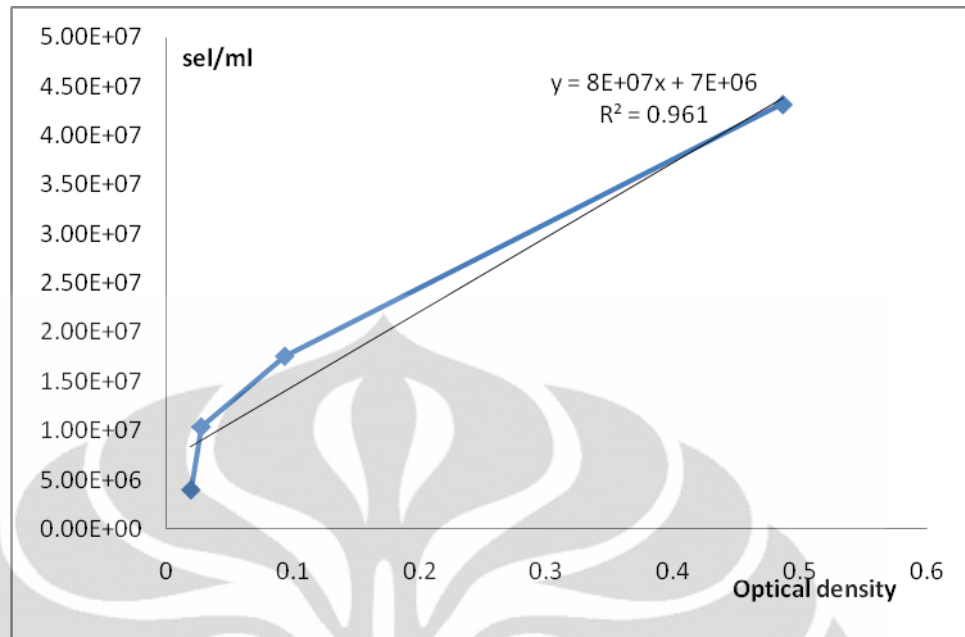
yang hidup sama dengan jumlah mikroorganisme yang mati (Riki,2007). Pada fasa stasioner, mikroorganisme mengalami pertumbuhan yang optimum.



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan *Candida fukuyamaensis*

4.2. Penentuan jumlah sel khamir yang digunakan dengan metode kamar hitung (*counting chamber*)

Metode kamar hitung dilakukan untuk menentukan jumlah sel khamir yang digunakan dalam penelitian. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan 10 ml suspensi sel yang didapat dari biakan agar miring dengan variasi pengenceran 10 kali, 100 kali, 1.000 kali, dan 10.000 kali. Masing-masing pengenceran dihitung jumlah sel khamir yang terdapat di dalamnya dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x pada wadah *counting chamber* dan juga diukur nilai *optical density* dengan *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm. Pada Gambar 4.2 dapat dilihat plot hubungan antara *optical density* dan jumlah sel khamir per milliliter.



Gambar 4.2. Plot Hubungan antara nilai optical density dengan jumlah sel khamir per ml.

Sel khamir yang diaplikasikan dalam sensor BOD merupakan sel khamir yang telah mencapai pertumbuhan maksimum atau hasil fermentasi. Nilai optical density dari sel khamir hasil fermentasi adalah 2,434. Dengan memasukkan nilai optical density sel khamir hasil fermentasi ke dalam persamaan yang didapat dari hubungan jumlah sel per mili dengan *optical density* didapat banyak sel hasil fermentasi adalah $2 \cdot 10^8$ sel khamir/ml. Karena jumlah suspense sel yang digunakan adalah 2 ml, maka sel khamir yang digunakan dalam sensor BOD adalah $4 \cdot 10^8$ sel khamir / 2 ml.

4.3. Preparasi elektroda *glassy carbon*

Preparasi elektroda *glassy carbon* bertujuan untuk membersihkan *glassy carbon* dari pengotor sebelum dimodifikasi dengan partikel emas. Elektroda *glassy carbon* yang digunakan terlebih dahulu diampelas dengan material yang memiliki sifat abrasive alpha alumina. Elektroda *glassy carbon* kemudian disonikasi dalam sonikator dengan menggunakan pelarut 2-propanol, dan juga

akuademin masing-masing selama sepuluh menit. Fungsi dari sonikasi adalah membuat molekul dari pengotor dapat bervibrasi sehingga dapat terlepas dari permukaan glassy carbon. Pemilihan 2-propanol dan akuademin sebagai pelarut didasarkan sifat kepolarannya. 2-propanol memiliki sifat nonpolar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan pengotor yang sifatnya non polar, sedangkan akuademin memiliki sifat polar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan pengotor yang memiliki sifat polar.

4.4. Modifikasi Elektroda *Glassy Carbon* dengan partikel emas

Modifikasi elektroda *Glassy Carbon* dengan partikel emas didasarkan fakta bahwa emas merupakan elektroda kerja yang memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap oksigen. Emas dalam bentuk nanopartikel memiliki sensitifitas lebih tinggi dibandingkan dengan bulknya karena memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga efektifitas reaksi redoks yang terjadi pada elektroda nanopartikel emas menjadi lebih tinggi dari bulknya.

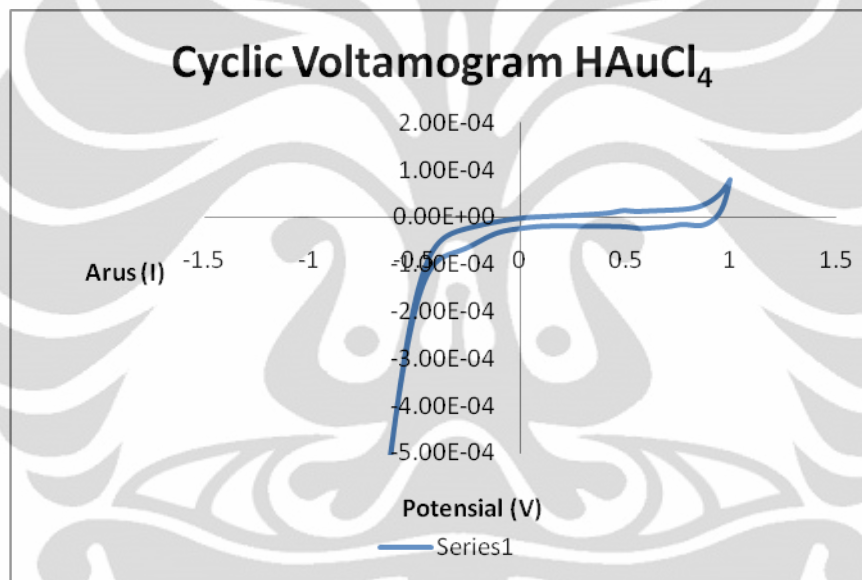
Modifikasi elektroda *glassy carbon* dengan nanopartikel emas dilakukan dengan metode elektrodposisi. Elektrodposisi dilakukan terhadap larutan emas HAuCl₄. Dalam fasa larutan HAuCl₄ membentuk kesetimbangan dengan AuCl₄⁻ (Faiza M. Aryani, 2010)



Elektrodposisi dilakukan dengan menentukan terlebih dahulu nilai potensial reduksi dari AuCl₄⁻. Potensial reduksi dari AuCl₄⁻ dapat ditentukan dengan *cyclic voltametry* larutan HAuCl₄ dengan elektroda kerja *glassy carbon*. *Cyclic voltametry* pada dasarnya merupakan metode voltametri yang digunakan untuk mengetahui secara kuantitatif reaksi elektrokimia yang terjadi dalam suatu sistem. Pada metode ini akan diamati perubahan arus dan potensial. Potensial divariasikan secara sistematis sehingga zat kimia tersebut mengalami oksidasi dan reduksi di permukaan elektroda. Arus diukur selama *scanning* (penyapuan) dari potensial awal ke potensial akhir dan kemudian kembali ke potensial awal lagi. Dengan demikian, arus katodik dan arus anodik dapat terukur. Arus katodik

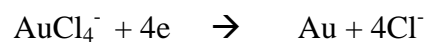
terukur pada saat scanning dari potensial yang besar ke potensial yang kecil, dan sebaliknya. Karena yang akan ditentukan adalah nilai potensial reduksi dari AuCl_4^- menjadi Au^0 . Arus yang diamati merupakan arus katodik. Potensial reduksi dari AuCl_4^- dapat ditentukan dari nilai *peak cathodic*. Peak cathodic merupakan potensial yang terjadi pada saat pembentukan peak cathodic. Dalam hal ini, dari cyclic voltamogram, potensial peak cathodic (*E_{pc}*) bisa ditentukan pada saat nilai arus reduksi paling negative sehingga menyerupai sebuah puncak (*I_{pc}*).

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapat cyclic voltamogram HAuCl_4 100 μM dalam 0,1 M HCl adalah sebagai berikut,



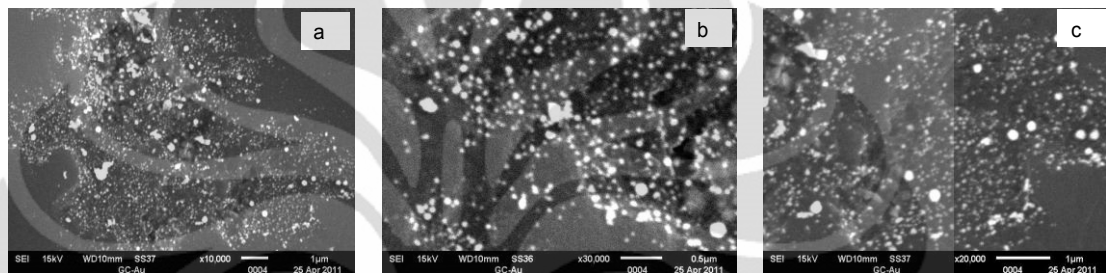
Gambar 4.3. Cyclic Voltamogram 100 μM HAuCl_4 dalam 0,1 M HCl

Dari grafik cyclic voltamogram yang dihasilkan didapat nilai dari potensial reduksi dari AuCl_4^- adalah -300 mV. Nilai potensial reduksi dari AuCl_4^- ini kemungkinan terjadi dari reaksi sebagai berikut,



Potensial reduksi yang telah berhasil ditentukan ini kemudian digunakan dalam elektrodeposisi dengan Multi Pulse Amperometry. Dalam Multy Pulse Amperometry, nilai potensial dibuat tetap. Amperogram yang dihasilkan merupakan fungsi dari waku terhadap kuat arus. Proses elektrodeposisi dilakukan selama 10 detik agar dapat menghasilkan partikel emas dengan ukuran nano.

