



UNIVERSITAS INDONESIA

**Pengembangan Sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181
Terimobilisasi dalam Gelatin dan Alginat Menggunakan Elektroda Emas
dan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Emas**

TESIS

HABIBAH WARDAH

1006734445

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA

DEPOK

JULI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**Pengembangan Sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181
Terimobilisasi dalam Gelatin dan Alginat Menggunakan Elektroda Emas
dan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Emas**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister

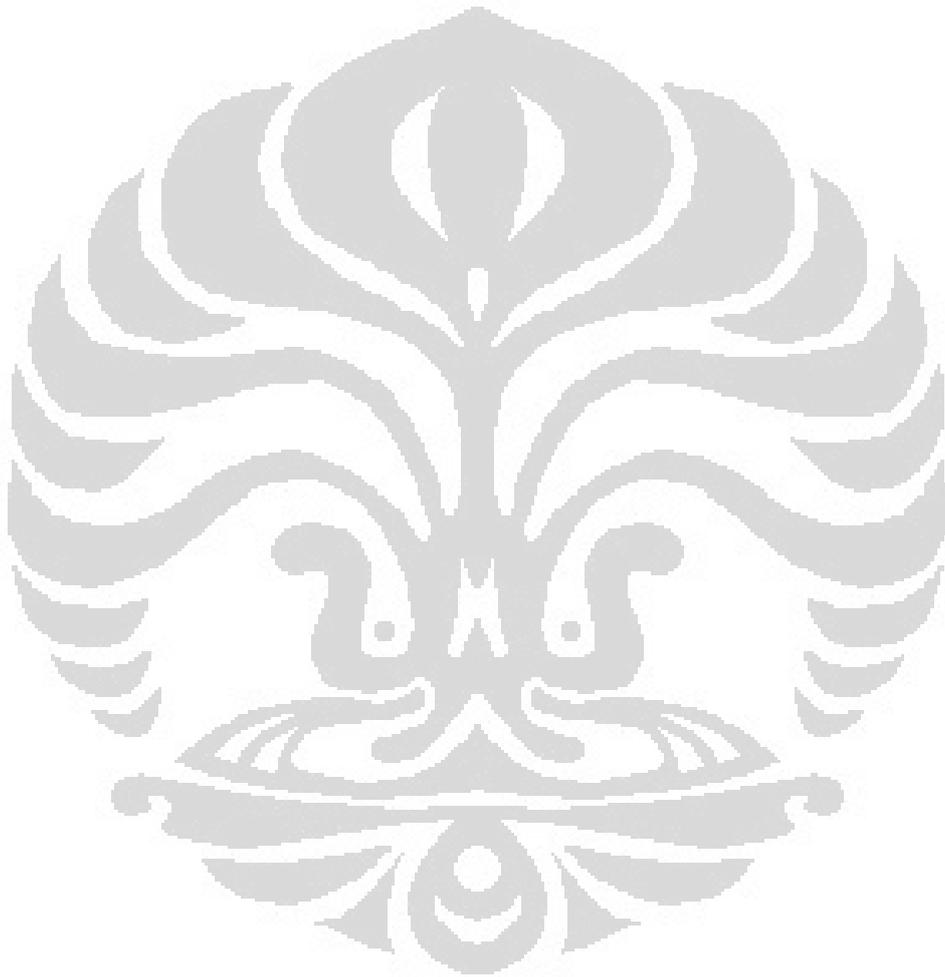
HABIBAH WARDAH

1006734445

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
DEPOK
JULI 2012**

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?”

(Q.S. Ar-Rahman:13)



Tesis ini penulis persembahkan untuk

Ibunda tercinta Isti'adah dan Ayahanda tersayang (Alm.) A. Zakasyi

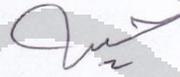
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Habibah Wardah

NPM : 1006734445

Tanda Tangan :



Tanggal : 10 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Habibah Wardah
NPM : 1006734445
Program Studi : Magister Kimia
Judul Tesis : Pengembangan Sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Gelatin dan Alginat Menggunakan Elektroda Emas dan *Boron - Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Emas

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Ivandini Tribidasari A., M.Si. (.....)

Pembimbing II : Dr. Endang Saepudin (.....)

Penguji : Dr. Yoki Yulizar (.....)

Penguji : Dr. Rahmat Wibowo (.....)

Penguji : Dr. Jarnuzi Gunlazuardi (.....)

Penguji : Prof. Dr. Endang Asijati W., M.Sc.(.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 10 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Rabbil 'alamiin, segala puji syukur penulis persembahkan kehadiran Allah SWT, Pemilik Maha Kesempurnaan dan Maha Kemuliaan. Shalawat serta salam terlimpahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, keluarga, para sahabat, serta pengikut beliau yang setia untuk memperoleh keselamatan dan kebahagiaan dunia dan akhirat.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada *My Super Mom* dan almarhum Ayahanda tercinta yang telah berkorban begitu besar bagi penulis dalam hal apapun dan telah menuntun penulis agar selalu bersyukur, pantang menyerah, dan mengabdikan kepada Allah SWT. Keempat kakakku Aa' Faishal, Teh Laila, Aa' Ali, Teh Ita, dan kakak-kakak ipar Ka Rinta, Mbak Eda, Ka Anto, dan Ka Dedi atas dukungan dan do'a. Tak lupa untuk kesepuluh keponakanku Ismah, Islah, Ismail, Faqih, Atilla, Atirah, Zidane, Zahri, Andika, dan Maul atas keceriaan yang telah diberikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang dalam kepada:

1. Ibu Dr. Ivandini Tribidasari A, M.Si. selaku Pembimbing Penelitian I dan Bapak Dr. Endang Saepudin selaku Pembimbing Akademis dan Pembimbing Penelitian II atas keikhlasan dan kesabaran dalam membimbing, memberikan saran, arahan, dan diskusi selama pelaksanaan penelitian dan penulisan tesis.
2. Bapak Dr. Ridla Bakri selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI.
3. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Departemen Kimia FMIPA UI yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
4. Profesor Yasuaki Einaga atas kesempatan yang diberikan sehingga saya dan Mita bisa melaksanakan penelitian di Universitas Keio. Namba, Watanabe, Katsura, Natsui, Yamamoto, Honda, Sugitani, Kei, Mukuda, Ishii, Ozaki, Oyama, Ikeniwa, Akahori, Pino, Steven, dan Adachi yang telah banyak membantu selama penelitian di Jepang.
5. Pak Hedi, Mbak Ina, Mbak Cucu, Mbak Ema, Mbak Tri, Babeh Sutrisno, Pak Marji, Mas Hadi, Pak Amin, Pak Kiri, Pak Soleh, Ka Puji, Rasyid, Iman, Ka Rika, dan seluruh staf Departemen Kimia.

6. Ika, Wina, Zahra, Ima, Syifa, Ana, Ratu, TJ, Uke, Dyah, Bara, Femi, dan Fitri. Kalian adalah bintang-bintang yang menemani hidupku.
7. Mita, Uci, Ica, Oci, Fani, Yona, Hero, Winda, Mbak Dilla, Mbak Dini, Ka Heri, Bu Dwi, Bu Sugi, Pak Parya, Pak Salim, Mbak Farah, Umar, Helen, Dewi, One, Asef, Cnul, Esti, Mia, Ina, Mika, Rasti, Resti, Disa, Nia, Rina, Sari, Desti, Dilla, Dian, Mery, Vina, Hadi, Pandu, Asa, Andi, Hadi, Widi, Budi, Boy, Rahmat, Bali, Qinoy, Reza, Tegar, Bu Rina, Pak Nirwan, Pak Cholid, serta semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam suka dan duka selama mengikuti program pendidikan magister dan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan, sehingga diperlukan kritik dan saran. Penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat dan dapat terus dikembangkan demi kesempurnaan hasil penelitian ini.

Penulis

2012

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

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

Nama : Habibah Wardah
NPM : 1006734445
Program Studi : Magister Kimia Hayati
Departemen : Kimia
Fakultas : MIPA
Jenis karya : Tesis

demikian 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 : Pengembangan Sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Gelatin dan Alginat Menggunakan Elektroda Emas dan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Emas

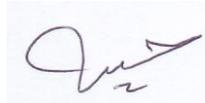
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia atau format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 10 Juli 2012

Yang menyatakan



(Habibah Wardah)

ABSTRAK

Nama :Habibah Wardah
Program Studi :Kimia
Judul :Pengembangan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Gelatin dan Alginat Menggunakan Elektroda Emas dan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Emas

Pengembangan sensor BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) dilakukan menggunakan *biosensing* khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang terimobilisasi dalam matriks gelatin dan alginat. BOD diukur sebagai jumlah oksigen yang digunakan oleh *biosensing* dalam selang waktu tertentu untuk mengoksidasi senyawa organik dalam larutan. Pada penelitian ini glukosa digunakan sebagai model senyawa organik. Kadar oksigen dalam larutan diukur menggunakan elektroda emas dan elektroda *Boron-Doped Diamond* termodifikasi nanopartikel emas sebagai elektroda kerja dengan teknik *Multi Pulse Amperometry* melalui reaksi reduksi oksigen pada -554 mV (vs Ag/AgCl). Kurva kalibrasi linear diperoleh dari perubahan arus reduksi oksigen setelah selang waktu tunggu optimum 20 menit ($\Delta I = I_0 - I_{20}$) pada larutan glukosa dalam berbagai variasi konsentrasi (0,1 – 0,9 mM) setelah larutan dijenuhkan dengan oksigen. Selain mikroorganisme terimobilisasi, mikroorganisme dalam keadaan bebas (*free cell*) juga digunakan sebagai pembanding. Regresi linier ($R^2 = 0,95 - 0,99$) dapat diperoleh pada semua sensor BOD baik dengan mikroorganisme bebas maupun terimobilisasi. Tetapi sensitivitas sensor dengan mikroorganisme bebas umumnya lebih tinggi daripada keadaan terimobilisasi, walaupun kedapatulangan yang lebih baik umumnya diperoleh pada sensor dengan mikroorganisme terimobilisasi, terutama yang terimobilisasi dalam matriks gelatin.

Kata Kunci : Sensor BOD, Oksigen, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181, *Boron-Doped Diamond*, nanopartikel emas, imobilisasi khamir

xv + 100 Hal : 55 gambar

Daftar Pustaka: 93 (1972 – 2012)

ABSTRACT

Name : Habibah Wardah
Program Study : Chemistry
Title : The Development of BOD Sensor Based on *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Immobilized in Gelatine and Alginate Matrix Using Gold and Gold Nanoparticles-Modified Boron-Doped Diamond Electrodes

The development of BOD sensor was conducted by using *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yeast immobilized in gelatine and alginate matrix as the biosensing agent. BOD was measured as oxygen amount used by the biosensing agent to oxidize organic compounds in solution. In this work, glucose was used as an organic compound model. Oxygen concentration in water was measured by using gold and gold nanoparticles-modified Boron-Doped Diamond electrodes with Multy Pulse Amperometry technique via oxygen reduction reaction at -554 mV (vs Ag/AgCl). Linear calibration curves was performed at change of oxygen reduction current after an optimum waiting time of 20 min $\Delta I (I_0 - I_{20})$ to solutions with a various glucose concentrations (0.1 – 0.9 mM) after saturated by oxygen. Beside the use of immobilized microorganism, free cell of the microorganism was also used as a comparison. The linear regression ($R^2 = 0.95 - 0.99$) could be observed at all BOD sensors with the free and the immobilized cells. However, the sensitivity of the sensors with *free cell* were generally higher than that of the immobilized ones, although better reproducibility was shown at the sensors with immobilized microorganisms, especially which were immobilized in gelatine matrix.