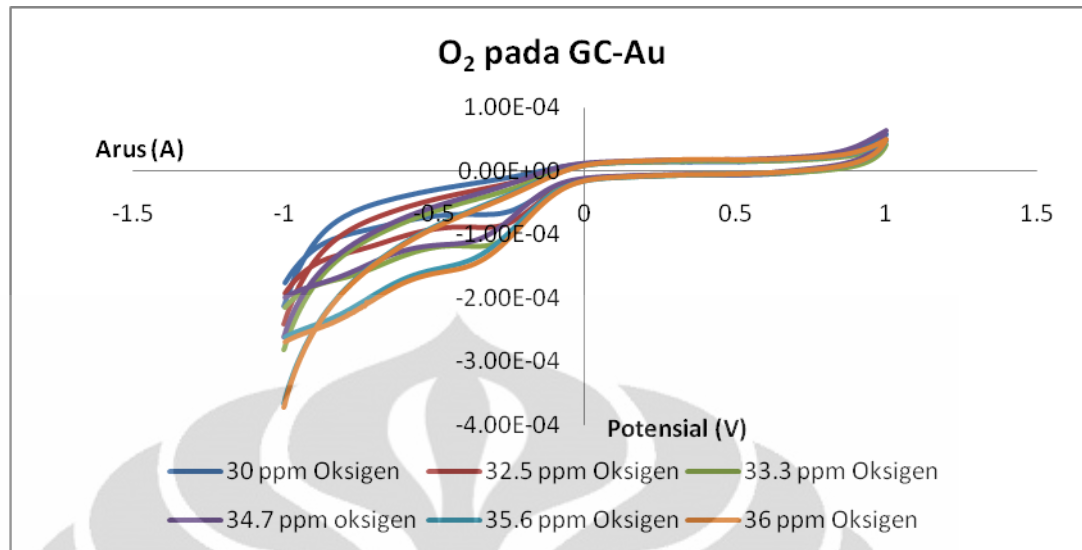
Sampel glassy carbon yang telah selesai dimodifikasi kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan SEM. Dari hasil karakterisasi dengan menggunakan SEM didapat ukuran partikel emas yang terdeposisi pada glassy carbon adalah sebesar 66 nm. Untuk selanjutnya elektroglassy carbon termodifikasi nanopartikel emas akan diaplikasikan sebagai sensor oksigen pada pengukuran BOD. Hasil karakterisasi dari elektroda glassy carbon termodifikasi partikel emas terlihat pada Gambar 4.3



Gambar 4.4. Hasil SEM terhadap elektroda glassy carbon termodifikasi nanopartikel emas pada (a) perbesaran 10.000x, (b) perbesaran 20.000x, dan (c) perbesaran 30.000x.

4.5 Penentuan Potensial Reduksi Oksigen

Elektroda glassy carbon termodifikasi nanopartikel emas yang telah dibuat kemudian diaplikasikan sebagai sensor oksigen melalui cyclic voltametry larutan oksigen dalam buffer fosfat. Potensial reduksi oksigen ditentukan melalui cyclic voltametry melalui arus katodik yang dihasilkan. Hasil dari cyclic voltamogram dari berbagai variasi konsentrasi oksigen dalam buffer fosfat pH 7 dapat dilihat pada gambar 4.4.

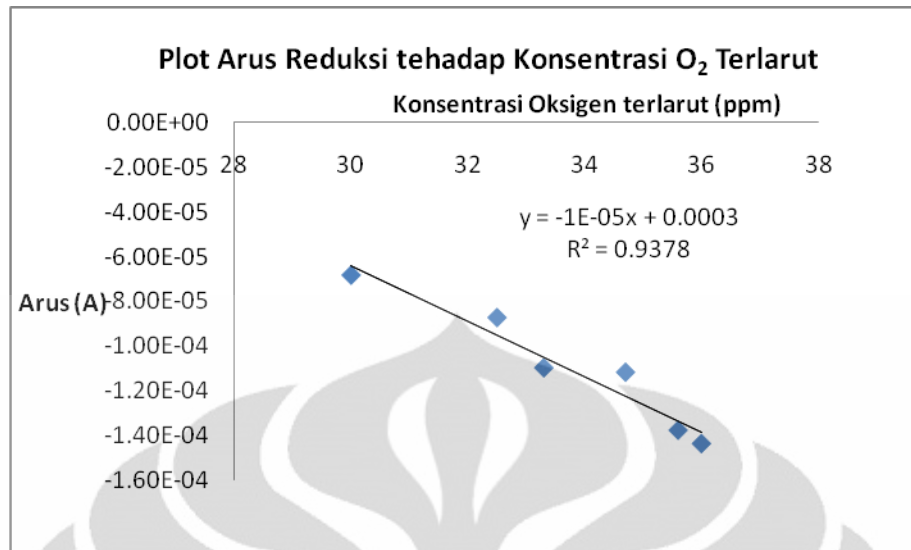


Gambar 4.5. Cyclic Voltammogram larutan oksigen dengan menggunakan elektroda *glassy carbon* termodifikasi nanopartikel emas

Dari gambar 4.3.1 didapat nilai potensial reduksi dari oksigen berada pada daerah -600mV. Hubungan antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen terlarut dapat dilihat dengan membuat plot grafik antara arus reduksi dengan konsentrasi oksigen yang terlarut. Pembuatan larutan oksigen dilakukan dengan membubling larutan buffer fosfat dalam container dengan gas oksigen setiap selang waktu 2 detik. Nilai konsentrasi oksigen setiap larutan ditentukan dengan menggunakan DO meter.

Tabel 4.1. Hubungan konsentrasi oksigen terlarut dengan arus reduksi

Waktu bubling oksigen (detik)	Konsentrasi oksigen terlarut (ppm)	Arus (A)
2	30 ppm	-6.85×10^{-5}
4	32.5 ppm	-8.75×10^{-5}
6	33.3 ppm	-1.10×10^{-4}
8	34.7 ppm	-1.12×10^{-4}
10	35.6 ppm	-1.38×10^{-4}
12	36 ppm	-1.44×10^{-4}



Gambar 4.6. Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen

Dari gambar 4.4 dan 4.5 didapat hubungan bahwa semakin besar konsentrasi oksigen terlarut, semakin turun atau negatif nilai arus reduksinya.

4.5. Imobilisasi Sel Khamir *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247

Suspensi sel yang didapat melalui proses fermentasi terlebih dahulu dipisahkan dengan medium cairnya dengan proses sentrifugasi. Kemudian dicuci dengan buffer fosfat pH 7 untuk menghilangkan sisa media cair dan mengkondisikan mikroorganismenya dengan kondisi pengukuran BOD sensor. 2 ml suspensi sel kemudian yang telah didapat kemudian dicampurkan ke dalam matriks Agarose/KCl. Pencampuran KCl dalam matriks berfungsi untuk meningkatkan *efektifitas ion exchange* (Zulfia, 2010). Matriks Agarose dibuat dengan konsentrasi 2% dalam buffer fosfat pH 7. Campuran matriks sebelumnya diipanaskan sampai mendidih agar dapat bercampur sempurna kemudian didinginkan pada suhu sekitar 36°C, dan kemudian 2 ml suspensi sel ditambahkan. Matriks Agarose/KCl yang sudah diimobilisasi dengan sel khamir tampak pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Matriks Agarose /KCl yang sudah diimmobilisasi khamir

Matriks Agarose/KCl yang telah diimmobilisasi dengan mikroorganisme *Candida Fukuyamaensis* UICCY-247 berbentuk seperti gel berwarna krem. Bentuk gel yang dimiliki campuran immobilisasi berfungsi mempermudah proses isolasi dan mencegah serangan dari mikroorganisme lain (Chen, 2002).

Sebagai sensor BOD, khamir harus mendapatkan suplai oksigen yang maksimum dari larutan, namun harus tetap dijaga agar matriks tidak terkontaminasi dengan larutan tersebut, atau dengan kata lain matriks yang digunakan harus dijaga agar tidak kontak langsung dengan larutan (Zulfia, 2010). Maka dari itu diperlukan suatu material tambahan lapisan membran yang dapat memisahkan larutan dengan matriks, namun tetap efektif melewatkan gas oksigen dari larutan ke dalam matriks. Membran yang digunakan adalah Nafion®. Membran nafion dapat melewatkan oksigen karena sifatnya yang permeabel dan efektif dalam memisahkan gas dengan larutan.

Lapisan immobilisasi pada membran Nafion® dibuat dengan menyebarkan campuran immobilisasi pada permukaan membran dengan memvariasikan volume pencampuran pada membran yang dalam penelitian ini dilakukan dalam pengukuran variasi ketebalan lapisan immobilisasi.



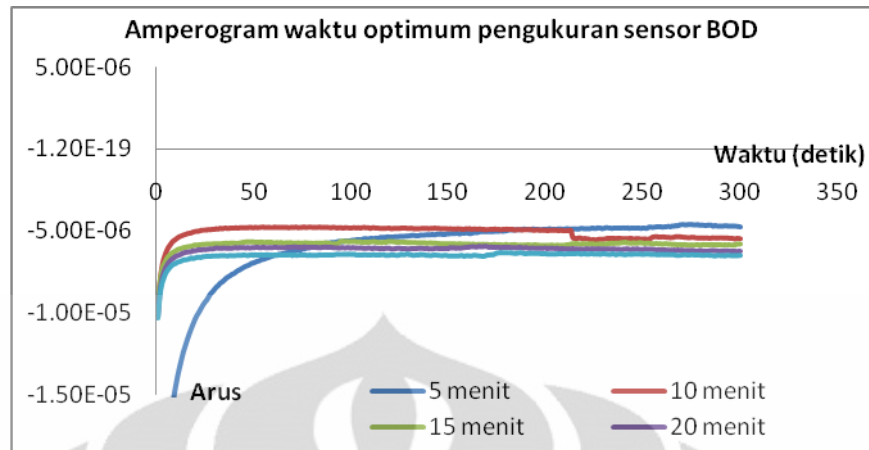
Gambar 4.8 Lapisan tipis imobilisasi pada Nafion®

4.6 Aplikasi BOD sensor

4.6.1. Penentuan waktu optimum sensor BOD

Organisme yang digunakan sebagai BOD sensor memerlukan waktu untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya (Riki, 2008). Nilai dari BOD tidak dapat secara langsung namun membutuhkan waktu untuk mengkonsumsi oksigen yang terlarut dalam sistem. Seiring berjalannya waktu konsentrasi oksigen dalam larutan akan berkurang, dan sistem elektrokimia akan mendeteksi penurunan konsentrasi oksigen yang terjadi.

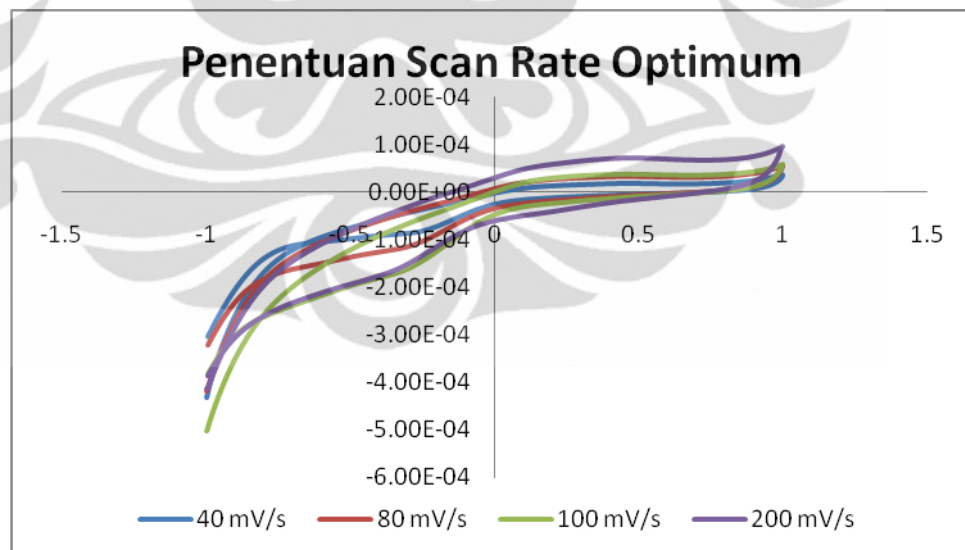
Penentuan waktu optimum sensor BOD dilakukan dengan memvariasikan waktu pengukuran dari saat sensor berjalan. Waktu divariasikan dari 0, 5, 10, dan 20 menit. Waktu 0 menit merupakan saat sel khamir belum bereaksi, sedangkan waktu 5 menit adalah waktu saat sel khamir mulai bereaksi dan beradaptasi dengan lingkungan. Begitu pula dengan waktu 10 menit dan 20 menit. Pengukuran dilakukan dengan *Multi Pulse Amperometry* pada potensial -600mV terhadap elektroda Ag/AgCl. Dari hasil amperogram penentuan waktu optimum pengukuran BOD sensor, didapat waktu optimum pengukuran BOD sensor pada waktu 20 menit. Amperogram yang dihasilkan dalam penentuan waktu optimum sensor BOD terlihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Amperogram Penentuan waktu optimum pengukuran Sensor BOD

4.6.2 Penentuan *scan rate* optimum pada sensor BOD

Penentuan reaksi oksidasi dan reduksi dilakukan melalui penentuan scan rate optimum divariasikan dengan variasi *scan rate* 20 mV/s, 40 mV/s, 80 mV/s, 100 mV/s, dan 200 mV/s. Hasil amperogram menunjukkan semakin besar *scan rate* semakin negatif nilai arus reduksi.



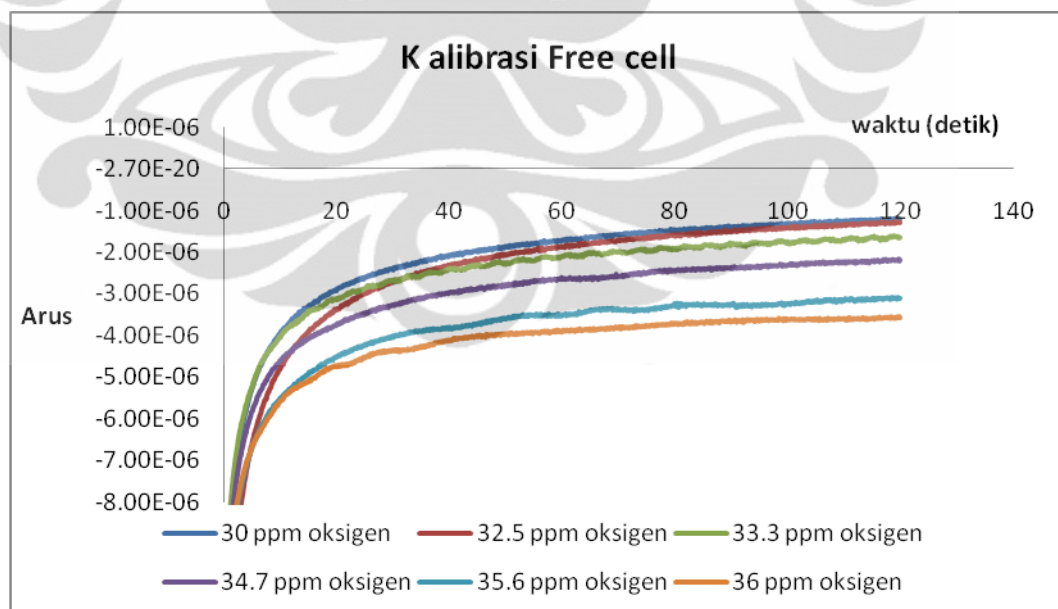
Gambar 4.10. Amperogram penentuan scan rate optimum pengukuran Sensor BOD.

Dari voltamogram yang didapat pada gambar 4.10, semakin besar nilai scan rate, akan menyebabkan nilai arus reduksi yang semakin bernilai negatif

dikarenakan proses pembacaan analit yang semakin cepat. Scan rate optimum yang terlalu cepat akan mengakibatkan proses oksidasi analit tidak sempurna, sedangkan scan rate yang terlalu lambat juga dapat menyebabkan reaksi lain di dalam matriks (Wijaya,2008). Dari hasil penelitian yang dilakukan, didapat nilai 100 mV/s sebagai scan rate yang paling baik digunakan dalam sistem.

4.6.3. Penentuan Kurva kalibrasi linear keadaan *free cell*

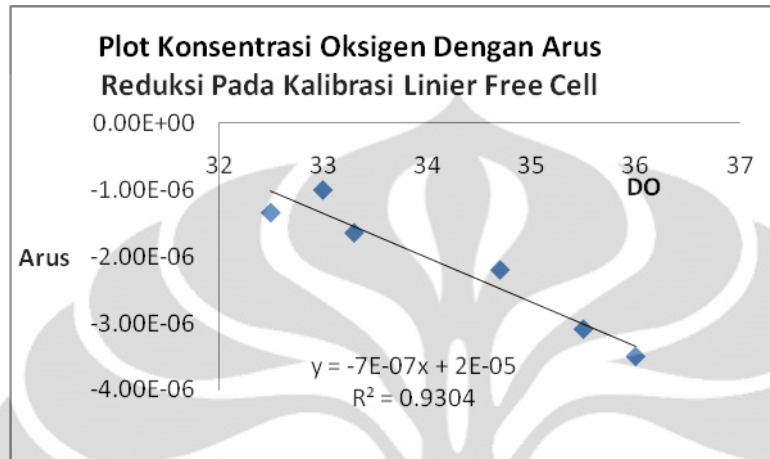
Kalibrasi linear ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi oksigen dalam larutan uji melalui bubling oksigen dengan variasi waktu bubling 2 detik., 4 detik, 6 detik, 8 detik, 10 detik, dan 12 detik dalam larutan buffer fosfat pH 7. Sebagai sumber karbon bagi mikroba, digunakan glukosa dengan konsentrasi yang dibuat tetap. Konsentrasi glukosa yang digunakan adalah 10 ppm. Pengukuran sensor pada kondisi *free cell* dilakukan dengan *Multi Pulse Amperometry* dengan potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum pengukuran 20 menit. Hasil Amperogram yang dihasilkan terlihat di Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Amperogram kalibrasi linear pada keadaan *free cell*

Dari hasil amperogram free cell didapat bahwa respon arus menunjukkan nilai arus yang semakin negatif seiring pertambahan konsentrasi oksigen dalam

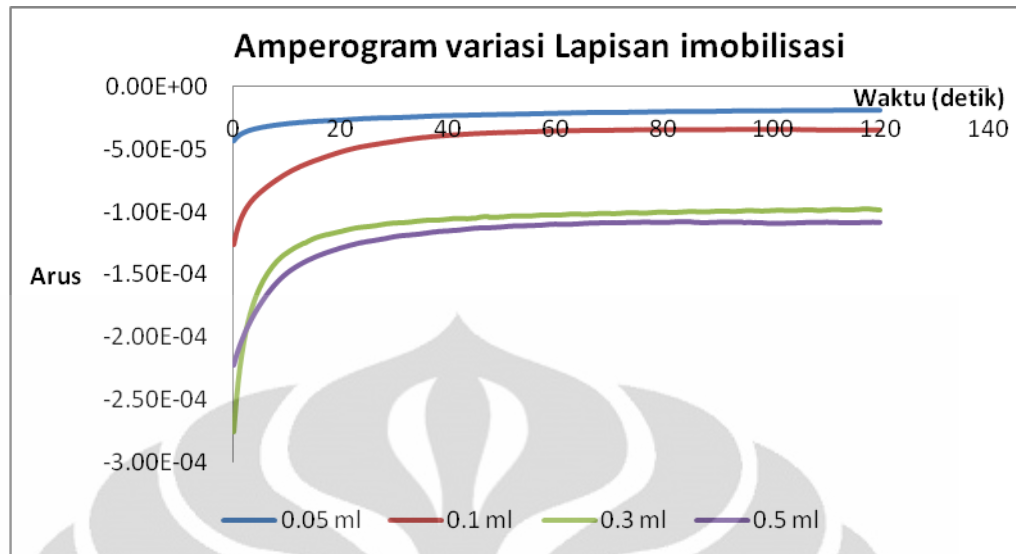
larutan. Dengan kata lain semakin banyak oksigen yang dikonsumsi oleh mikroorganisme. Plot antara arus dengan konsentrasi oksigen terlihat pada Gambar 4.12