Key words : BOD sensors, oxygen, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181, Boron-Doped Diamond, gold nanoparticles, yeast immobilization

xv + 100 pages : 55 figures

Bibliography : 93 (1972 – 2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 LATAR BELAKANG	1
1.2 PERUMUSAN MASALAH	2
1.3 TUJUAN PENELITIAN	3
1.4 HIPOTESIS	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>BIOCHEMICAL OXYGEN DEMANDS</i> (BOD).....	4
2.2 BIOSENSOR	4
2.3 ELEKTROKIMIA.....	5
2.4 <i>CYCLIC VOLTAMMETRY</i>	7
2.5 AMPEROMETRI.....	9
2.6 FENOMENA PERMUKAAN PADA METODE ELEKTROKIMIA	10
2.7 OKSIGEN	12
2.8 <i>RHODOTORULA MUCILAGINOSA</i> UICCY-181.....	13
2.9 IMOBILISASI ELEMEN SENSOR BIOLOGI	14
2.10 NANOPARTIKEL EMAS.....	15
2.11 <i>BORON-DOPED DIAMOND</i>	16
2.12 SPEKTROFOTOMETER UV-VISIBLE.....	18
2.13 <i>SCANNING ELECTRON MICROSCOPE</i> (SEM)	20
2.14 <i>TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE</i> (TEM)	21
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 LOKASI PENELITIAN.....	23
3.2 BAHAN DAN PERALATAN	23
3.2.1 Bahan.....	23
3.2.2 Peralatan.....	23
3.3 CARA KERJA	24
3.3.1 Sintesis Koloid Nanopartikel Emas	24
3.3.1.1 Pembuatan larutan stok HAuCl ₄ 0,01 M.....	24
3.3.1.2 Pembuatan larutan natrium sitrat (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇) 0,1 M.....	24
3.3.1.3 Pembuatan larutan natrium borohidrida (NaBH ₄) 0,1 M.....	24

3.3.1.4	Pembuatan larutan koloid nanopartikel emas	24
3.3.1.5	Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan Spektrofotometer UV-Visible	25
3.3.1.6	Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan <i>Particle Size Analyzer</i>	25
3.3.1.7	Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan <i>Transmission Electron Microscopy</i>	25
3.3.2	Fabrikasi Elektroda BDD-NPAu	25
3.3.2.1	Pembersihan elektroda BDD.....	25
3.3.2.2	Aktivasi permukaan elektroda BDD	25
3.3.2.3	Modifikasi <i>elektroda</i> BDD dengan nanopartikel emas.....	26
3.3.1.4	Karakterisasi BDD-NPAu dengan <i>Scanning Electron Microscopy</i>	26
3.3.1.5	Karakterisasi BDD-NPAu dengan <i>X-ray Photoelectron Spectroscopy</i>	26
3.3.1.6	Karakterisasi BDD-NPAu secara elektrokimia.....	26
3.3.2.6.1	Perancangan sel elektrokimia.....	26
3.3.2.6.2	Persiapan larutan buffer fosfat	26
3.3.2.6.3	Penentuan potensial reduksi oksigen	27
3.3.3	Persiapan Biomassa Sel Khamir.....	27
3.3.3.1	Sterilisasi Alat.....	27
3.3.3.2	Pembuatan Medium	27
3.3.3.2.1	<i>Yeast Malt Agar (YMA)</i>	27
3.3.3.2.2	<i>Yeast Peptone Glucose Broth (YPGB)</i>	27
3.3.3.3	Penyiapan Inokulum	28
3.3.3.3.2	Pemeliharaan biakan khamir	28
3.3.3.3.3	Peremajaan biakan khamir	28
3.3.3.3.4	Penyiapan biomassa khamir.....	28
3.3.3.4	Penentuan kurva pertumbuhan khamir.....	28
3.3.3.5	Penentuan jumlah sel khamir dengan metode kamar hitung (<i>counting chamber</i>).....	29
3.3.4	Imobilisasi Khamir.....	29
3.3.4.1	Imobilisasi khamir dalam gelatin.....	29
3.3.4.2	Imobilisasi khamir dalam alginat.....	29
3.3.5	Aplikasi Sensor BOD.....	29
3.3.5.1	Penentuan waktu optimum pengukuran BOD.....	30
3.3.5.2	Pengukuran plot grafik untuk khamir keadaan <i>free cell</i>	30
3.3.5.3	Pengukuran plot grafik untuk khamir keadaan terimobilisasi.....	30
3.3.5.4	Pengukuran reproduibilitas.....	31
3.3.5.5	Pengujian Kesetaraan Pengukuran Metode BOD Konvensional dengan Sensor Kimia	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		32
4.1	FABRIKASI ELEKTRODA.....	32
4.1.1	Sintesis Koloid Nanopartikel Emas	32
4.1.2	Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan Spektrofotometer UV- <i>Visible</i>	34
4.1.2	Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan <i>Transmission Electron Microscopy</i>	36

4.1.3 Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan <i>Particle Size Analyze</i>	37
4.2 FABRIKASI ELEKTRODA BDD-NPAu.....	37
4.2.1 Pembersihan Elektroda BDD.....	37
4.2.2 Aktivasi Permukaan Elektroda BDD.....	38
4.2.3 Modifikasi Elektroda BDD dengan Nanopartikel Emas.....	38
4.2.4 Karakterisasi BDD-NPAu dengan <i>Scanning Electron Microscopy</i> ...	39
4.2.5 Karakterisasi BDD-NPAu dengan <i>X-ray Photoelectron Spectroscopy</i> .	40
4.2.6 Karakterisasi Elektroda BDD-NPAu secara Elektrokimia.....	45
4.2.6.1 Penentuan Potensial Reduksi Oksigen.....	46
4.4 PREPARASI SEL KHAMIR.....	49
4.4.1 Penentuan Kurva Pertumbuhan Khamir.....	49
4.4.2 Pemilihan Media Pertumbuhan Khamir.....	49
4.4.3 Penentuan jumlah sel khamir yang digunakan dengan metode kamar hitung (<i>counting chamber</i>).....	50
4.5 APLIKASI SENSOR BOD.....	51
4.5.1 Penentuan Waktu Optimum Sensor BOD.....	51
4.5.2 Penentuan Plot Grafik Khamir pada Keadaan <i>Free Cell</i>	52
4.5.3 Imobilisasi Sel <i>Rhodotorula Mucilaginosa</i> UICCY-181.....	65
4.5.4 Reprodusibilitas.....	64
4.5.5 Pengujian Kesetaraan Pengukuran Metode BOD Konvensional dengan Sensor BOD.....	72
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	74
5.1 KESIMPULAN.....	74
5.2 SARAN.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76
DAFTAR LAMPIRAN.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Ilustrasi Kerja dari Biosensor Kimia	5
Gambar 2.2	Voltamogram	8
Gambar 2.3	Lapis Rangkap Listrik pada Permukaan Elektroda	11
Gambar 2.4	Kurva Kelarutan Oksigen dan Temperatur.....	13
Gambar 2.5	Sel Khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	14
Gambar 2.6	Skema Pembuatan Elektroda <i>Boron-Doped Diamond</i>	17
Gambar 2.7	<i>Potensial Window</i> Berbagai Elektroda.....	18
Gambar 2.8	Gambar Spektrum UV-Vis	19
Gambar 2.9	Instrumen SEM.....	21
Gambar 2.10	Instrumen TEM	22
Gambar 4.1	Ilustrasi Stabilitas Nanopartikel	33
Gambar 4.2	Sintesis Koloid Nanopartikel Emas.....	33
Gambar 4.3	Ilustrasi Interaksi Nanopartikel Au dengan Ion Sitrat.....	34
Gambar 4.4	Kurva Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Koloid.	35
Gambar 4.5	Hasil Foto TEM Nanopartikel Emas	36
Gambar 4.6	Hasil Foto SEM Pembesaran 3500x dan 5000x, 10 kV	40
Gambar 4.7	Data Hasil XPS.....	41
Gambar 4.8	Data Hasil XPS Spektrum C 1s.....	42
Gambar 4.9	Data Hasil XPS Spektrum O 1s.....	42
Gambar 4.10	Data Hasil XPS Spektrum N 1s.....	43
Gambar 4.11	Data Hasil XPS Spektrum Au 4f7/2 dan Au 4f5/2.....	43
Gambar 4.12	Data Hasil XPS: BDD Sebelum & Sesudah Direndam Allilamin44	
Gambar 4.13	Data Hasil XPS: BDD Sebelum & Sesudah Direndam Koloid Nanopartikel Emas	45
Gambar 4.14	Voltamogram Larutan Oksigen (Elektroda BDD-NPAu)	46
Gambar 4.15	Voltamogram Larutan Oksigen (Au).....	47
Gambar 4.16	Plot Grafik antara Variasi Konsentrasi Oksigen terhadap Arus pada Au dan BDD-NPAu	48
Gambar 4.17	Kurva Pertumbuhan <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICCY-181	49
Gambar 4.18	(a) Biomassa <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> pada medium YMB	
	(b) Biomassa <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> pada medium YPGB	50

Gambar 4.19	Amperogram Penentuan Waktu Optimum Pengukuran Sensor BOD.....	52
Gambar 4.20	Amperogram ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan Bebas (BDD-NPAu).....	54
Gambar 4.21	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i> (Au).....	55
Gambar 4.22	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i> (BDD-NPAu)....	55
Gambar 4.23	Struktur Gelatin.....	56
Gambar 4.24	Skema Representasi dari Model " <i>egg-box</i> " dari Gel Alginat.....	57
Gambar 4.25	Imobilisasi Sel <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> dalam Gelatin dan Alginat.....	56
Gambar 4.26	Unit Struktur Nafion®.....	56
Gambar 4.27	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> terimobilisasi Gelatin (Au).....	59
Gambar 4.28	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)	59
Gambar 4.29	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> terimobilisasi Alginat (Au).....	60
Gambar 4.30	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu).	60
Gambar 4.31	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i>	63
Gambar 4.32	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Gelatin.....	63
Gambar 4.33	Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Alginat.....	64
Gambar 4.34	Reproduksibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i> (Au)	65
Gambar 4.35	Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i> (Au).....	65
Gambar 4.36	Reproduksibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan <i>Free Cell</i> (BDD-NPAu).....	66

Gambar 4.37 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Keadaan Keadaan <i>Free Cell</i> (BDD-PAu).....	66
Gambar 4.38 Reprodusibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Gelatin (Au)	67
Gambar 4.39 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Gelatin (Au)	67
Gambar 4.40 Reprodusibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)	68
Gambar 4.41 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)	68
Gambar 4.42 Reprodusibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Alginat (Au)	69
Gambar 4.43 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Alginat (Au)	69
Gambar 4.44 Reprodusibilitas pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu)	70
Gambar 4.45 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu)	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Bagan Kerja.....	84
Lampiran 2	Rancangan Sensor BOD.....	87
Lampiran 3	Data Waktu Pertumbuhan <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-181.....	88
Lampiran 4	Data Plot Grafik antara Konsentrasi Oksigen dan Arus.....	89
Lampiran 5	Data Plot Grafik antar Variasi Kadar Glukosa dan ΔI (I_0 - I_{20})	90
Lampiran 6	Data Arus Reduksi pada Penentuan Reprodusibilitas.....	92
Lampiran 7	Data <i>Particle Size Analyzer</i> PSA.....	95
Lampiran 8	Pengujian Kesetaraan Pengukuran Metode BOD Konvensional dengan Sensor Kimia.....	96
Lampiran 9	Peraturan Pemerintah No.82 thn 2001.....	99
Lampiran 10	Peraturan Gubernur Provinsi DKI Jakarta No. 122 thn 2005.	100

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Air merupakan sumber daya alam sekaligus kebutuhan pokok untuk makhluk hidup. Air bersih yang bebas dari berbagai kontaminan polutan – polutan organik dan logam – logam berat menjadi suatu kebutuhan yang sangat penting. Oleh karena itu keberadaan dan pemanfaatannya perlu diawasi secara intensif dan terus – menerus agar kualitasnya tetap terjaga dan tidak membahayakan bagi kesehatan.

Biochemical Oxygen Demand (BOD) merupakan parameter yang penting untuk pemantauan kualitas air. Parameter ini didasarkan pada jumlah oksigen yang dikonsumsi oleh mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa organik dalam air. Semakin banyak polutan organik, semakin banyak oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk mendegradasi polutan organik. Pengukuran BOD dengan metode konvensional membutuhkan waktu sekitar 5 hari untuk pertumbuhan optimum mikroorganisme dalam air (APHA, 1986). Metode alternatif yang lebih praktis, cepat, dan mudah sangat dibutuhkan.

Penelitian tentang biosensor BOD telah mengalami perkembangan yang pesat pada lima dekade ini. Sensor BOD pertama kali diperkenalkan oleh Karube, *et al.* (1977) menggunakan elektroda mikrobial dari bakteri yang diimobilisasi dalam membran kolagen dengan menggunakan larutan standar glukosa – asam glutamat. Hikuma *et. al.* (1979) mengembangkan teknik imobilisasi khamir pada biosensor dan berhasil menjaga konsistensi penggunaan biosensor selama 17 hari untuk 400 kali pengukuran. Metode biosensor Wang *et. al.* (2000) mempercepat proses pengukuran BOD yang awalnya membutuhkan waktu 5 hari, dapat disingkat menjadi 30 menit dengan menggunakan elektroda kerja yang sensitif untuk mendeteksi oksigen seperti platina, emas, dan perak.

Penggunaan materi yang memiliki dimensi nanometer telah banyak digunakan dalam pengembangan elektroda (Al-Nakib, 2007). Emas merupakan elektroda yang sensitif untuk pengukuran oksigen. Namun, *bulk* emas memiliki beberapa keterbatasan, seperti arus *background* yang tinggi dan mudah berubah menjadi tidak aktif (Ru-hai, 2007). Dari penelitian sebelumnya telah dilaporkan

bahwa emas dapat dibuat menjadi dimensi nanopartikel dan dapat dibuat monolayer di atas permukaan elektroda lain seperti *glassy carbon* (Wijaya, 2008).

Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian terdahulu yang menggunakan khamir lokal sebagai biosensing dalam pengukuran BOD. Spesies khamir dipilih karena selain sifat khamir yang tidak pathogen, tidak membutuhkan perlakuan khusus untuk tumbuh, memiliki kestabilan tinggi terhadap lingkungan, dan mudah dikembangbiakan (Mumtahinah, 2007). Zulfia (2009) dan Nathanael (2011) telah melaporkan pengembangan biosensor BOD dari jenis khamir anaerob fakultatif *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 pada elektroda *glassy carbon* yang termodifikasi nanopartikel emas. Dewangga (2010) menggunakan khamir aerob obligat *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 pada elektroda emas. Harmesa (2012) melaporkan adanya pengaruh ion Cu^{2+} pada pengukuran biosensor BOD pada *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 pada elektroda emas.

Dalam penelitian ini *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang diimmobilisasikan dalam matriks gelatin dan alginat digunakan sebagai *biosensing* pada biosensor BOD. Sedangkan *Boron-Doped Diamond* termodifikasi dengan nanopartikel emas (BDD-NPAu) digunakan sebagai pemberi signal. *Boron-Doped Diamond* (BDD) dipilih sebagai media elektroda untuk modifikasi emas karena memiliki sifat – sifat unggul dibanding elektroda emas (Au), seperti arus *background* yang rendah, daerah potensial kerja yang luas, serta stabil secara fisika dan kimia. Kelemahan BDD adalah memiliki sensitivitas yang rendah terhadap oksigen. Oleh karena itu BDD dimodifikasi dengan nanopartikel emas dan diharapkan juga mampu memperkecil arus blanko sehingga memiliki batas deteksi yang lebih baik daripada dengan elektroda emas.