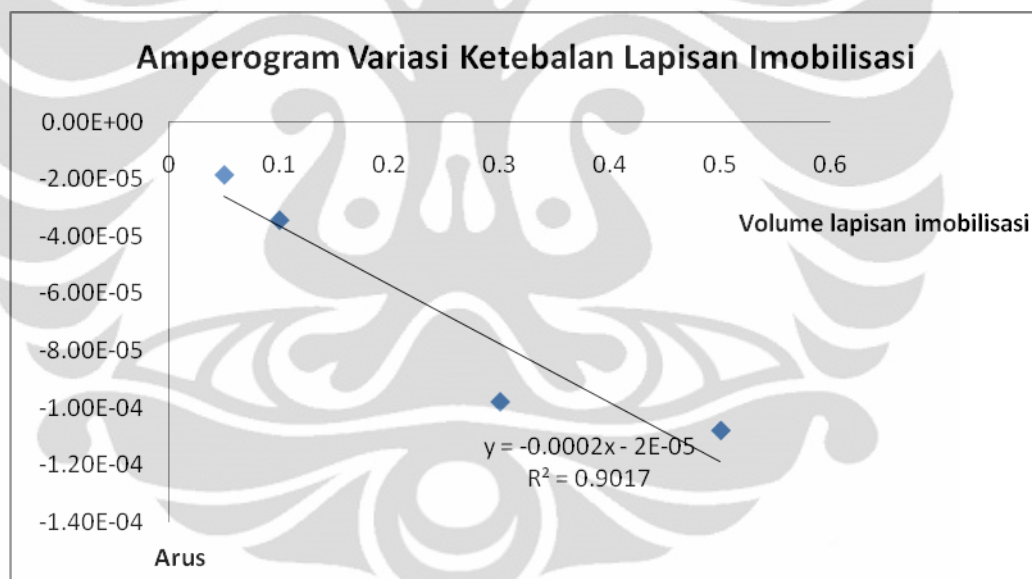
Gambar 4.12. Plot grafik antara arus reduksi dengan konsentrasi oksigen *free cell*

4.6.4. Penentuan ketebalan Optimum lapisan imobilisasi

Dalam mendesain sensor dalam keadaan terimobilisasi mikroba khamir *Candida fukuyamaensis* diperlukan optimasi terhadap ketebalan lapisan tipis imobilisasi yang telah berhasil dibuat. Ketebalan divariasikan dengan memvariasikan ketebalan lapisan imobilisasi yang 0.05 ml, 0.1 ml, 0.3 ml, dan 0.5 ml. Hasil amperogram penentuan ketebalan optimum dapat dilihat pada Gambar 4.13



Gambar 4.13 Amperogram variasi ketebalan lapisan imobilisasi pada membran Nafion®



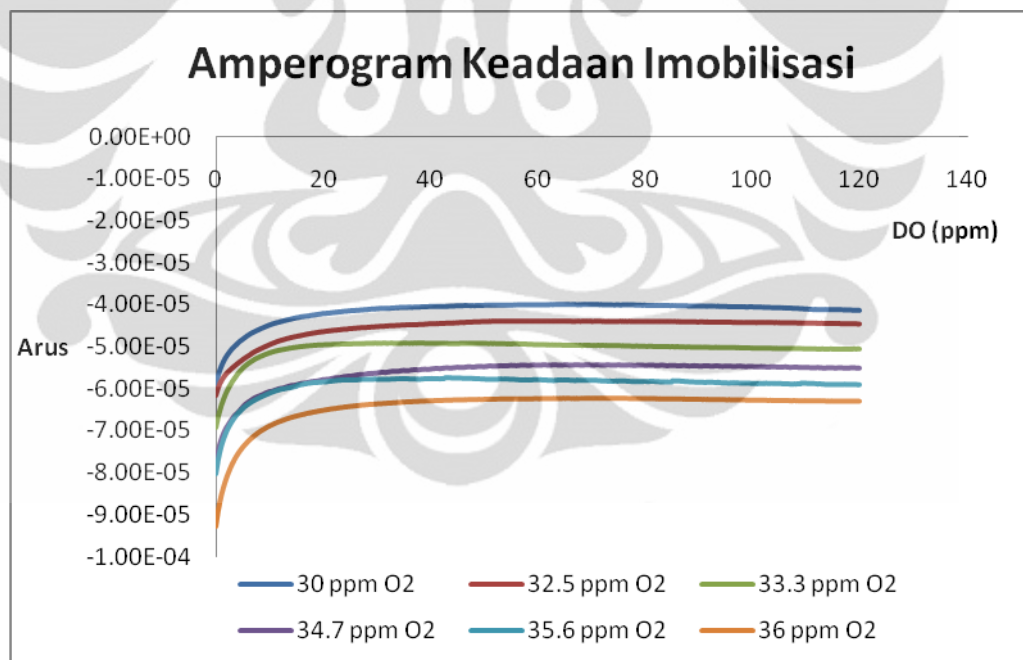
Gambar 4.14. Plot antara volume lapisan imobilisasi pada nafion dengan arus reduksi

Dari Gambar 4.13 dan Gambar 4.14 dapat terlihat efektifitas penggunaan lapisan tipis imobilisasi pada membrane nafion®. Plot antara arus reduksi terhadap volume ketebalan lapisan tipis imobilisasi menunjukkan bahwa semakin tebal lapisan tipis imobilisasi pada membrane nafion, maka akan semakin negative nilai arus reduksi oksigen yang didapat dengan nilai regresi $R^2 = 0.901$. Hal ini

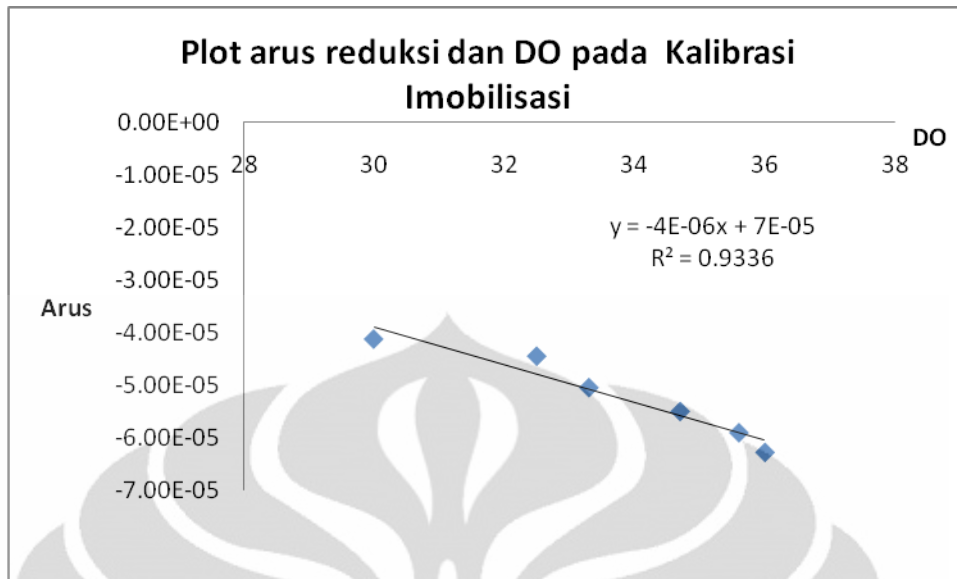
terjadi karena semakin tebal lapisan tipis imobilisasi, akan makin banyak mikroorganisme khamir yang terlibat dalam mengkonsumsi oksigen.

4.6.5 Penentuan Kurva Kalibrasi Linier pada Keadaan Terimobilisasi

Kalibrasi terhadap pengukuran sensor BOD dalam keadaan terimobilisasi dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi oksigen dalam buffer fosfat melalui proses bubling oksigen. Sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme digunakan konsentrasi glukosa 10 ppm yang dibuat tetap. Variasi bubling oksigen dilakukan dengan variasi waktu 2 detik, 4 detik, 6 detik, 8 detik, 10 detik, dan 12 detik. Nilai DO (*dissolved oxygen*) pada masing-masing larutan kemudian diukur secara terpisah dengan DO meter. Hasil amperogram pengukuran kalibrasi linear terlihat pada Gambar 4.15.



Gambar 4.15 Amperogram kalibrasi imobilisasi dengan variasi konsentrasi oksigen



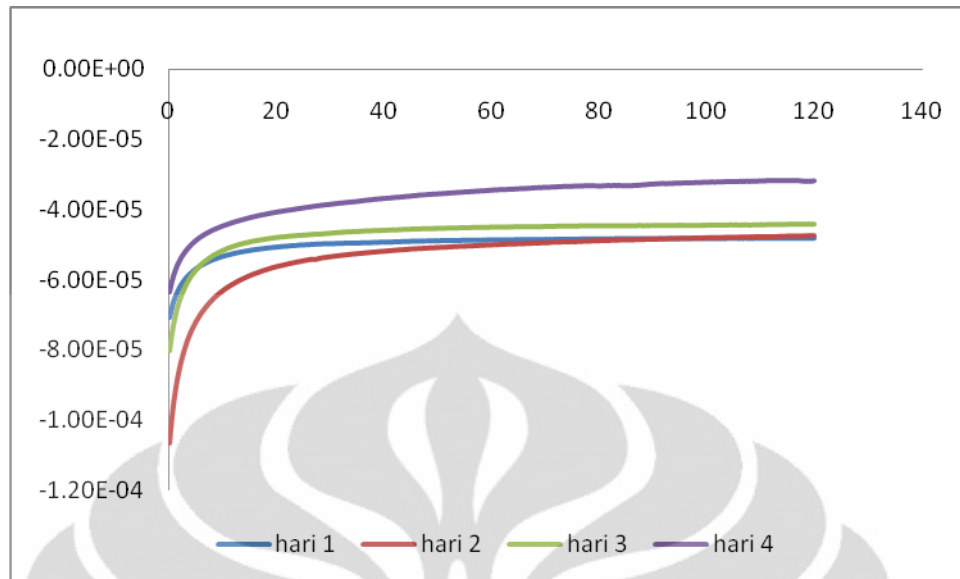
Gambar 4.16 Plot arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen keadaan terimobilisasi

Dari gambar 4.15 dan 4.16 memperlihatkan hubungan antara arus reduksi dengan konsentrasi oksigen dalam larutan. Semakin besar konsentrasi oksigen semakin negatif nilai arus reduksinya. Hal ini dikarenakan semakin banyak konsentrasi oksigen yang digunakan oleh mikroorganisme khamir. Linieritas dari sistem menunjukkan aktifitas yang cukup baik dengan nilai regresi $R^2 = 0.946$ sehingga dapat disimpulkan memiliki nilai pengukuran yang baik untuk rentang konsentrasi oksigen antara 30-36 ppm.