1.2 PERUMUSAN MASALAH

1. Apakah elektroda BDD-NPAu memiliki sensitivitas yang lebih baik pada pengukuran oksigen terlarut daripada elektroda Au?
2. Apakah BDD-NPAu dapat digunakan sebagai biosensor BOD dengan sensitivitas yang lebih baik daripada elektroda Au?

3. Apakah imobilisasi sel *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam gelatin dan alginat sebagai modifikasi *transducer* dapat meningkatkan sensitivitas dan kedapatulangan biosensor BOD?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan meneliti lebih lanjut dari modifikasi *biosensing* pada biosensor BOD dengan mengimobilisasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam gelatin dan alginat dan pengukurannya menggunakan elektroda kerja Au dan BDD-NPAu.

1.4 HIPOTESIS

1. BDD-NPAu memiliki sensitivitas yang lebih baik sebagai elektroda kerja pada sensor oksigen dibandingkan dengan elektroda Au.
2. BDD-NPAu dapat digunakan dalam biosensor BOD dengan sensitivitas yang lebih baik daripada elektroda Au.
3. Imobilisasi sel *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam gelatin dan alginat menghasilkan sensitivitas dan kedapatulangan yang lebih baik pada biosensor BOD dibandingkan dengan sel bebas *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 BIOCHEMICAL OXYGEN DEMANDS

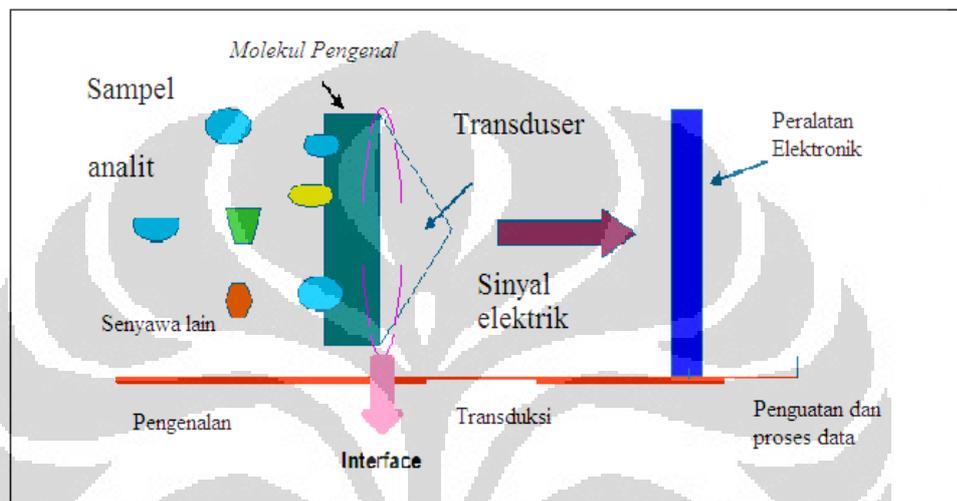
Biochemical Oxygen Demands (BOD) adalah suatu analisis empiris yang mencoba mendekati secara global proses mikrobiologis yang benar – benar terjadi di dalam air. Angka BOD merupakan suatu ukuran jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk menguraikan (mengoksidasi) zat organik yang terlarut dan sebagian zat organik yang tersuspensi di dalam air. Pengukuran BOD sangat penting sebagai parameter kualitas air, karena secara tidak langsung menunjukkan beban pencemaran. Metode penentuan BOD biasanya dilakukan dengan metode konvensional. Metode BOD 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 (APHA, 1986).

2.2 BIOSENSOR

Biosensor merupakan suatu alat deteksi yang terdiri dari *transducer* dan elemen sensor biologi (Eggins, 1996). Biosensor menghasilkan suatu sinyal elektrik yang proporsional terhadap konsentrasi analit. *Transducer* mengubah sinyal biokimia yang dihasilkan oleh elemen sensor biologi menjadi suatu respon elektrik yang dapat diukur seperti arus listrik, potensial, dan absorbansi sehingga dapat dijelaskan untuk analisis (Yu Lei, 2006). Elemen sensor biologi berperan sebagai komponen utama pengenalan analit yang selektif pada biosensor (D'Souza, 2001).

Manfaat penggunaan material biologi sebagai elemen sensor yaitu aktivitasnya yang bersifat spesifik (Belkin, 2003), ramah lingkungan, dan ekonomis (Gupta, 2000). Enzim banyak digunakan dalam pembuatan biosensor karena aktivitasnya yang spesifik dan sensitivitasnya baik terhadap analit. Namun, penggunaan enzim juga memiliki kelemahan yaitu tidak stabil dan pemurniannya

terhitung mahal (Akyilmaz & Dinckaya, 2005). Salah satu materi biologi lainnya yang dapat digunakan sebagai elemen sensor biologi adalah sel khamir. Khamir dapat digunakan sebagai elemen sensor biologi karena mudah ditumbuhkan dan dapat digunakan pada beberapa jenis *transducer* (Baronian, 2004). Sel khamir memiliki keunggulan dibandingkan mikroorganisme lain karena memiliki dinding sel yang kuat dan mampu bertahan pada kondisi fisika – kimia dalam kisaran yang luas (Walmsley & Keenan, 2000).



Gambar 2.1 Ilustrasi Kerja dari Biosensor Kimia [Wibowo, 2004]

Fungsi suatu biosensor dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu selektivitas, kisaran sensitivitas, tingkat keakuratan, kondisi larutan (pH, suhu dan kekuatan ion), serta waktu (waktu respon dan stabilitas penyimpanan untuk jangka waktu tertentu) (Eggins, 1996). Biosensor khamir dapat mencapai masa penggunaan 1 tahun jika disimpan pada suhu 4 °C (Preininger, 1994).

Tuntutan praktis dalam membuat suatu biosensor kimia adalah spesifik terhadap analit tertentu, mudah dioperasikan, tanpa preparasi sampel, memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi, limit deteksi yang sangat kecil, reproduktibilitas tinggi, harga pembuatan dan analisisnya relatif murah, serta mudah dibawa (Hierlemann, 2008).

2.3 ELEKTROKIMIA

Elektrokimia adalah ilmu yang mempelajari aspek elektronik dari reaksi – reaksi kimia yang diinisiasi atau yang menghasilkan energi listrik (Hierlemann,

2008). Dalam metode elektrokimia, reaksi kimia yang terjadi adalah transfer elektron antara permukaan elektroda dengan molekul di dalam larutan yang berpartisipasi dalam reaksi reduksi dan oksidasi.

Pada umumnya suatu sel elektrokimia terdiri dari tiga jenis elektroda yaitu elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pembanding (*reference electrode*), dan elektroda pendukung (*counter electrode*).

Elektroda kerja adalah elektroda tempat mengamati terjadinya reaksi elektrokimia (daerah pengukuran elektrokimia), seperti arus yang dihasilkan dan fenomena yang terjadi di permukaannya. Elektroda kerja yang ideal adalah elektroda yang mempunyai permukaan area yang *reproducible* dan arus *background* yang rendah. 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 *boron-doped diamond*. Pada penelitian ini digunakan elektroda Au dan BDD-NPAu.

Elektroda pembanding adalah elektroda yang menghasilkan potensial konstan selama waktu operasi dan relatif stabil terhadap perubahan temperatur, sehingga dapat digunakan sebagai standar pembanding terhadap perubahan potensial pada elektroda kerja. Elektroda pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah elektroda perak – perak klorida (Ag/AgCl).

Elektroda pendukung merupakan elektroda yang berperan sebagai tempat masuknya elektron, sehingga arus dapat dilewatkan melalui sel tanpa terlibat dalam reaksi kimia yang terjadi. Karena peranannya sebagai tempat masuknya elektron, maka luas area elektroda pendukung harus lebih besar dari elektroda kerja dan berupa logam inert. Elektroda pendukung yang biasa digunakan adalah platina (Pt) yang dapat berupa kawat lurus, kawat spiral, dan cakram (*disk*). Zat lain yang bersifat inert seperti karbon grafit dapat juga digunakan sebagai elektroda pendukung. Kawat platina spiral digunakan dalam penelitian ini sebagai elektroda pendukung.

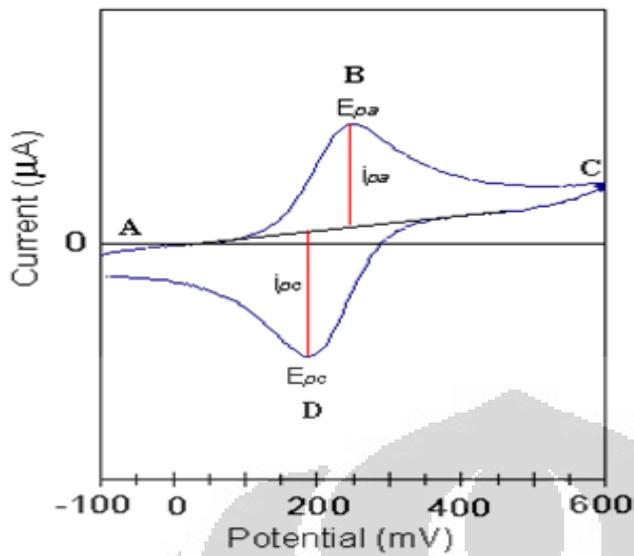
Dalam metode analisis, terdapat tiga jenis metode elektrokimia yang biasa digunakan, yaitu konduktometri, potensiometri, dan amperometri. Konduktometri

mengukur perubahan hantaran yang timbul antara dua buah elektroda. Potensiometri mengukur perbedaan potensial antara sampel dengan pembanding sehingga dapat memonitor akumulasi muatan yang dihasilkan pada permukaan elektroda. Sedangkan amperometri mengukur arus yang dihasilkan dari reaksi reduksi oksidasi pada potensial tertentu.

Parameter sangatlah berpengaruh terhadap hasil penelitian, penentuan parameter yang kurang tepat akan menyebabkan data yang diperoleh dalam penelitian menjadi tidak akurat. *Scan rate* merupakan salah satu parameter penting yang harus diperhatikan dalam pengukuran pada metode elektrokimia. *Scan rate* berkaitan dengan kenaikan laju difusi spesi menuju elektroda. *Scan rate* yang besar akan mengakibatkan tipisnya lapisan difusi dan flux (J_x) yang dihasilkan akan menjadi lebih besar. Sebaliknya *scan rate* yang kecil akan mengakibatkan tebalnya lapisan difusi dan flux (J_x) yang dihasilkan akan menjadi lebih kecil, sehingga arus yang dihasilkan akan menjadi lebih kecil (Foliatini, 2005).

2.4 CYCLIC VOLTAMMETRY (VOLTAMETRI SIKLIK)

Cyclic voltammetry adalah suatu teknik analisis kualitatif dan kuantitatif yang dapat memberikan informasi dengan cepat dalam mengkarakterisasi reaksi yang terjadi di dalam sel elektrokimia. Pada *cyclic voltammetry* respon arus diukur sebagai fungsi potensial (voltase), dimana pemberian potensial dilakukan secara bolak-balik, sehingga informasi reduksi dan oksidasi dapat teramati dengan baik. Karakteristik *cyclic voltammetry* tergantung beberapa faktor yaitu laju reaksi transfer elektron, kereaktifan spesi elektroaktif, dan *scan rate* voltase (Istiqomah, 2008; Wijaya, 2008). Spesi yang semula dioksidasi pada sapuan potensial awal (*forward scan*) akan direduksi setelah sapuan potensial balik (*reverse scan*).



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 2.2 Voltamogram

Besarnya arus untuk pasangan puncak dari reaksi yang berlangsung secara *reversible* pada suhu 25°C ditentukan dengan persamaan Randles-Sevcik:

$$i_p = (2,69 \times 10^{-5}) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

n = jumlah elektron yang terlibat dalam reaksi

A = luas efektif permukaan elektroda (cm^2)

C = konsentrasi (mol/cm^3)

D = koefisien difusi (cm^2/s)

V = laju potensial atau *scan rate* (V/s)

Nilai potensial reduksi formal untuk sistem yang *reversible* ditentukan dari rata-rata potensial puncak anoda (E_{pa}) dan katoda (E_{pc}) sesuai dengan persamaan :

$$E^{\circ} = \frac{1}{2} (E_{pa} + E_{pc}) \dots\dots\dots(2)$$

Berdasarkan mekanisme reaksi yang terjadi, voltametri siklik terbagi menjadi tiga jenis yaitu sistem *reversibel*, *irreversible*, dan *quasi-reversible*. Untuk reaksi yang berlangsung secara *reversible*, sistem reduksi oksidasi tetap berada dalam kesetimbangan selama *scan* potensial terus berlangsung.

Konsentrasi dari spesi yang tereduksi dan teroksidasi pada permukaan elektroda ditentukan dengan persamaan Nernst :



$$E = E^{\circ} - \frac{2,303RT}{nF} \text{Log} \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Keterangan:

E = potensial sel; E° = potensial standar sel; R = tetapan Rydberg (8,314 J/Kmol);

T = temperatur larutan (K); n = jumlah elektron yang terlibat dalam reaksi;

F = tetapan Faraday (96500 C).