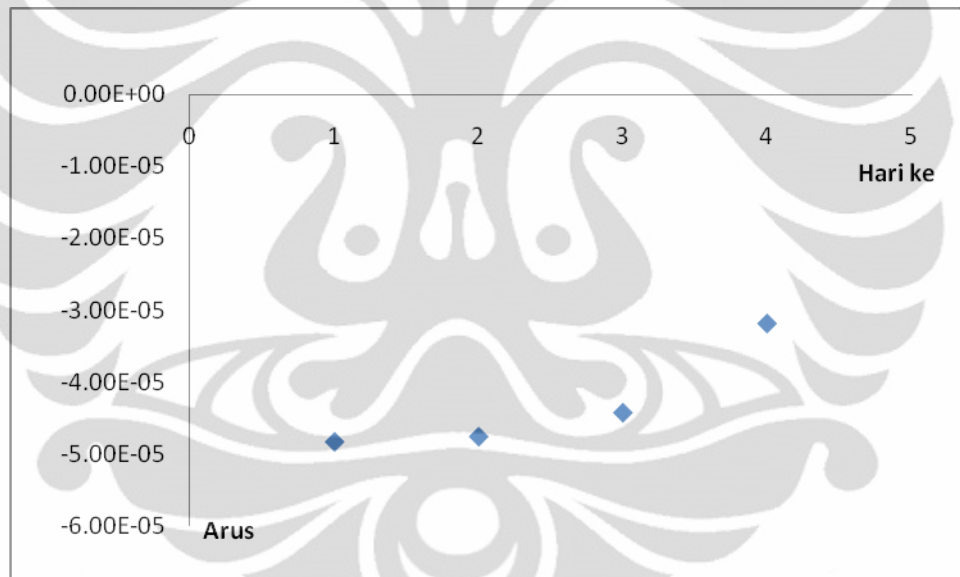
4.6.6 Kestabilan Lapisan Tipis Imobilisasi

Kestabilan lapisan tipis imobilisasi dilakukan dengan Multi Pulse Amperometry pada potensial -600 mV terhadap Ag/AgCl dalam waktu 4 hari, dimana tiap satu hari dilakukan satu kali pengukuran.

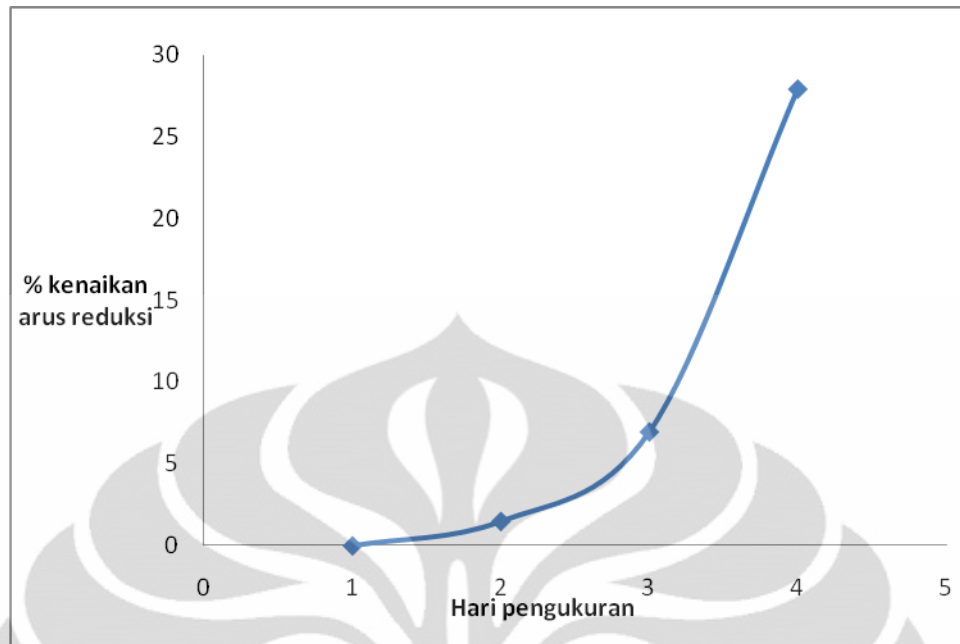
Dari hasil amperogram yang didapat terjadi kenaikan arus reduksi setiap hari pengukuran. Hal ini disebabkan jumlah mikroorganisme hidup yang semakin sedikit setiap harinya. Jumlah sel hidup yang semakin sedikit disebabkan adanya sebagian mikroorganisme khamir yang sudah mati seiring bertambahnya hari pengukuran. Amperogram kestabilan lapisan tipis dapat dilihat pada Gambar 4.15.



Gambar 4.17 Amperogram Kestabilan Lapisan Tipis Imobilisasi



Gambar 4.18 Plot respon arus kestabilan lapisan tipis imobilisasi pada larutan oksigen (12 detik /36 ppm) dalam buffer fosfat.

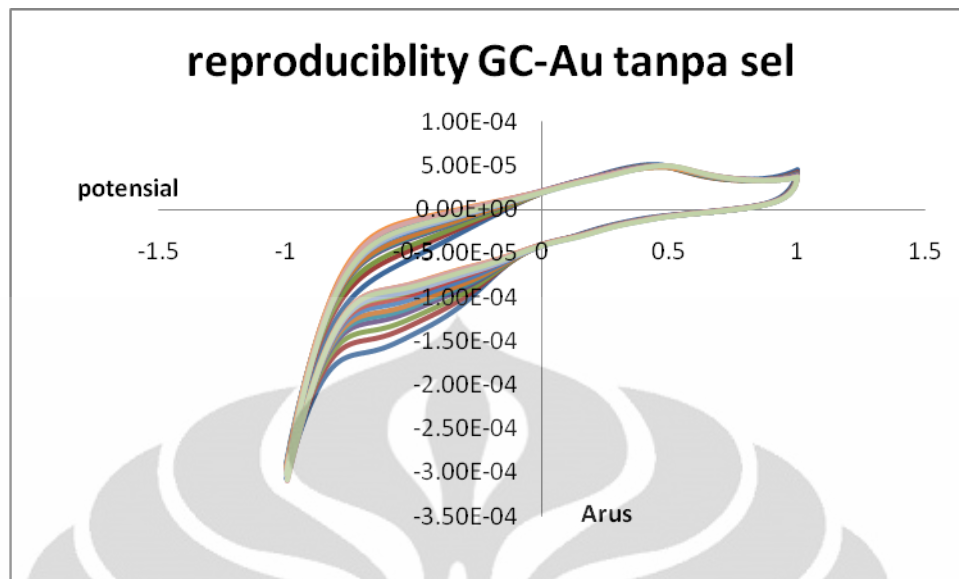


Gambar 4.19 Kurva % kenaikan arus reduksi pada larutan oksigen 12 detik (36 ppm) dalam buffer fosfat

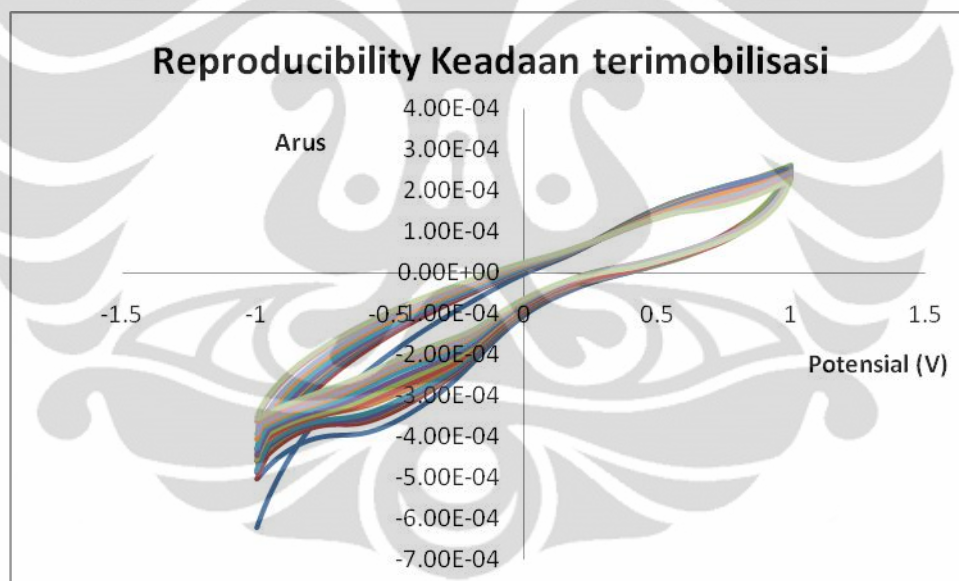
Gambar 4.16 dan Gambar 4.17 menunjukkan kestabilan lapisan imobilisasi yang semakin berkurang setiap harinya. Hal ini ditandai dengan semakin naiknya nilai arus reduksi yang dihasilkan. Selain dikarenakan semakin sedikitnya jumlah mikroorganisme yang hidup pada lapisan tipis imobilisasi, semakin naiknya arus reduksi yang dihasilkan mungkin disebabkan oleh adanya partikel emas yang mengalami oksidasi pada sistem. Persentase kenaikan arus reduksi terbesar terjadi pada hari keempat dengan nilai kenaikan arus sebesar 27.9%

4.6.7 Reproducibility Elektroda Glassy carbon terdeposisi partikel emas

Pengukuran reproducibility elektroda glassy carbon terdeposisi emas dilakukan dalam keadaan tanpa sel dan juga dalam keadaan terimobilisasi lapisan tipis mikroorganisme dengan menggunakan larutan oksigen bubling 12 detik (36 ppm) dalam buffer fosfat pH 7. Pengukuran reproducibility dilakukan dengan menggunakan teknik *cyclic voltametry* terhadap Ag/AgCl.