Besarnya potensial puncak yang dihasilkan dipengaruhi oleh kinetika transfer elektron. Jika kinetika transfer elektron berlangsung lambat maka besarnya pemisahan potensial puncak akan lebih besar dan akan meningkat sesuai dengan peningkatan *scan rate*. Apabila potensial puncak yang dihasilkan tidak berubah dengan bertambahnya *scan rate*, reaksi reduksi oksidasi tersebut bersifat *reversible*. Sebaliknya jika potensialnya berubah dengan perubahan *scan rate* maka reaksi redoks tersebut bersifat *irreversible*. Pemisahan potensial puncak antara dua puncak anoda dan katoda (untuk pasangan *reversible*) sesuai dengan persamaan:

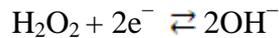
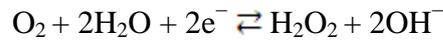
$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59 \text{ mV/n} \dots\dots\dots(4)$$

Selain mempengaruhi besarnya potensial puncak, kinetika transfer elektron juga mempengaruhi besarnya arus yang dihasilkan. Gangguan transfer elektron yang biasanya berasal dari spesi lain selain analit yang juga ikut bereaksi, sehingga mempengaruhi terjadinya reaksi reduksi dan oksidasi dari analit.

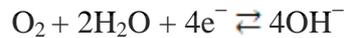
2.5 AMPEROMETRI

Amperometri berfungsi saat potensial diberikan antara dua elektroda dan menghasilkan arus. Umumnya memiliki respon terhadap waktu, *range* yang dinamis dan sensitivitas yang sama dengan potensiometri biosensor. Sistem sensor oksigen digunakan dengan respon yang berasal dari elektroda kerja. Elektroda kerja juga berperan sebagai katoda yang merupakan tempat terjadinya reduksi oksigen.

Ada dua mekanisme reaksi reduksi oksigen yang terjadi pada katoda. Mekanisme pertama adalah reaksi reduksi oksiden melalui tahap intermediet hidrogen peroksida yang melibatkan 2 elektron (Sohn & Kim, 1996).



Mekanisme kedua merupakan reduksi oksigen secara langsung:



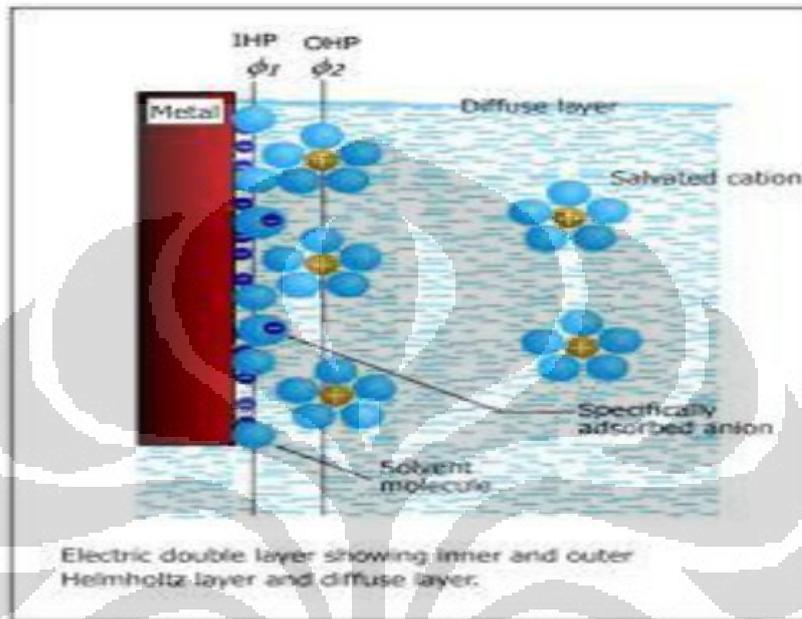
Proses reduksi oksigen yang efisien terjadi pada bagian permukaan katoda sehingga mengakibatkan konsentrasi oksigen berkurang hingga mendekati nol. Laju dari pengukuran reduksi oksigen ini sangat bergantung dari proses difusi oksigen ke dalam larutan yang bergantung pada gradient konsentrasi dan konsentrasi oksigen. Proses perubahan oksigen yang terjadi diamati melalui proses reduksi oksigen yang terjadi pada permukaan elektroda.

Penggunaan elektrolit di dalam sel elektrokimia juga merupakan hal yang penting di samping elektroda. 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.

2.6 FENOMENA PERMUKAAN PADA METODE ELEKTROKIMIA

Sistem elektrokimia menyajikan data berupa arus, beda potensial, dan hambatan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif suatu analit. Timbulnya arus disebabkan oleh adanya reaksi oksidasi dan reduksi pada permukaan elektroda. Proses yang terjadi dijelaskan menggunakan teori lapis rangkap listrik atau permukaan Helmholtz. Teori lapis rangkap listrik menjelaskan bahwa ketika elektroda kerja dihubungkan dengan suatu sumber listrik, permukaan elektroda akan memiliki muatan listrik. Besar dan jenis muatan listrik pada permukaan elektroda sangat bergantung pada potensial listrik yang diberikan. Jika potensial yang diberikan negatif maka permukaan elektroda akan bermuatan negatif dan

sebaliknya. Untuk mengimbangi muatan yang terdapat pada permukaan elektroda tersebut, ion-ion dalam larutan yang memiliki muatan berlawanan dengan muatan elektroda akan tertarik ke permukaan elektroda dan membentuk permukaan Helmholtz. Pasangan muatan pada permukaan elektroda dan permukaan Helmholtz ini akan membentuk suatu lapisan yang disebut lapis rangkap listrik



Gambar 2.3 Lapis Rangkap Listrik pada Permukaan Elektroda

Ketika potensial elektroda mencapai potensial dekomposisi dari ion analit, maka ion – ion analit yang terdapat pada permukaan Helmholtz akan tereduksi. Akibatnya konsentrasi ion – ion analit pada permukaan Helmholtz akan berkurang. Untuk menutupi kekurangan ion – ion analit pada permukaan Helmholtz ini, maka ion – ion analit yang terdapat dalam larutan akan berdifusi menuju permukaan elektroda. Aliran ion – ion akan menghasilkan arus difusi, arus migrasi, dan arus konveksi.

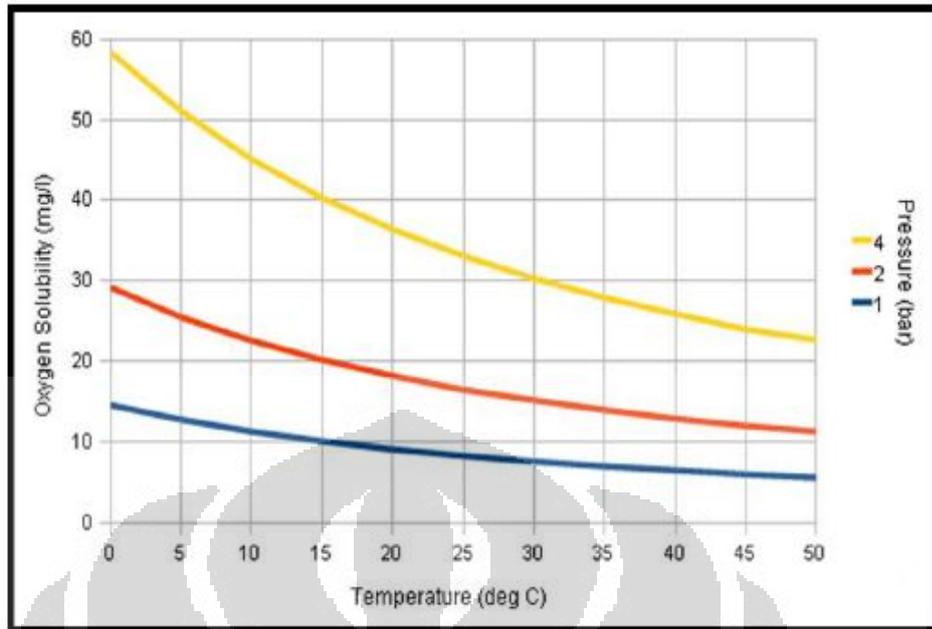
Arus difusi sangat bergantung pada konsentrasi ion – ion analit yang terdapat dalam larutan. Arus difusi adalah arus yang disebabkan akibat perubahan gradient konsentrasi pada lapisan difusi dan besarnya sebanding dengan konsentrasi analit dalam larutan. Arus migrasi adalah arus yang timbul akibat gaya tarik elektrostatis antara elektroda dengan ion – ion dalam larutan. Sedangkan arus konveksi adalah arus yang timbul akibat gerakan fisik, seperti rotasi atau vibrasi elektroda, dan perbedaan rapat massa. Karena informasi yang

dibutuhkan dalam pengukuran dengan potensiostat adalah informasi mengenai konsentrasi analit, maka keberadaan arus migrasi dan arus konveksi harus diminimalisir agar tidak menimbulkan gangguan dalam pengukuran. Arus konveksi diminimalisir dengan cara tidak melakukan pengadukan sesaat sebelum pengukuran untuk mempertahankan kedapatulangan pengukuran dan menjaga agar temperatur larutan yang diukur tetap. Sedangkan arus migrasi diminimalisir dengan cara penambahan larutan elektrolit pendukung (Privett, 2008).

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. 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. Kadar oksigen yang terlarut dalam air tergantung pada tekanan, temperatur, pH, dan zat terlarut yang terdapat dalam air. Semakin besar tekanan gas oksigen terhadap permukaan air semakin besar oksigen yang dapat larut dalam air. Semakin banyak jumlah zat terlarut baik mineral maupun zat organik dalam air maka semakin kecil oksigen yang terlarut dalam air. Sedangkan semakin meningkat temperatur air maka semakin menurun kadar oksigen yang dapat larut dalam air seperti yang terdapat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kurva Kelarutan Oksigen dan Temperatur

2.8 *RHODOTORULA MUCILAGINOSA* UICC Y-181

Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181 merupakan khamir yang diperoleh dari UICC (Universitas Indonesia Culture Collection). Khamir ini diisolasi dari perairan Tanjung Priok, Jakarta. Persebaran *Rhodotorula mucilaginosa* sebenarnya sangat luas dan dapat hidup pada berbagai substrat di habitat terestrial, perairan tawar, dan laut (Fell & Statzell-Tallman, 1998).

Rhodotorula mucilaginosa adalah khamir *Basidiomycota* yang memiliki koloni berwarna jingga sampai merah, bertekstur koloni mengkilap dan berlendir, tepi koloni rata, permukaan licin, dan menggunung (Yaroow, 1998). Khamir jenis ini secara optimal hidup pada suhu 20 – 30 °C (Deak, 2006).

Khamir ini bersifat aerob obligat dan proses respirasinya sangat bergantung dari oksigen. Oleh karena itu dapat digunakan dalam pengukuran parameter BOD. Proses elektrokimia yang digunakan ini memanfaatkan khamir yang sudah memasuki fase pertumbuhan yang maksimum dan konstan. Salah satu kelebihan dari khamir adalah kemampuannya untuk membuat suatu lapisan film di atas permukaan medium cair.

Taksonomi *Rhodotorula mucilaginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Sub Kigdom	: <i>Dikarya</i>
Philum	: <i>Basidiomycota</i>
Sub Philum	: <i>Pucciniomycotina</i>
Sub Kelas	: <i>Microbotryomycetes</i>
Ordo	: <i>Sporidiobolales</i>
Genus	: <i>Rhodotorula</i>



Gambar 2.5 Sel Khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

2.9 IMOBILISASI ELEMEN SENSOR BIOLOGI

Imobilisasi merupakan teknik yang digunakan untuk fiksasi kimia atau fisika dari sel, organel sel, enzim, atau protein (misalnya monoklonal antibodi) ke dalam matriks pendukung atau membran dalam rangka meningkatkan stabilitas, dan memungkinkannya dalam penggunaan yang berulang-ulang (IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 1997). 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 sampai memasuki fase stasionernya.

Dasar biosensor mikroorganisme yaitu kontak antara mikroorganisme dan *transducer* (Yu Lei, 2006). Jadi pembuatan biosensor mikroorganisme membutuhkan imobilisasi sel pada *transducer*.

Menurut Eggins (1996), terdapat lima metode imobilisasi elemen sensor, yaitu:

- a. *Adsorption*. Adsorpsi secara fisika merupakan metode yang paling sederhana untuk imobilisasi mikroorganisme dan hanya melibatkan sedikit *preparasi*. Namun, ikatan yang terbentuk lemah dan sulit untuk dipertahankan stabilitasnya dalam jangka waktu yang panjang.
- b. *Microencapsulation*. Elemen biologi dibungkus oleh mikrokapsul (di antara membran). Metode ini dapat mengurangi kontaminasi dan biodegradasi, stabil terhadap perubahan suhu, pH, kekuatan ion, dan komposisi kimia.
- c. *Entrapment*. Elemen biologi dicampurkan dengan suatu monomer, kemudian dipolimerisasi menjadi gel (matriks) sehingga elemen biologi terperangkap. Kelemahan metode ini adalah terhambatnya difusi analit substrat sehingga memperlambat reaksi.
- d. *Cross-linking*. Elemen biologi diikat secara kimia pada *transducer* dengan suatu *bifunction reagent* (seperti glutaraldehid, formaldehid).
- e. *Covalen binding*. Gugus – gugus fungsional pada elemen sensor biologi diikat melalui ikatan kovalen pada matriks pendukung yang dihubungkan dengan *transducer*.

2.10 NANOPARTIKEL EMAS

Logam emas (Au) memiliki nomor atom 79; massa atom 196,967 dan jari-jari atom 0,1442 nm; dengan konfigurasi elektron $[Xe] 4f^{14}5d^{10}6s^1$; titik leleh emas murni 1064 °C; dan titik didih emas adalah 2860 °C. Kemampuan emas dalam menghantarkan panas dan listrik lebih baik dibanding tembaga dan perak.

Emas berada pada deret teratas potensial elektrokimia yaitu +1,5 V yang menunjukkan bahwa emas memiliki tahanan korosi yang tertinggi. Dalam prakteknya, emas hanya dapat terkorosi oleh asam nitrat dan asam klorida (aquaregia) dan dapat larut dalam sianida atau merkuri. Dalam penelitian ini digunakan elektroda emas berbentuk lembaran (*sheet*) dengan luas area 1 cm x 1 cm x 1 mm.

Partikel nano didefinisikan sebagai material berskala nanometer (10^{-9} m). Sifat-sifat nanopartikel sangat berbeda dengan *bulk* partikelnya. Sifat ini meliputi sifat elektrik, mekanik, magnetik maupun sifat optiknya (Arfiah, 2006). Material nano mempunyai keunggulan dalam sifat-sifat tertentu yang sangat

menguntungkan untuk aplikasi spesifiknya. Hingga saat ini nanopartikel telah diaplikasikan dalam bidang elektronik, kedokteran, industri kimia, kosmetik, dan lain-lain (Yi Sun, 2006). Dalam perkembangannya, prospek teknologi ini akan semakin meningkat seiring dengan ditemukannya aplikasi baru lainnya.

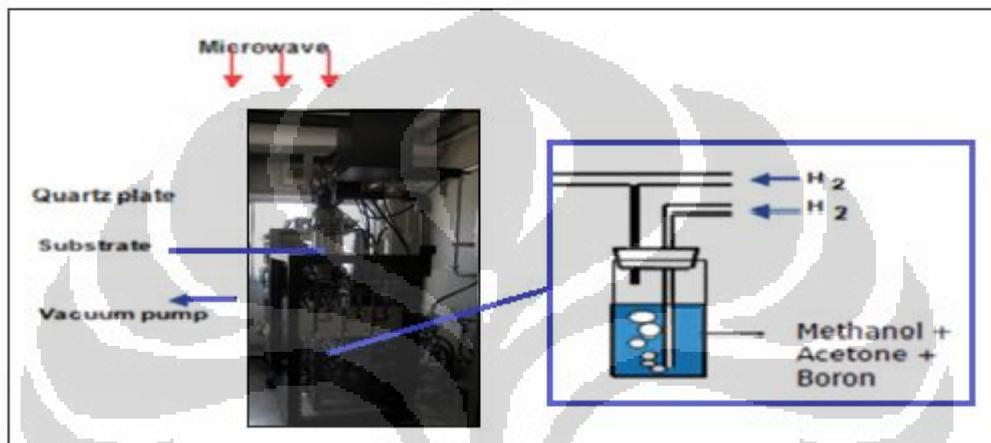
Nanopartikel emas dapat disintesis dengan dua cara yaitu cara fisika dan cara kimia. Pembuatan nanopartikel emas melalui cara fisika yaitu dengan cara melebur batangan emas hingga mencapai ukuran yang sangat kecil yaitu dalam skala nanometer, sedangkan dengan cara kimia yaitu dengan cara menumbuhkan nanopartikel dari prekursor molekular atau ionik logamnya. Sebagai contoh sintesis nanopartikel emas secara kimia dilakukan melalui reaksi reduksi HAuCl_4 (Au^{3+}) menggunakan suatu reduktor, misalnya NaBH_4 . Hasil reduksi ion logam menghasilkan partikel – partikel logam yang terdispersi dalam fasa cair. Oleh karena itu, nanopartikel dikenal juga sebagai koloid. Metode sintesis nanopartikel emas telah banyak ditemukan, beberapa di antaranya dibuat menggunakan reduktor natrium sitrat (metode Turkevich) dan reduktor NaBH_4 (metode Brust). Selain itu, biasanya ditambahkan zat penstabil, misalnya natrium sitrat dan alkanatiol. Warna koloid nanopartikel emas dapat bervariasi dari merah ke ungu tergantung pada ukuran yang terbentuk.

Parameter yang mempengaruhi pertumbuhan, bentuk, dan struktur nanopartikel yaitu jenis *capping agent* atau *stabilizer*, konsentrasi dari reaktan, nilai pH dari larutan, dan pengaruh suhu. Sedangkan faktor yang mempengaruhi sifat nanopartikel adalah ukuran dan bentuk partikel, sifat permukaan, interaksi pelarut-partikel, dan interaksi antar partikel (Guoa, 2007).

2.11 BORON-DOPED DIAMOND

Boron-Doped Diamond (BDD) merupakan suatu material substrat yang menarik karena kemampuannya untuk di-*doping* dan dideposisikan dalam bentuk lapisan tipis pada berbagai substrat seperti silikon (Si) (Ru-hai, 2006). Hibridisasi sp^3 yang dimiliki oleh intan menyebabkan intan bersifat nonkonduktif, oleh karena itu perlu diberi suatu perlakuan khusus pada permukaannya agar lebih bersifat konduktif. Salah satu caranya adalah dengan men-*doping* permukaannya dengan suatu material yang bersifat konduktif seperti boron.

BDD dibuat dengan cara mendeposisikan larutan karbon yang mengandung boron menjadi intan pada permukaan silikon. Pembuatan elektroda BDD umumnya dilakukan dengan metode *Chemical Vapor Deposition* (CVD) dengan sumber karbon yang digunakan adalah campuran metanol dan aseton, sumber boron digunakan trimetoksiboran, dan substrat yang digunakan umumnya adalah silikon. Proses pembuatan BDD ini terjadi pada temperatur tinggi 900 – 1000 °C, tekanan 115 Torr, dan waktu deposisi yang diperlukan antara 6 – 8 jam.

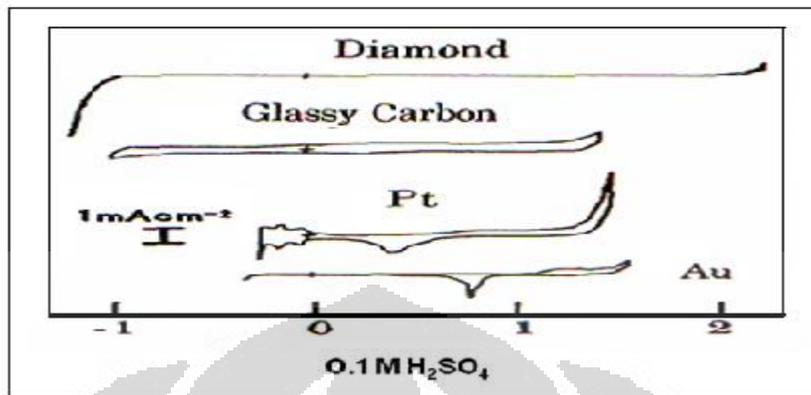


Gambar 2.6 Skema Pembuatan Elektroda *Boron-Doped Diamond*

BDD banyak diaplikasikan secara luas dalam bidang elektrokimia karena memiliki morfologi dan mikrostruktur permukaan yang stabil dalam kondisi elektrokimia yang ekstrim, memiliki konduktivitas elektrik dan konduktivitas termal yang sangat baik, arus *background* yang rendah, kisaran potensial yang lebar, dan stabil dalam jangka waktu yang lama. BDD mampu memberikan respon terhadap reaksi reduksi oksidasi pada kebanyakan analit tanpa perlu adanya perlakuan awal pada permukaannya. Kelemahan BDD adalah memiliki sensitivitas yang rendah terhadap oksigen dan daya adsorpsi yang lemah terhadap molekul polar karena adanya gugus akhir hidrogen pada permukaannya yang bersifat nonpolar (Tribidasari, 2006; Ru-hai, 2006; Yang, 2007).

Salah satu sifat BDD yang tidak reaktif atau *inert* karena adanya gugus hidrogen pada permukaannya memberikan keuntungan dalam hal stabilitasnya yang tinggi. Namun di sisi lain sifat inertnya ini dapat membatasi penggunaannya dalam aplikasi sensor (Ru-hai, 2006). Untuk memperbaiki sifat kereaktifannya ini perlu dilakukan suatu modifikasi kimia pada permukaannya seperti menempelkan

suatu material yang mampu memfasilitasi transfer elektron antara permukaan elektroda BDD dengan analit dari larutan (Tribidasari, 2008).



Gambar 2.7 *Potensial Window* Berbagai Elektroda

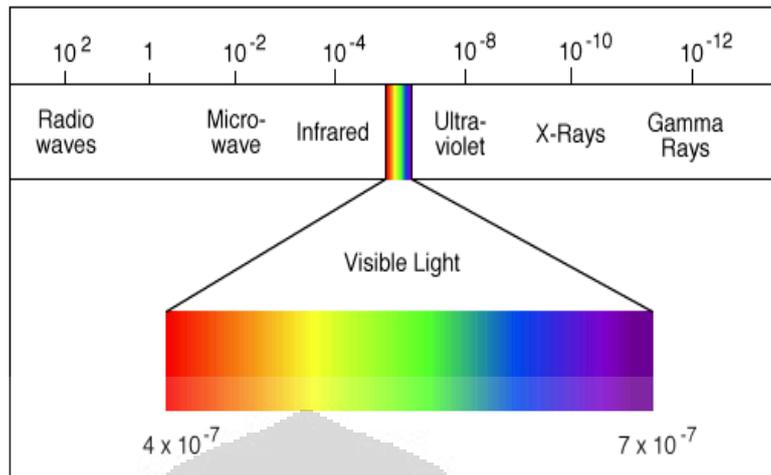
Berdasarkan kurva *stripping voltamogram* di atas, dapat disimpulkan elektroda BDD adalah elektroda yang memiliki rentang potensial paling besar. Selain itu kurva standarisasi BDD juga merupakan kurva yang paling linear. Oleh karenanya BDD lebih berpotensi menjadi elektroda yang paling baik.

Perbedaan yang terjadi pada larutan blanko untuk keempat elektroda tersebut disebabkan perbedaan sifat *inert* dari masing-masing elektroda, BDD adalah elektroda paling *inert* sehingga memiliki rentang potensial paling luas.

2.12 SPEKTROFOTOMETER UV-VISIBLE

Spektrofotometer merupakan suatu instrumen yang dapat memancarkan gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang tertentu. Pada spektrofotometer UV-Visible, cahaya yang dapat dipancarkan yaitu cahaya tampak yaitu kisaran panjang gelombang 400 nm – 800 nm dan cahaya ultraviolet yaitu pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Cahaya ini tidak terlihat oleh kasat mata namun dapat terdeteksi dengan sel foto listrik.

Berikut merupakan spektrum gelombang elektromagnetik :



Gambar 2.8 Gambar Spektrum UV-Vis

Prinsip kerja dari instrumen ini yaitu sinar yang dipancarkan oleh sumber sinar berupa cahaya monokromatis akan memancar pada sampel yang sedang diteliti. Cahaya monokromatis merupakan cahaya yang terdiri dari panjang gelombang yang tunggal. Kemudian sinar gelombang elektromagnetik yang dipancarkan ini akan berinteraksi dengan sampel. Cahaya yang terpancarkan akan diserap oleh sampel. Sampel yang terdiri dari beberapa senyawa atau molekul ini akan mengalami transisi pada struktur elektroniknya. Serapan radiasi sinar ultraviolet ini sering dikenal dengan spektroskopi elektronik. Setiap senyawa memiliki tingkatan energi yang spesifik karena pada setiap senyawa terdiri dari orbital ikatan tertentu. Orbital ikatan pada molekul akan mengalami transisi elektronik sehingga sinar yang dipancarkan dari sumber cahaya pada instrumen dapat menyebabkan serapan. Serapan ini menyebabkan adanya sinar yang diserap dan sinar yang diteruskan. Intensitas cahaya yang diteruskan akan ditangkap oleh detektor yang kemudian akan disambungkan pada *transducer* yang berperan sebagai pengubah signal tersebut menjadi informasi yang berguna.

Spektrofotometri UV-Vis dimanfaatkan sebagai analisis kimia kualitatif maupun kuantitatif. Informasi kualitatif dapat diperoleh dari sifat spesifik serapan elektronik yang dihasilkan dari pancaran sinar monokromatis terhadap sampel.

Dengan cara menentukan puncak serapan berupa panjang gelombang dari sampel. Informasi kuantitatif dapat diperoleh dengan mengikuti hukum Lambert – Beer :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan : A = Absorbansi

b = Tebal kuvet (cm)

ϵ = Absorptivitas molar ($M^{-1}cm^{-1}$)

C = Konsentrasi larutan (M)

Spektrofotometri dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dan dapat juga untuk karakterisasi nanopartikel logam yang memiliki absorbansi plasmon permukaan yang berada pada daerah *visible* atau cahaya tampak yaitu seperti nanopartikel logam emas (Au), perak (Ag), dan tembaga (Cu).

2.13 SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

Scanning Electron Microscopy (SEM) merupakan salah satu instrumen mikroskop elektron dengan prinsip difraksi elektron. Pada mikroskop elektron terdapat 2 jenis elektron yang terlibat yaitu elektron primer dan sekunder elektron. Elektron primer merupakan elektron berenergi tinggi yang dipancarkan oleh katoda biasanya berkisar 20 eV hingga 200 eV atau sampai 1 MeV yang dipancarkan dari katoda yang dipanaskan. Sedangkan elektron sekunder adalah elektron berenergi rendah yang dipancarkan oleh atom pada permukaan. Atom yang akan memancarkan elektron sekunder adalah atom yang disinari berkas elektron primer. Penggunaan instrumen SEM pada perkembangan nanoteknologi juga berperan penting pada karakterisasi nanomaterial dan nanostruktur sampel padatan. Perbedaan instrumen SEM dengan mikroskop elektron lainnya yaitu instrumen SEM ini dimanfaatkan untuk mengkarakterisasi sampel dalam fasa padatan saja sedangkan instrumen TEM dimanfaatkan untuk fasa padat dan cair. Perbesaran yang dapat dijangkau mikroskop elektron ini mencapai 15 sampai 200.000 kali.