Gambar 4.20. Reproducibility Glassy Carbon terdposisi partikel emas tanpa kehadiran sel khamir.



Gambar 4.21. Reproducibility elektroda Glassy carbon terdposisi partikel emas pada keadaan terimobilisasi lapisan tipis mikroorganisme.

Dari perhitungan terhadap nilai RSD (Standar Deviasi Relatif) terhadap voltamogram yang dihasilkan, didapatkan nilai RSD untuk Glassy Carbon terdposisi partikel emas dalam keadaan tanpa kehadiran sel khamir bernilai 18,49%, sedangkan nilai RSD untuk glassy carbon terdposisi partikel emas dalam keadaan terimobilisasi lapisan tipis sebesar 14,65%. Dari data nilai RSD yang didapat, elektroda GC-Au dalam keadaan terimobilisasi lapisan tipis

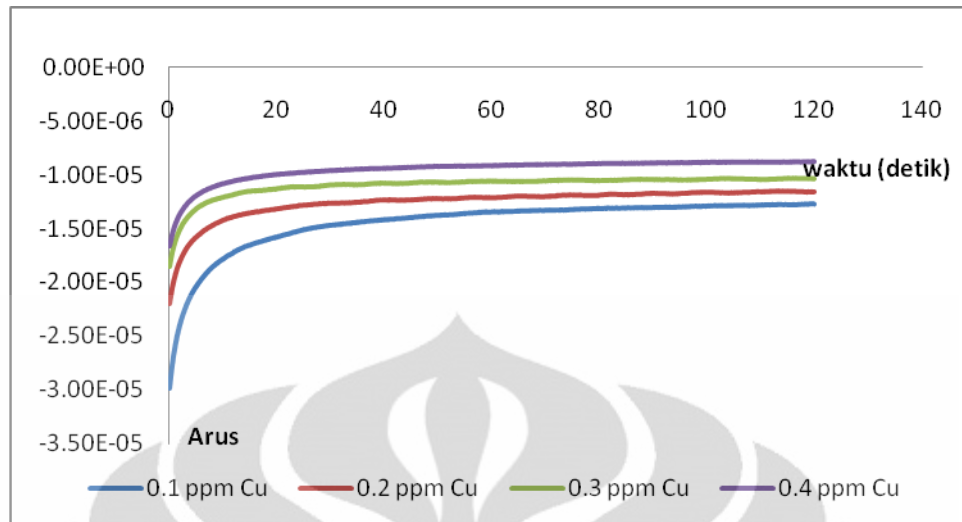
mikroorganismenya memiliki nilai RSD yang lebih baik dibandingkan GC-Au tanpa kehadiran sel khamir.

4.6.8. Limit of Detection

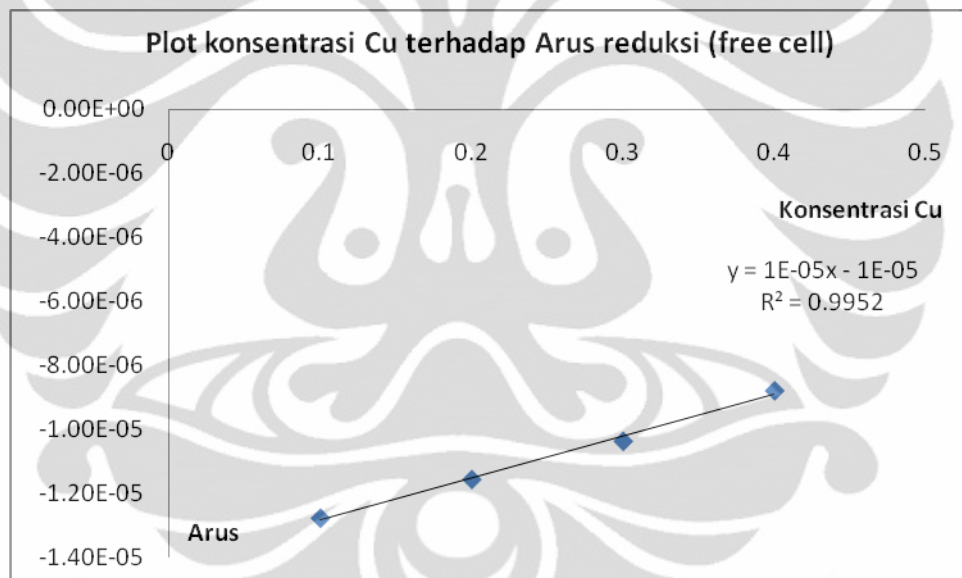
LOD atau *Limit of Detection* merupakan parameter untuk menentukan batas minimum konsentrasi oksigen yang dapat diuji pada sensor BOD. Penentuan limit of detection dilakukan dengan mengambil data pada plot kelinieran respon arus pada keadaan terimobilisasi. Untuk menentukan LOD, konsentrasi oksigen yang memberikan arus linier dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali dengan menggunakan *Multi Pulse Amperometry* (MPA) pada potensial -600mV. Arus yang memberikan respon linier kemudian dirata-ratakan. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan didapatkan nilai batas minimum deteksi BOD (oksigen) dalam larutan adalah untuk konsentrasi oksigen sebesar 4.32975 ppm.

4.6.9. Pengaruh kehadiran logam berat dalam pengukuran sel khamir

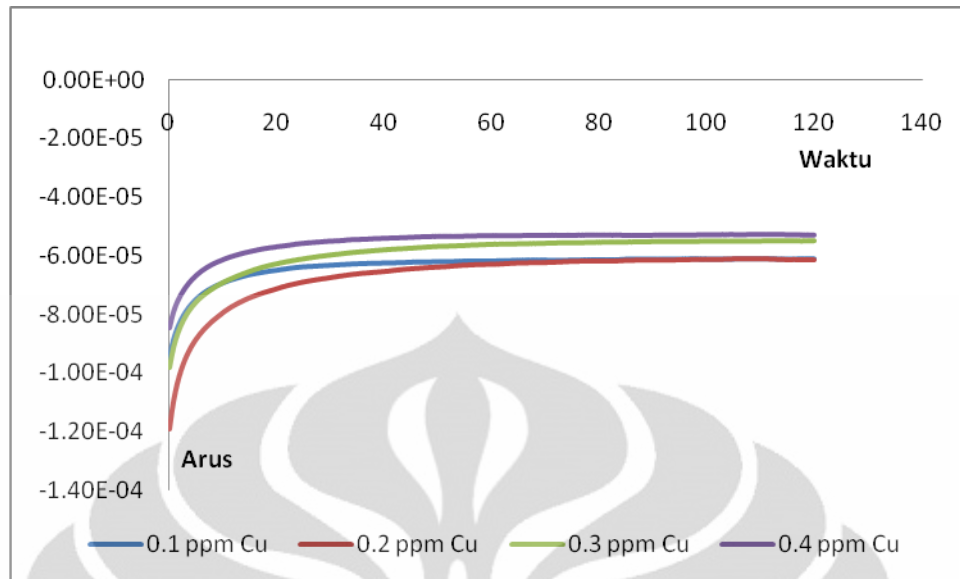
Kehadiran logam berat dalam pengukuran sel khamir dilakukan dengan menambahkan variasi logam berat ke dalam sistem pengukuran sensor dimana konsentrasi oksigen dalam larutan dibuat konstan (12 detik/ 36 ppm Oksigen). Hasil dari amperogram yang dihasilkan menunjukkan adanya kenaikan arus reduksi seiring penambahan konsentrasi dari logam berat. Hal ini dikarenakan seiring penambahan konsentrasi logam berat, jumlah oksigen yang dikonsumsi oleh mikroorganismenya akan menjadi semakin kecil dikarenakan adanya mikroorganismenya yang mati.



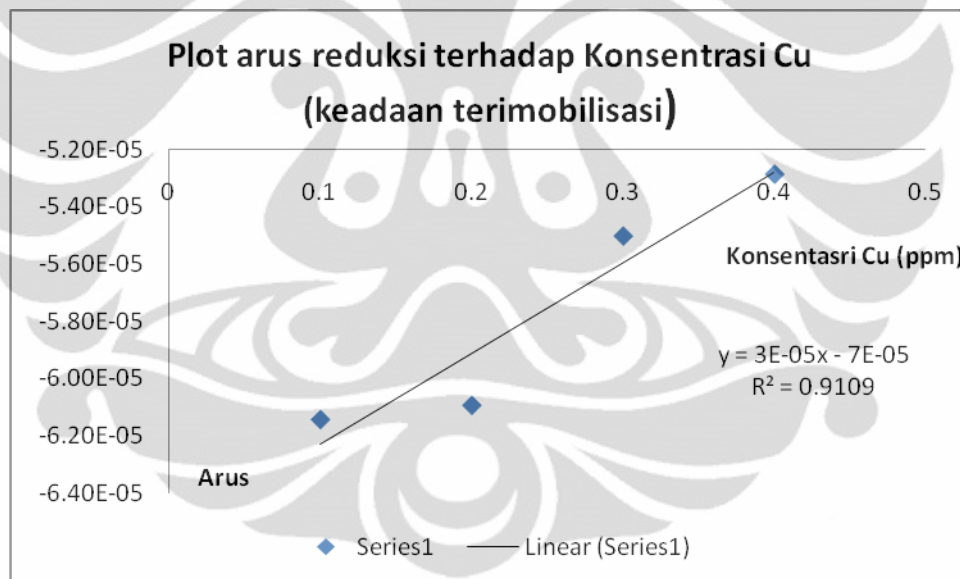
4.22 Gambar Amperogram pengaruh logam berat pada pengukuran sensor BOD dalam keadaan free cell



Gambar 4.23 Plot hubungan arus reduksi terhadap konsentrasi Cu (free cell)



Gambar 4.24 Amperogram Pengaruh Cu pada pengukuran sensor BOD (keadaan terimobilisasi).