Prinsip kerja instrumen ini adalah difraksi elektron, yaitu dengan cara menembakan permukaan benda dengan berkas elektron berenergi tinggi pada permukaan sampel. Kemudian berkas elektron yang mengenai permukaan sampel akan menghasilkan pantulan berupa berkas elektron sekunder yang memancarkan

ke segala arah. Berkas elektron sekunder yang memancar ke segala arah ini akan tertangkap oleh detektor. Kemudian informasi dari detektor dilanjutkan ke *transducer* yang berfungsi mengubah signal menjadi *image*. *Image* yang tergambar diperoleh dari berkas elektron sekunder yang terpancar secara acak sehingga dapat memberikan informasi morfologi permukaan.



Gambar 2.9 Instrumen SEM

2.14 TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY

Transmission Electron Microscopy (TEM) pertama kali ditemukan oleh Max Knoll dan Ernt Ruska pada tahun 1931. Hasil temuan ilmuwan ini memberikan sumbangsih yang sangat berarti dalam perkembangan nanomaterial yang salah satunya pemanfaatannya untuk karakterisasi material dalam skala nanometer.

TEM merupakan instrumen mikroskopi elektron yang memiliki resolusi perbesaran paling tinggi yaitu hingga perbesaran 10^6 . Instrumen ini digunakan untuk mengkarakterisasi nanomaterial sehingga diperoleh tampilan gambaran dalam skala nanometer dan juga dapat menentukan lokasi atom – atom dalam sampel. Mikroskop elektron mampu mengatur perbesaran tinggi dibandingkan mikroskop cahaya karena prinsip dari persamaan de Broglie yaitu :

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2mqV}}$$

m dan q adalah massa dan muatan elektron, h merupakan konstanta Planck, dan V merupakan beda potensial elektron yang terakselerasi. Oleh karena panjang

gelombang elektron memiliki nilai yang kecil dibandingkan panjang gelombang cahaya oleh sehingga perbesarannya dapat mencapai resolusi yang tertinggi.

Prinsip kerja instrumen TEM yaitu elektron dengan energi sangat tinggi (dipercepat pada tegangan ratusan kV) menembak permukaan sampel yang sangat tipis hingga mentransmisikan berkas elektron sekunder. Berkas elektron sekunder yang ditransmisikan akan ditangkap oleh detektor sebagai signal yang memberikan informasi tampilan partikel – partikel. Kemampuan elektron berinteraksi dengan permukaan sampel memberikan hasil yang berbeda – beda, bergantung pada permukaan sampel, jika elektron yang ditembakkan mampu menembus permukaan sampel dan tidak adanya energi yang berkurang, maka interaksi elastik antara sampel dengan berkas elektron ini menyebabkan signal yang ditransmisikan akan ditangkap oleh detektor sebagai bagian yang “lunak”. Sedangkan pada bagian yang dianggap “keras” adalah jika interaksi sampel dengan berkas elektron primer menghasilkan interaksi inelastik maka menyebabkan absorpsi kompleks dan efek penyebaran yang mana dapat menghasilkan variasi spasial pada intensitas yang ditransmisikan. TEM memiliki kemampuan mengambil gambar dengan resolusi tinggi dibandingkan dengan mikroskop cahaya. Instrumen TEM yang berfungsi untuk analisis permukaan berdasarkan serapan elektron pada material yang bergantung pada ketebalan dan komposisi dari material yang dianalisis (Dien, 2011).



Gambar 2.10 Instrumen TEM

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 LOKASI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia dan laboratorium elektrokimia Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Keio, Jepang.

3.2 BAHAN DAN PERALATAN

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah glukosa, yeast ekstrak, malt ekstrak, pepton, agar, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , gelatin, formaldehid, natrium alginat, $CaCl_2$, membran nafion, gas nitrogen, gas oksigen, $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$, natrium sitrat, $NaBH_4$, allilamin, $MnSO_4$, larutan alkali-iodida-azida, $MgSO_4$, $FeCl_3$, H_2SO_4 , aquademin, aquademin steril, kapas berlemak, dan 2-propanol.

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA UI. Jenis khamir ini diisolasi dari perairan Teluk Jakarta.

3.2.2 Peralatan

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, pipet ukur, pipet volumetri, dan gelas ukur; alat-alat besi seperti spatula, crusible tong, jarum ose; dan sel elektrokimia yang terdiri dari lempeng kuningan, platina spiral, tutup botol, penyangga yang terbuat dari skrub dan mur, elektroda *reference* Ag/AgCl, lempeng elektroda emas dan *Boron-Doped Diamond* (BDD).

Selain itu juga digunakan alat-alat instrumen seperti autoklaf, inkubator shaker, oven, potensiostat (EDAQ), Spektrofotometer Spektronik 20, *Chemical*

Vapor Deposition (CVD, ASTeX Corp.), Spektroskopi Raman (Olympus BX52M), *Transmission Electron Microscopy* (TEM, JEM-200 CX Electron Microscope, JEOL), *Scanning Electron Microscopy* (SEM, JEOL JSM 5400), *X-ray Photoelectron Spectroscopy* (XPS, JPS-9000 MC Photoelectron Spectrometer), *Particle Size Analyzer* (PSA, ELS-8000), Spektrofotometer UV-Visible (Jasco V-570), DO meter (Hanna HI 9196), pH meter, alat *sentrifuge*, dan alat timbang analitis.

3.3 CARA KERJA

3.3.1 Sintesis Koloid Nanopartikel Emas

3.3.1.1 Pembuatan larutan stok HAuCl_4 0,01 M

0,0985 g $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquademin dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

3.3.1.2 Pembuatan larutan natrium sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) 0,1 M

0,2941 g Natrium sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) dilarutkan dengan aquademin dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Larutan ini dibuat *fresh*.

3.3.1.3 Pembuatan larutan natrium borohidrida (NaBH_4) 0,1 M

0,038 g NaBH_4 dilarutkan dengan aquademin dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Larutan ini dibuat *fresh*.

3.3.1.4 Pembuatan larutan koloid nanopartikel emas

0,5 mL larutan HAuCl_4 0,01 M ditambahkan ke dalam 18,5 mL aquademin dan diaduk selama 5 menit. Ke dalam campuran larutan tersebut ditambahkan sebanyak 0,5 mL natrium sitrat 0,1 M dan diaduk kembali selama 5 menit, selanjutnya 0,5 mL ditambahkan NaBH_4 0,1 M dan diaduk selama 1 menit.

3.3.1.5 Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan Spektrofotometer

UV-Visible

Koloid nanopartikel emas dikarakterisasi dengan cara mengukur panjang gelombang maksimum (absorpsi maksimum) dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* pada daerah panjang gelombang 400 – 800 nm.

3.3.1.6 Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan *Particle Size*

Analyzer

Karakterisasi koloid nanopartikel emas dilakukan dengan cara mengukur ukuran partikel dari koloid nanopartikel yang telah dibuat menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA).

3.3.1.7 Karakterisasi koloid nanopartikel emas dengan *Transmission*

Electron Microscopy

Karakterisasi koloid nanopartikel emas dilakukan dengan cara mengukur ukuran dan bentuk dari koloid nanopartikel yang telah dibuat menggunakan instrumen *Transmission Electron Microscopy* (TEM).

3.3.2 Fabrikasi Elektroda BDD-NPAu

3.3.2.1 Pembersihan elektroda BDD

BDD yang telah difabrikasi dengan alat *Chemical Vapor Deposition* (CVD) dilakukan pembersihan terlebih dahulu secara mekanik dengan cara mengamplas BDD yang akan dimodifikasi menggunakan α -alumina 0,5 μM sampai permukaannya mengkilap seperti kaca. Setelah itu elektroda ini disonikasi dalam 1-propanol dan aquademin masing-masing selama 10 menit dan dikeringkan.

3.3.2.2 Aktivasi permukaan elektroda BDD

Permukaan elektroda BDD yang telah dibersihkan selanjutnya direndamkan ke dalam larutan allilamin dan diradiasi di bawah sinar UV ($\lambda = 254$ nm) selama 6 jam. Setelah itu elektroda dibilas dengan aquademin dan dikeringkan. Elektroda ini siap untuk dimodifikasi dengan nanopartikel emas.

3.3.2.3 Modifikasi elektroda BDD dengan nanopartikel emas

Modifikasi dilakukan dengan cara merendamkan elektroda BDD yang telah diaktivasi permukaannya ke dalam koloid nanopartikel emas selama 20 menit. Setelah proses perendaman selesai, elektroda dibilas dengan aquademin dan dikeringkan.

3.3.2.4 Karakterisasi BDD-NPAu dengan *Scanning Electron Microscopy*

Karakterisasi dilakukan dengan cara melihat morfologi permukaan elektroda BDD-NPAu menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dengan perbesaran 5000x, 10 kV.

3.3.2.5 Karakterisasi BDD-NPAu dengan *X-ray Photoelectron Spectroscopy*

Karakterisasi energi ikatan yang terdapat di permukaan elektroda BDD-NPAu dengan menggunakan instrumen *X-ray Photoelectron Spectroscopy* (XPS).

3.3.2.6 Karakterisasi elektroda BDD-NPAu secara elektrokimia

3.3.2.6.1 Perancangan sel elektrokimia

Rancangan sel elektrokimia terdiri dari elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pembanding (*reference electrode*), dan elektroda pendukung (*counter electrode*). Sebagai elektroda kerja digunakan kepingan Au berukuran 1 cm x 1 cm x 1 mm dengan diameter elektroda kerja yang kontak dengan larutan sebesar 3 mm dan elektroda BDD-NPAu, sebagai elektroda pembanding digunakan Ag/AgCl (KCl jenuh), sedangkan elektroda pendukung digunakan kawat platina berbentuk spiral.

Pengukuran sensor BOD dengan potensiostat, dilakukan dalam 2 keadaan yaitu khamir pada keadaan bebas (*free cell*) dan khamir terimobilisasi dalam matriks gelatin dan alginat.

3.3.2.6.2 Persiapan larutan buffer fosfat

Larutan buffer fosfat pH 7 dibuat dengan cara melarutkan 0,4355 g K_2HPO_4 dan 0,3402 g KH_2PO_4 dengan aquademin dalam labu ukur 50 mL.

3.3.2.6.3 Penentuan potensial reduksi oksigen

Potensial reduksi dari oksigen ditentukan dengan *cyclic voltammetry* pada rentang potensial -1000 mV sampai +1000 mV dengan *scan rate* 100 mV/s menggunakan elektroda Au dan elektroda BDD-NPAu terhadap Ag/AgCl. Larutan yang digunakan 5 mL buffer fosfat pH 7 yang dialirkan gas nitrogen selama 30 detik dan variasi waktu aliran gas oksigen 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 detik. Kadar oksigen pada setiap variasi waktu aliran diukur dengan DO meter secara terpisah.

3.3.3 Persiapan Biomassa Sel Khamir

3.3.3.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan untuk media pertumbuhan khamir dan regenerasi khamir seperti tabung reaksi, pipet, cawan petri, erlenmeyer, disterilisasi terlebih dahulu dalam oven 160 °C selama 2 jam. Media untuk pertumbuhan khamir seperti *Yeast Malt Agar* (YMA), *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPGB), dan aquademin juga perlu dilakukan sterilisasi di dalam autoklaf 121 °C selama 15 menit.

3.3.3.2 Pembuatan Medium

3.3.3.2.1 Medium *Yeast Malt Agar*

Medium *Yeast Malt Agar* (YMA) yang digunakan dengan komposisi glukosa 10 g/L, *malt ekstrak* 3g/L, *yeast ekstrak* 3g/L, pepton 5 g/L, dan agar 15 g/L. Setelah larut kemudian dilakukan sterilisasi di dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

3.3.3.2.2 Medium *Yeast Peptone Glucose Broth*

Pembuatan medium *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPGB) dengan komposisi 1 g *yeast extract*, 8 g glukosa, dan 1 g pepton dilarutkan dalam 100 mL aquademin, kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Medium ditambahkan aquademin sampai volume 200 mL dan dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium YPGB yang dibuat dimasukkan kedalam 4 buah erlenmeyer 100 mL, masing-masing sebanyak 50 mL dan disterilisasi dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

3.3.3.3 Penyiapan inokulum

3.3.3.3.2 Pemeliharaan biakan khamir

Stock culture biakan murni dalam medium PDA berasal dari UICC Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi UI. Biakan *stock culture* disimpan pada suhu 40 °C. Dari *stock culture* dibuat biakan *working culture* dalam medium YPGB.

3.3.3.3.3 Peremajaan biakan khamir

Strain khamir yang berasal dari *working culture* dipindahkan secara aseptik dengan jarum ose ke dalam medium YMA miring dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Biakan khamir berumur 24 jam digunakan untuk persiapan biomassa khamir.

3.3.3.3.4 Penyiapan biomassa khamir

Suspensi sel khamir dibuat dengan cara menambahkan 5 mL aquademin steril ke dalam agar miring yang berisi biakan murni. Suspensi sel khamir dipindahkan secara aseptik ke dalam 50 mL medium YPGB pada erlenmeyer 100 mL dan diinkubasi dengan inkubator *shaker* selama 24 jam dalam suhu 30 °C dengan guncangan 120 rpm. Pemisahan biomassa dari medium dengan cara sentrifugasi selama 10 menit. Biomassa yang diperoleh dicuci dua kali dengan aquademin dan disentrifugasi kembali. Biomassa disimpan dalam larutan buffer fosfat dan digunakan untuk prosedur imobilisasi. Sisa biomassa disimpan pada suhu -4 °C untuk digunakan pada percobaan pengulangan.