Gambar 4.25 Plot hubungan arus reduksi dengan konsentrasi Cu (keadaan terimobilisasi)

4.6.10 Uji kesetaraan sensor BOD dengan metode pengukuran BOD konvensional

Perbandingan nilai BOD yang dihasilkan melalui metode sensor kimia dengan metode pengukuran BOD secara konvensional dilakukan dengan menggunakan 4 sampel glukosa yang memiliki konsentrasi berbeda-beda. Metode konvensional pengukuran nilai BOD₅ berdasarkan selisih nilai jumlah oksigen pada hari pertama dan hari kelima. Nilai arus yang didapat dalam metode sensor kimia dimasukkan ke dalam persamaan kalibrasi keadaan terimobilisasi sehingga akan didapat nilai konsentrasi oksigen (BOD). Dengan membandingkan kedua metode didapat nilai perbandingan antara metode sensor kimia dengan metode konvensional didapat nilai perbandingan seperti pada Tabel 4.2

Tabel 4.2. Perbandingan kesetaraan sensor BOD dengan metode konvensional

	Metode sensor kimia	Metode konvensional	% Relatif
Sampel 1	18.755 ppm	18 ppm	4.2 %
Sampel 2	27.65 ppm	28 ppm	1.25%
Sampel 3	30.2 ppm	29 ppm	4.1 %
Sampel 4	31.9 ppm	30 ppm	6.3 %

Dari Tabel 4.2 dapat dilihat nilai perbandingan pengukuran sampel dengan metode konvensional dan sensor BOD memberikan hasil yang cukup baik meski dengan metode sensor kimia terdapat penyimpangan dari nilai yang seharusnya didapat secara konvensional. Dari hasil pengukuran antara sensor BOD dengan metode konvensional ada kecenderungan nilai pengukuran sensor BOD memiliki hasil yang lebih besar dibandingkan metode konvensional kecuali pada sampel ke 2.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dalam penelitian ini berhasil dikembangkan BOD sensor terimobilisasi khamir *Candida fukuyamaensis* UICCY-247 berbasis sensor oksigen. Elektroda yang digunakan adalah elektroda glassy carbon termodifikasi partikel emas yang memberikan sensitifitas yang baik untuk mendeteksi oksigen. Hasil amperogram menunjukkan adanya konsumsi oksigen oleh mikroorganisme khamir *Candida Fukuyamaensis* yang ditandai dengan semakin negatifnya nilai arus reduksi yang terdeteksi.

Optimasi waktu pengukuran menunjukkan waktu 20 menit. Sedangkan dari pengukuran variasi ketebalan lapisan imobilisasi didapat nilai optimum ketebalan lapisan imobilisasi pada nafion 1.5cm x 2.5cm sebesar 0.5ml volume lapisan imobilisasi dengan menggunakan membran nafion. Kalibrasi pengukuran sensor dilakukan menggunakan mikroorganisme dalam keadaan *free cell* dan juga dalam keadaan terimobilisasi dengan nilai kelinieran keadaan *free cell* dan terimobilisasi pada rentang konsentrasi oksigen 30 ppm – 36 ppm. Pengukuran kalibrasi *free cell* memberikan linearitas regresi $R^2 = 0.93$. sedangkan pengukuran kalibrasi keadaan terimobilisasi memberikan linieritas regresi $R^2 = 0.933$. Kestabilan lapisan tipis yang diukur menunjukkan kenaikan arus reduksi setiap hari pengukuran yang disebabkan semakin berkurangnya jumlah efektif mikroba hidup yang mengkonsumsi oksigen.

Presisi elektroda GC-Au yang digunakan ditentukan dengan pengukuran larutan oksigen 12 detik (36 ppm) dalam keadaan tanpa sel khamir dan dengan lapisan tipis imobilisasi menggunakan cyclic voltametry sebanyak 15 kali. Hasil pengukuran menunjukkan nilai %RSD untuk keadaan tanpa sel sebesar 18,49% sedangkan nilai %RSD untuk keadaan terimobilisasi sebesar 14,65%. Penentuan limit of detection dilakukan dalam keadaan terimobilisasi, dari hasil perhitungan

Universitas Indonesia

yang dilakukan, diperoleh batas maksimum konsentrasi oksigen yang dapat diukur adalah 4.32975 ppm oksigen.

Pengaruh logam berat pada sensor melalui variasi konsentrasri spesi Cu dalam sistem menunjukkan semakin banyak konsentrasi Cu, semakin naik nilai arus reduksi yang terukur, yang menunjukkan semakin sedikit jumlah mikroorganismen yang mengkonsumsi oksigen karena sebagian sel khamir ada yang mati karena logam berat.

Hasil perbandingan kesetaraan antara metode sensor BOD dan metode BOD konvensional menunjukkan nilai kesetaraan yang cukup baik meskipun terdapat sedikit perbedaan.

5.2 Saran

Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut mengingat masih banyaknya keterbatasan pada penelitian ini. Rentang konsentrasi pengukuran oksigen yang kecil (30ppm-36ppm) merupakan salah satu kelemahan dari penelitian ini. Rentang oksigen yang kecil disebabkan oleh terbatasnya ukuran *chamber* tempat pengukuran BOD sensor sehingga perlu dikembangkan alat pengukuran yang lebih baik. Perlu juga dilakukan penelitian sensor BOD dengan menggunakan jenis mikroorganismen yang berbeda sehingga bisa diketahui mikroorganismen mana yang memiliki kemampuan lebih baik untuk dapat diaplikasikan sebagai sensor BOD.

DAFTAR PUSTAKA

<http://en.wikipedia.com> . *Biochemical Oxygen Demands*. 20 Mei 2011.

Linear sweep voltammetry/cyclic voltammetry.(n.d).20 mei 2011.

http://www.basinc.com/mans/EC_epsilon/Techniques/CycVolt/cv.html

Scanning electron microscopy. (n.d). 15 Mei 2010. www.mos.org/sln/SEM.

[http:// education.jlab.org/itselemental/ele008.html](http://education.jlab.org/itselemental/ele008.html). *The Element Oxygen*. 7 Juni 2011.

Structure of glassy carbon. (n.d). 21 mei 2011.

<http://www.sciencedaily.com/releases/2007/09/070924172959.htm>

Skoog, West. 2004. *Fundamental of Analytical Chemistry Eight Edition*.

Thomson Learning Academic Resource Center, USA.

Yulizar, Yoki. (2004). *KSK Fisik IV : Kimia Nanopartikel Logam*. Departemen Kimia. FMIPA UI.

Motohiko Hikuma. 1979. *Amperometric Estimation of BOD by Using Living Immobilized Yeasts*. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 8, 289—297

Zhenrong Qian. 1998. *BOD Measurement n The Presence of Heavy Metal Ions Using Thermally Killed Bacillus Subtilis Biosensor*. Department Chemical Engineering, National University Singapore.

Mal-Nam Kim. 1999. *Biochemical Oxygen demands Sensor Using Serratia Marcesens LSY 4*. Department of biology Samyung University. *Biosensors & Bioelectronics* 14 (1999) 1–7.

Mal-Nam Kim. 2001. *Klebsiella BOD Sensor*. Department of Biology, Sangmyung University. *Sensor and Actuator B* 80 (2001) 9-14.

Riki. 2008. *Seleksi Berbagai Spesies Khamir Untuk Menghasilkan Xilitol Menggunakan Bahan Dasar D-Xilosa*. Karya Utama Sarjana Kimia : Departemen Kimia FMIPA UI.

El Deab, Mohammed S. 2006. *Oxygen Reduction at Au Nanoparticles Electrodeposited on Different Carbon Substrates*. Departement of eelectronic Chemistry, okyo Institute of Technology. *Electrochimica Acta* 52 (2006) 1792–1798.

Wijaya, Lani. 2008. *Modifikasi Elektroda Karbon Dengan Nanopartikel Emas dan Aplikasinya Sebagai Sensor Arsen*. Karya Utama Sarjana Kimia : Departemen Kimia FMIPA UI.

Velling, Siiri. 2009. *Different Calibration Methods of a Microbial BOD Sensor for Analysis Municipal Wastewaters*. Institute of Chemistry, University of Tartu. *Sensors and Actuators B* 141 (2009) 233–238

Zulfia, Feni Triana. 2010. *Imobilisasi Lapisan Tipis Khamir Candida fukuyamaensis UICCY-247 Pada Permukaan Elektroda Glassy Carbon Termodifikasi Nanopartikel Emas dan Studi Pendahuluan Aplikasi Sensor BOD*. Karya Utama Sarjana Kimia : Departemen Kimia FMIPA UI.

Aryani, Faiza M. 2010. *Modifikasi Glassy Carbon Dengan Nanopartikel Emas Sebagai Sensor Oksigen Dan Studi Pendahuluan Untuk Pengukuran BOD*. Karya Utama Sarjana Kimia : Departemen Kimia FMIPA UI.

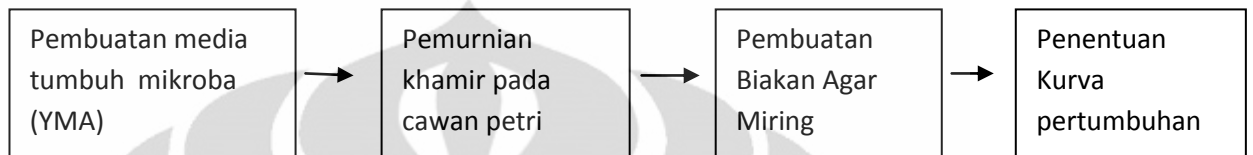
Dewangga, Netra. 2010. *Studi Pengembangan Sensor BOD Berbasis Rhodotorula Mucilaginosa UICCY-181*. Departemen Kimia FMIPA UI



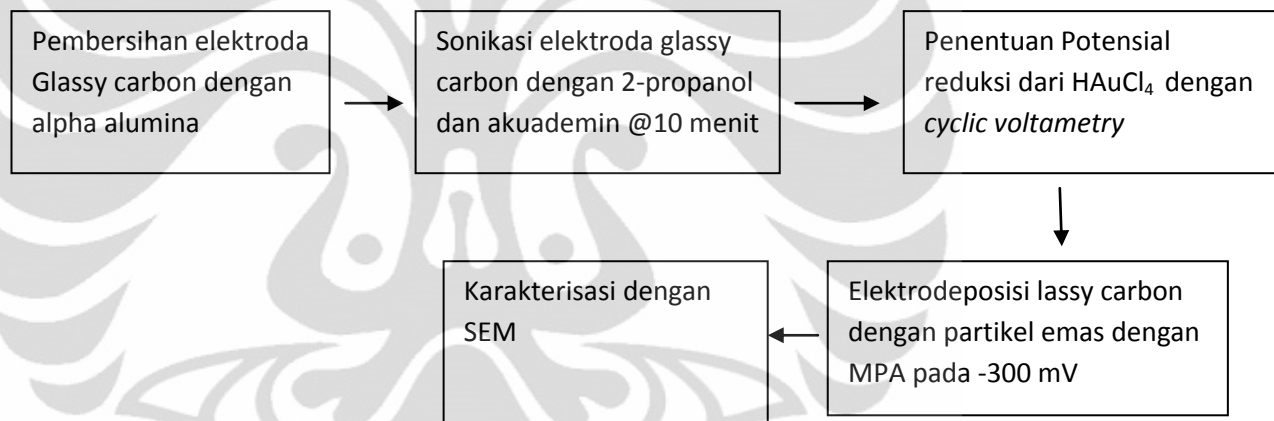
LAMPIRAN

Lampiran 1 Bagan Kerja

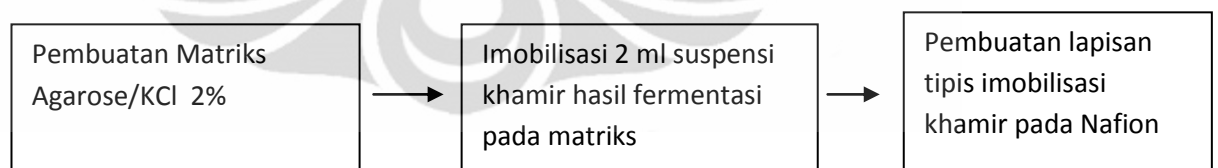
Preparasi Sel Khamir



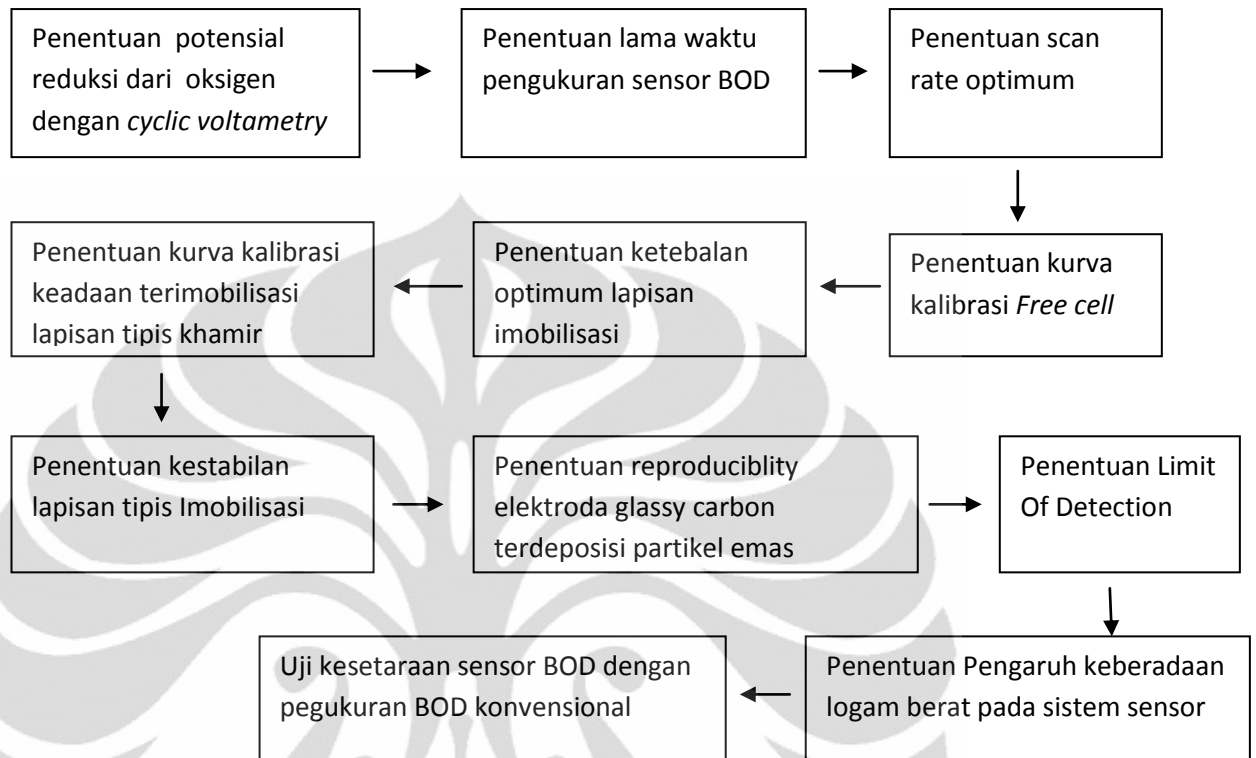
Preparasi Elektroda Glassy Carbon



Imobilisasi sel khamir



Aplikasi Sensor BOD



Lampiran 2. Data Arus Kalibrasi Linier untuk keadaan free cell

O ₂ (ppm)	Arus reduksi (A)
33	-1.00E-06
32.5	-1.34E-06
33.3	-1.64E-06
34.7	-2.20E-06
35.5	-3.09E-06
36	-3.50E-06

Lampiran 3. Data Arus penentuan ketebalan optimum lapisan imobilisasi

Volume lapisan imobilisasi (ml)	Arus reduksi (A)
0.05	-1.87E-05
0.1	-3.45E-05
0.3	-9.80E-05
0.5	-1.08E-04

Lampiran 4. Data Arus penentuan kurva kalibrasi Imobilisasi

O ₂ (ppm)	Arus reduksi (A)
30	-4.13E-05
32.5	-4.45E-05
33.3	-5.05E-05
34.7	-5.50E-05
35.6	-5.91E-05
36	-6.28E-05

Lampiran 5. Data Arus Kestabilan lapisan tipis

Hari Pengukuran	Arus reduksi (A)
1	-4.82E-05
2	-4.75E-05
3	-4.42E-05
4	-3.19E-05

Lampiran 6. Reproducibility GC-Au

Keadaan tanpa sel khamir

Pengukuran ke	Arus (A)
1	-1.56E-04
2	-1.43E-04
3	-1.34E-04
4	-1.25E-04
5	-1.20E-04
6	-1.15E-04
7	-1.09E-04
8	-1.04E-04
9	-9.96E-05
10	-9.60E-05
11	-9.32E-05
12	-9.05E-05
13	-9.79E-05
14	-9.08E-05
15	-9.37E-05

Pengukuran % RSD = (Standar deviasi / Rata-Rata) x 100%

Nilai % RSD yang didapat untuk keadaan tanpa sel khamir adalah 18,49%

Keadaan terimobilisasi lapisan tipis

Pengukuran ke	Arus reduksi (A)
1	-3.92E-04
2	-3.68E-04
3	-3.59E-04
4	-3.57E-04
5	-3.46E-04
6	-3.26E-04
7	-3.17E-04
8	-3.20E-04
9	-3.12E-04
10	-2.99E-04
11	-2.87E-04
12	-2.73E-04
13	-2.67E-04
14	-2.59E-04
15	-2.52E-04

Pengukuran % RSD = (Standar deviasi / Rata-Rata) x 100%

Nilai %RSD yang didapat untuk keadaan terimobilisasi adalah 14,65%

Lampiran 7. Limit of detection

O ₂ (ppm)	Arus 1	Arus 2	Arus 3	rata-rata arus reduksi
30	-4.13E-05	-4.23E-05	-4.39E-05	-4.25E-05
32.5	-4.45E-05	-4.60E-05	-4.89E-05	-4.65E-05
33.3	-5.05E-05	-5.19E-05	-5.42E-05	-5.22E-05
34.7	-5.50E-05	-5.62E-05	-5.82E-05	-5.65E-05
35.6	-5.91E-05	-6.18E-05	-6.22E-05	-6.10E-05
36	-6.53E-05	-6.47E-05	-6.48E-05	-6.49E-05

Plot hubungan arus dan konsentrasi yang member respon linier adalah

O ₂ (ppm)	Arus reduksi (A)
33.3	-5.22E-05
34.7	-5.65E-05
35.6	-6.10E-05

Didapat persamaan garis $y = -4.10^{-6}x + 7.10^{-5}$

$$\text{LOD} = a + 3S_o$$

$$\text{LOD} = 7.10^{-5} + 3 (5.7735.10^{-6}) = 0.000087319$$

Dengan memasukan nilai y yang didapat ke persamaan $y = -4.10^{-6}x + 7.10^{-5}$, didapat nilai LOD adalah 4.33 ppm Oksigen.

Lampiran 8. Data Arus Pengaruh Logam berat (Cu) pada pengukuran sensor

Keadaan Free cell

Cu (ppm)	arus reduksi(A)
0.1	-8.79E-06
0.2	-1.04E-05
0.3	-1.16E-05
0.4	-1.28E-05

Keadaan Terimobilisasi

Cu (ppm)	Arus Reduksi (A)
0.1	-6.14E-05
0.2	-6.09E-05
0.3	-5.50E-05
0.4	-5.28E-05

Lampiran 9. Data arus pada larutan sampel glukosa untuk uji kesetaraan

	Arus reduksi (A)
sampel 1	-5.02E-06
sampel 2	-4.06E-05
sampel 3	-5.09E-05
sampel 4	-5.76E-05