3.3.3.4 Penentuan kurva pertumbuhan khamir

Dalam proses ini digunakan sel mikroba dari spesies *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia *Culture Center*).

Sejumlah erlenmeyer disiapkan dan diurutkan sesuai dengan waktu pengamatan yaitu 0, 6, 12, 24, 30, 42, dan 48 jam. Masing-masing erlenmeyer berisi 20 mL media fermentasi cair YPGB dan 1 mL suspensi sel. Fermentasi dilakukan menggunakan *inkubator shaker* pada suhu 30 °C dengan guncangan

120 rpm. Jumlah sel kemudian diamati sesuai dengan waktu yang ditentukan, dengan mengamati perubahan kekeruhan menggunakan instrumen *Spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm.

3.3.3.5 Penentuan jumlah sel khamir dengan metode kamar hitung (counting chamber)

Metode ini dilakukan dengan mengencerkan 1 mL suspensi sel yang didapat dari biakan agar miring dengan variasi pengenceran 100 x dan 1000 x. Masing-masing pengenceran dihitung jumlah sel khamir yang terdapat di dalamnya dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x pada wadah *counting chamber*.

3.3.4 Imobilisasi Khamir

Suspensi khamir yang telah didapatkan dari proses fermentasi, kemudian dilakukan perlakuan imobilisasi.

3.3.4.1 Imobilisasi khamir dalam gelatin

Proses imobilisasi dengan gelatin merupakan modifikasi dari metode yang digunakan oleh Alteriis (1987). Sebanyak 5 mL larutan gelatin 10% dalam air dipanaskan sampai suhu 90 °C selama 10 menit. Setelah suhu turun menjadi 40 °C, formaldehid dalam alkohol ditambahkan sebagai *cross-linking agent*, larutan didiamkan selama 20 menit dan dicampurkan 0,2 g suspensi khamir yang berumur 24 jam, diaduk hingga homogen, campuran dicetak dan disimpan dalam suhu -4 °C. Dalam penelitian ini khamir dalam gelatin dicetak berdasarkan sel elektrokimia. Setelah 4 jam, sel elektrokimia dibilas dengan aquades sebanyak dua kali kemudian diisi dengan larutan buffer fosfat pH 7 selama 1 jam. Khamir terimobilisasi kemudian digunakan untuk proses selanjutnya.

3.3.4.2 Imobilisasi khamir dalam alginat

Proses imobilisasi dengan alginat merupakan modifikasi dari metode yang digunakan oleh Dean Madden (2007). 0,2 g Suspensi khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang telah didapatkan dari proses fermentasi ditambahkan ke dalam 10 mL 2 % natrium alginat dan diaduk. Larutan tersebut ditetaskan ke dalam larutan 1,5 % kalsium klorida dan didiamkan selama 15 menit

hingga terbentuk butiran-butiran gel kalsium alginat yang mengandung *Rhodotorula mucilaginosa*. Khamir terimobilisasi tersebut disimpan pada suhu -4°C pada larutan glukosa.

3.3.5 Aplikasi Sensor BOD

3.3.5.1 Penentuan waktu optimum pengukuran BOD

Deteksi waktu tunggu optimum sensor BOD dilakukan dengan menggunakan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) dengan memvariasikan waktu pengukuran selama 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit, dan 25 menit dengan potensial yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.2.6.3 terhadap Ag/AgCl. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s pada oksigen jenuh dalam 5 mL larutan glukosa 0,1 mM pada khamir keadaan *free cell*.

3.3.5.2 Pengukuran plot grafik untuk khamir keadaan *free cell*

Di dalam kontainer sel elektrokimia diisi 4 mL larutan glukosa di dalam kontainer. Larutan glukosa divariasikan konsentrasinya 0,1 mM; 0,3 mM; 0,5 mM; 0,7 mM; dan 0,9 mM. Larutan tersebut dijenuhkan oleh oksigen dengan mengalirkan 2 menit gas nitrogen dan 5 menit gas oksigen. Setelah larutan siap, 1 mL suspensi khamir ditambahkan. Sistem elektrokimia diukur dengan menggunakan teknik MPA pada potensial tertentu terhadap Ag/AgCl pada waktu optimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.5.1. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

3.3.5.3 Pengukuran plot grafik untuk khamir keadaan terimobilisasi

Lapisan imobilisasi dilekatkan pada permukaan elektroda kerja. Di dalam kontainer sel elektrokimia diisi 4 mL larutan glukosa. Larutan glukosa divariasikan konsentrasinya 0,1 mM; 0,3 mM; 0,5 mM; 0,7 mM; dan 0,9 mM. Larutan tersebut dijenuhkan oleh oksigen dengan mengalirkan 2 menit gas nitrogen dan 5 menit gas oksigen. Setelah larutan siap, 1 mL suspensi khamir ditambahkan. Sistem elektrokimia diukur dengan menggunakan teknik MPA pada potensial tertentu terhadap Ag/AgCl pada waktu optimum yang diperoleh dari

percobaan sebelumnya pada point 3.3.5.1. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

3.3.5.4 Pengujian reproduibilitas

Elektroda Au dan BDD-NPAu diuji dalam oksigen jenuh 4 mL glukosa 1 mM pada khamir keadaan *free cell* dan terimobilisasi dalam matriks gelatin dan alginat. Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA dengan *scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s sebanyak lima belas kali.

3.3.5.5 Pengujian Kesetaraan Pengukuran Metode BOD Konvensional dengan Sensor Kimia

Pengujian analisis nilai BOD konvensional dilakukan dengan mengukur nilai oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen/DO*) dari sampel pada hari pertama dan kelima. Sedangkan pengujian sensor kimia menggunakan teknik MPA pada potensial -554 mV dengan waktu optimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.5.1. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan meneliti lebih lanjut dari modifikasi *biosensing* pada biosensor BOD dengan mengimobilisasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam gelatin dan alginat. Selain elektroda emas (Au), elektroda kerja *Boron-Doped Diamond* yang termodifikasi nanopartikel emas (BDD-NPAu) akan digunakan untuk memperoleh sensitivitas yang lebih baik. Penelitian dilakukan dengan mengamati perubahan konsentrasi oksigen yang digunakan oleh *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 untuk melakukan biooksidasi terhadap senyawa organik yang terlarut dalam air. Dalam hal ini glukosa dengan variasi konsentrasi yang berbeda akan digunakan sebagai sampel senyawa organik dalam larutan yang dijenuhkan dengan oksigen. Arus reduksi oksigen sisa yang tidak digunakan oleh mikroorganisme diukur dengan *Multy Pulse Amperometry* (MPA) pada potensial -554 mV.

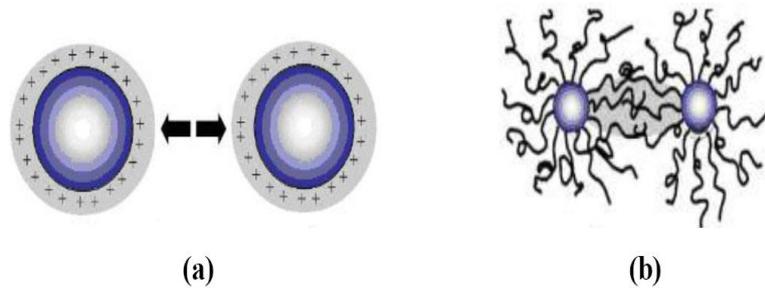
4.1 KOLOID NANOPARTIKEL EMAS

4.1.1 Sintesis Koloid Nanopartikel Emas

Modifikasi permukaan pada sintesis nanopartikel logam sering kali dilakukan untuk memfasilitasi serta menstabilkan partikel sebab ukuran nanometer ini membuat partikel tersebut secara kimia menjadi mudah teragregasi. (Nagarajan, 2008).

Sintesis nanopartikel emas secara kimia diperkenalkan oleh Frens dan Turkevitch dengan mensintesis nanopartikel emas dengan mereduksi HAuCl_4 menggunakan natrium sitrat (Alanazi, 2010). Beberapa ilmuwan mensintesis nanopartikel emas dengan pereduksi yang berbeda seperti natrium borohidrida (Wagner, 2008), timah (II) klorida (Vaskelis, 2007), dan asam askorbat (Sun, 2009). Pada penelitian ini digunakan natrium borohidrida (NaBH_4).

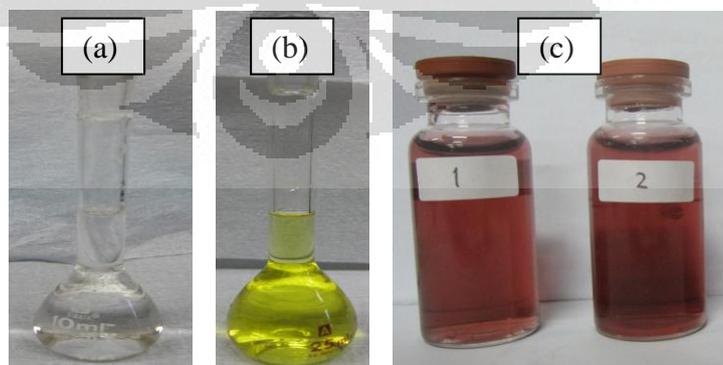
Nanopartikel emas dapat beragregasi sehingga mengurangi luas permukaan. Modifikasi dengan material pendukung bermanfaat menjaga kestabilan nanopartikel emas dan mengontrol ukuran partikel.



Gambar 4.1 Ilustrasi Stabilisasi Nanopartikel (a) Stabilisasi Elektrostik
(b) Stabilisasi Sterik [Dutta, 2004]

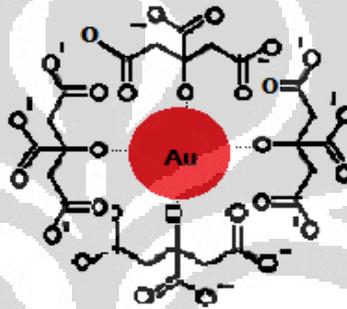
Stabilitas nanopartikel dapat dilakukan dengan dua cara yaitu stabilitas elektrostatis dan stabilitas sterik. Stabilitas elektrostatis dengan adsorpsi ion pada permukaan sehingga membentuk lapisan rangkap listrik (*electrical double layer*) dan menghasilkan gaya tolakan coulomb antar partikel. Stabilitas sterik dengan menyelimuti sekeliling pusat logam oleh material yang *sterically bulky* seperti surfaktan dan polimer (Dutta, 2004).

Pada penelitian ini, sintesis nanopartikel emas dilakukan dengan menambahkan larutan Na-sitrat terlebih dahulu ke dalam larutan HAuCl_4 . Penambahan ini tidak memberikan perubahan warna larutan HAuCl_4 yang berwarna kuning. Tetapi selanjutnya pada penambahan larutan *fresh* NaBH_4 terjadi perubahan warna larutan menjadi merah *ruby* (Gambar 4.2). Penambahan reduktor NaBH_4 akan membuat Au^{3+} tereduksi menjadi Au^0 . Au^0 yang terbentuk tidak saling beragregasi karena setiap partikelnya telah terselubungi oleh ion sitrat membentuk nanopartikel Au yang relatif stabil.



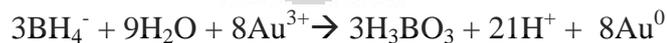
Gambar 4.2 (a) Larutan Sitrat (b) Larutan HAuCl_4
(c) Larutan Koloid Nanopartikel Emas

Pada sintesis nanopartikel emas ini, ion sitrat berperan sebagai zat penstabil (*capping agent*) yaitu memiliki gugus fungsi berupa 3 gugus karboksilat (R-CO-O⁻) dan gugus hidroksi (R-OH). Peranan gugus fungsi pada zat penstabil sangat penting karena partikel Au yang telah direduksi berikatan dengan gugus fungsi pada ion sitrat yaitu gugus hidroksi sehingga permukaan partikel Au diselubungi oleh ion-ion sitrat yang bermuatan negatif dan dapat mencegah terjadinya agregasi akibat dari gaya tolak – menolak. Gambar 4.3 merupakan ilustrasi interaksi kimia antara nanopartikel Au dengan molekul – molekul ion sitrat.



Gambar 4.3 Ilustrasi Interaksi Nanopartikel Au dengan Ion Sitrat

Sintesis nanopartikel logam dapat dilakukan melalui reaksi reduksi ion logam dengan menggunakan NaBH₄ yang berfungsi sebagai pendonor pasangan elektron. NaBH₄ merupakan reduktor kuat yang memiliki kemampuan mereduksi dengan cepat sehingga diperoleh bentuk nanopartikel dengan ukuran lebih kecil. Reaksi reduksi oksidasi yang terjadi adalah:



4.1.2 Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan Spektrofotometer

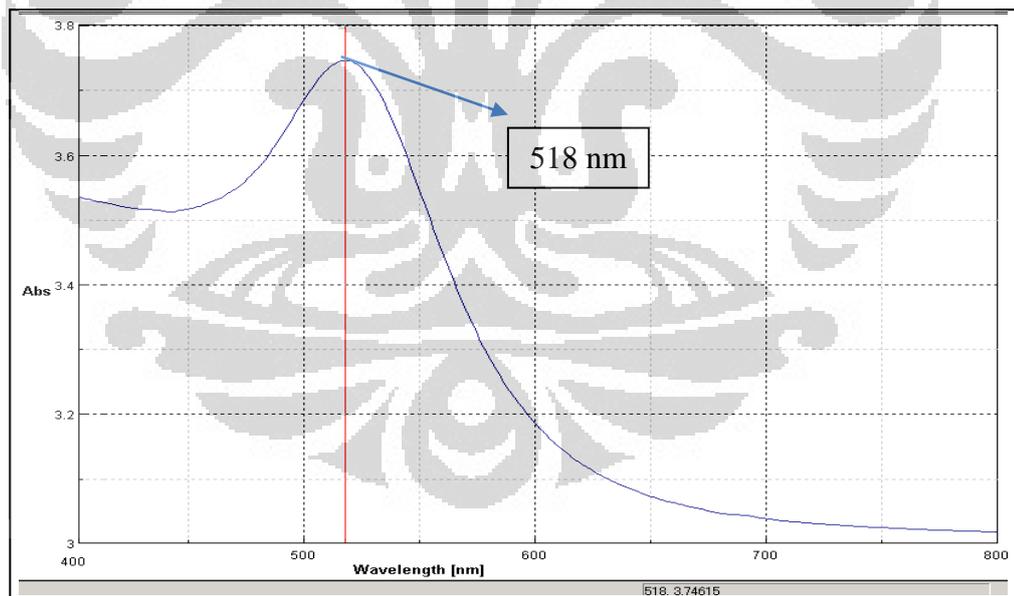
UV-Visible

Nanopartikel emas memiliki warna yang bervariasi dari merah ke ungu tergantung pada ukuran partikel dalam skala nano. Pita absorbansi yang jelas pada daerah *visible* menghasilkan warna merah. Warna ini timbul sebagai hasil

frekuensi pita plasmon emas yang menyerap kuat cahaya hijau pada panjang gelombang 520 nm dan memantulkan cahaya merah (Cortie, 2004).

Pita plasmon absorpsi mudah dipengaruhi oleh ukuran, lingkungan, dan jarak antara partikel. Ketika ukuran partikel menurun, menandakan radius atom juga menurun, sehingga elektron semakin terkurung. Hal ini mengakibatkan *band gap* energi meningkat karena elektron susah untuk berpindah dan juga membutuhkan energi yang sangat besar, sehingga terjadi pergeseran λ_{\max} menjadi lebih kecil. Nilai absorbansi yang besar menunjukkan bahwa jumlah sinar yang terabsorpsi oleh nanopartikel lebih banyak dibandingkan dengan yang ditransmisikan (Zul, 2012). Oleh karena itu, nilai absorpsi dan λ_{\max} dapat digunakan sebagai analisis kualitatif untuk mengetahui ukuran dan bentuk nanopartikel emas.

Karakterisasi koloid nanopartikel emas menggunakan spektrofotometer UV-*Visibel* pada selang panjang gelombang 400 – 800 nm. Panjang gelombang pada absorbansi maksimum (λ_{\max}) mengindikasikan ukuran nanopartikel emas yang terbentuk.



Gambar 4.4 Kurva Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Koloid Nanopartikel Emas dengan Spektrofotometer UV-*Visible*

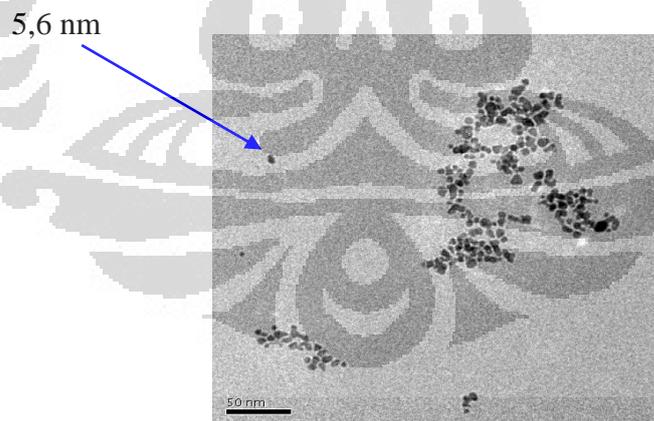
Karakterisasi ini dilakukan pada daerah spektra ultraviolet dan *visible*. Karakterisasi ini untuk mengetahui ukuran nanopartikel yang terbentuk, maka diamati panjang gelombang maksimum pada daerah *visible*. Dari Gambar 4.4

diperoleh serapan maksimum terjadi pada panjang gelombang 518 nm dengan nilai absorbansi 3,746.

4.1.3 Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan *Transmission Electron Microscopy*

Transmission Electron Microscopy (TEM) memberikan informasi visual dari ukuran, bentuk, dispersitas, struktur, dan morfologi dari nanopartikel emas yang dibuat. Karakteristik kuantitatif secara mikroskop nanopartikel emas yang terbentuk tampak membentuk kelompok atau agregasi yang ukurannya tidak seragam. Ukuran agregasi terkecil sekitar 64,5 nm. Natrium sitrat hanya dapat menstabilkan nanopartikel emas melalui stabilitas elektrostatik antara ion sitrat dengan nanopartikel emas. Adsorpsi muatan negatif dari ion sitrat masih memungkinkan terjadinya agregasi pada larutan koloid nanopartikel emas.

Pengukuran dengan TEM mempunyai beberapa kelemahan di antaranya sampel dikeringkan dan diuji di bawah kondisi vakum yang tinggi, sehingga dapat membatasi jumlah partikel yang diuji. Sinar elektron yang digunakan memungkinkan terjadi penyusunan kembali struktur, agregasi, dan dekomposisi nanopartikel (Yulizar, 2004).



Gambar 4.5 Hasil Foto TEM Nanopartikel Emas

4.1.4 Karakterisasi Koloid Nanopartikel Emas dengan *Particle Size Analyzer*

Karakterisasi kuantitatif untuk mengetahui ukuran diameter dan distribusi nanopartikel emas dalam sampel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Karakteristik ini berdasarkan perbedaan kecepatan penghamburan fluktuasi intensitas sinar laser oleh partikel karena partikel berdifusi melalui fluida selama pengukuran analisis berlangsung. Prinsip kerja alat ini adalah gerak Brown partikel pada sampel dengan prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS) yang kemudian diinterpretasikan ukurannya dengan *software*. Gerak Brown merupakan gerak acak pada partikel dalam cairan yang disebabkan tumbukan antara molekul di sekitarnya. Partikel berukuran kecil akan bergerak lebih cepat dibandingkan partikel berukuran besar.

Dari data PSA pada lampiran 7, terdapat adanya dua puncak yang menunjukkan terbentuknya nanopartikel dengan ukuran di bawah 100 nm. Puncak pertama menunjukkan bahwa ukuran nanopartikel emas dalam larutan adalah sekitar $5,8 \pm 1,3$ nm dan ukuran nanopartikel emas pada puncak kedua adalah sekitar $48,3 \pm 16,2$ nm. Berdasarkan % volume yang dihasilkan, pada puncak pertama diperoleh 13,3 % dan puncak kedua 64,17 %. Semakin besar nilai % volum, maka semakin tinggi homogenitas nanopartikel pada larutan tersebut. Pada penelitian ini, nanopartikel yang dihasilkan berukuran besar dan kurang homogen.

4.2 FABRIKASI ELEKTRODA BDD-NPAu

4.2.1 Pembersihan Elektroda BDD

Proses dasar reaksi elektrokimia melibatkan kinetika proses yang dipengaruhi oleh mikrostruktur, kekasaran (*roughness*) dari permukaan elektroda. Oleh karena itu diperlukan suatu perlakuan awal untuk menghilangkan pengotor yang teradsorpsi pada permukaan elektroda agar tidak mengganggu proses transfer elektron dan diharapkan dapat menghasilkan elektroda yang *reproducible* (Foliatini, 2005).

Banyak metode yang digunakan untuk membersihkan permukaan elektroda, antara lain secara mekanik dengan melakukan *polishing* (pengamplasan), pembersihan kimia dengan perendaman dengan HNO_3 , dan pembersihan secara elektrokimia dengan metode voltametri H_2SO_4 .

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode pembersihan secara mekanik. Pembersihan elektroda BDD diawali dengan pembersihan secara mekanik yaitu dengan cara mengamplas pada sisi belakang permukaannya untuk menambah daya hantar pada elektroda tersebut. Pembersihan selanjutnya dengan cara sonikasi di dalam 2-propanol dan akuademin masing – masing selama 10 menit. Sonifikasi membuat molekul – molekul pengotor yang masih terjebak baik di permukaan maupun di dalam pori – pori elektroda bervibrasi sehingga lepas dari permukaan elektroda. Pemilihan 2-propanol dan aquademin berdasarkan perbedaan sifat kepolarannya. 2-propanol memiliki sifat non-polar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan pengotor yang bersifat non-polar, sedangkan akuademin memiliki sifat polar sehingga dapat digunakan untuk melarut pengotor yang bersifat polar. Elektroda BDD yang telah dibersihkan ini kemudian dikeringkan dengan mengalirkan gas nitrogen dan diukur hambatannya. Hambatan dari elektroda BDD ini sebesar 1,0 Ω . Hambatan perlu diukur karena hambatan yang terlalu besar dapat menghambat proses transfer elektron.

4.2.2 Aktivasi Permukaan Elektroda BDD

Emas menyukai gugus – gugus yang mengandung unsur N atau S, sedangkan sifat dari ujung permukaan elektroda BDD yang berupa gugus hidrogen tidak reaktif untuk membuat nanopartikel emas menempel. Pada tahapan ini elektroda BDD diaktivasi dengan cara direndam dalam allilamin dan diradiasi di bawah sinar UV ($\lambda = 254$ nm) selama 6 jam. Dengan demikian, gugus amina ($-NH_2$) diharapkan dapat menempel pada permukaan elektroda dan meningkatkan kereaktifan BDD terhadap nanopartikel emas melalui interaksi elektrostatik antara gugus amina dan ion sitrat-nanopartikel emas yang bermuatan negatif (Ru-hai, 2007).

4.2.3 Modifikasi Elektroda BDD dengan Nanopartikel Emas

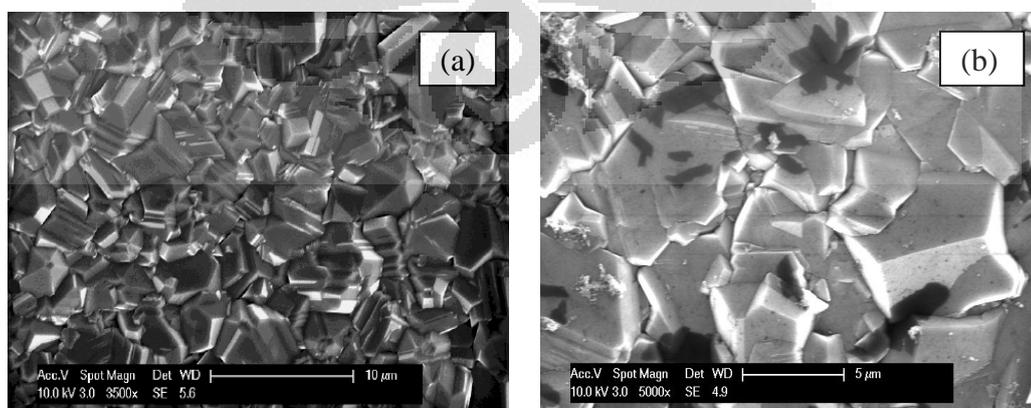
Modifikasi elektroda BDD dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda yang sudah diaktivasi ke dalam koloid nanopartikel emas dimana gugus amina yang menempel pada permukaan elektroda diharapkan dapat menarik nanopartikel emas untuk membentuk suatu monolayer melalui teknik *self-assembly*. *Self Assembled Monolayer* (SAM) merupakan salah satu metode untuk memodifikasi

permukaan elektroda yang kian diminati dan terus diaplikasikan untuk berbagai tujuan analisis. Hal ini dikarenakan SAM mudah terbentuk dan cenderung membentuk *monolayer* yang sangat stabil (Wijaya, 2008).

4.2.4 Karakterisasi BDD-NPAu dengan *Scanning Electron Microscopy*

Karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) bertujuan untuk mengetahui bentuk morfologi lapisan permukaan dan memperkirakan ukuran partikel. SEM memanfaatkan kondisi vakum dan menggunakan elektron berenergi tinggi untuk menghasilkan *image*, maka persiapan khusus harus diperlakukan pada sampel. Elektron yang diamati pada SEM bukan elektron yang berasal dari sinar elektron yang dipancarkan (elektron primer), tetapi elektron yang berasal dari dalam objek yang diamati (elektron sekunder). Permukaan objek harus bersifat konduktif (dapat menghantarkan elektron) agar elektron yang menumpuk dapat dialirkan.

Pada penelitian ini dilakukan perbandingan BDD sebelum dan sesudah dimodifikasi oleh nanopartikel emas. Dari gambar 4.6, tidak dapat terlihat adanya nanopartikel emas yang menempel pada permukaan elektroda BDD karena pembesaran SEM yang masih kurang. Konduktivitas emas yang baik, menghasilkan hasil foto SEM tampak lebih terang. Pembuktian lebih lanjut adanya ikatan antara gugus – gugus terminal BDD dengan nanopartikel emas dibuktikan pada pengukuran selanjutnya dengan instrumentasi XPS (*X-ray Photoelectron Spectroscopy*).



Gambar 4.6 Hasil Foto SEM Pembesaran 3500x dan 5000x, 10 kV pada
(a) Permukaan Elektroda BDD Tanpa Modifikasi Nanopartikel Emas

(b) Permukaan Elektroda BDD dengan Modifikasi Nanopartikel Emas

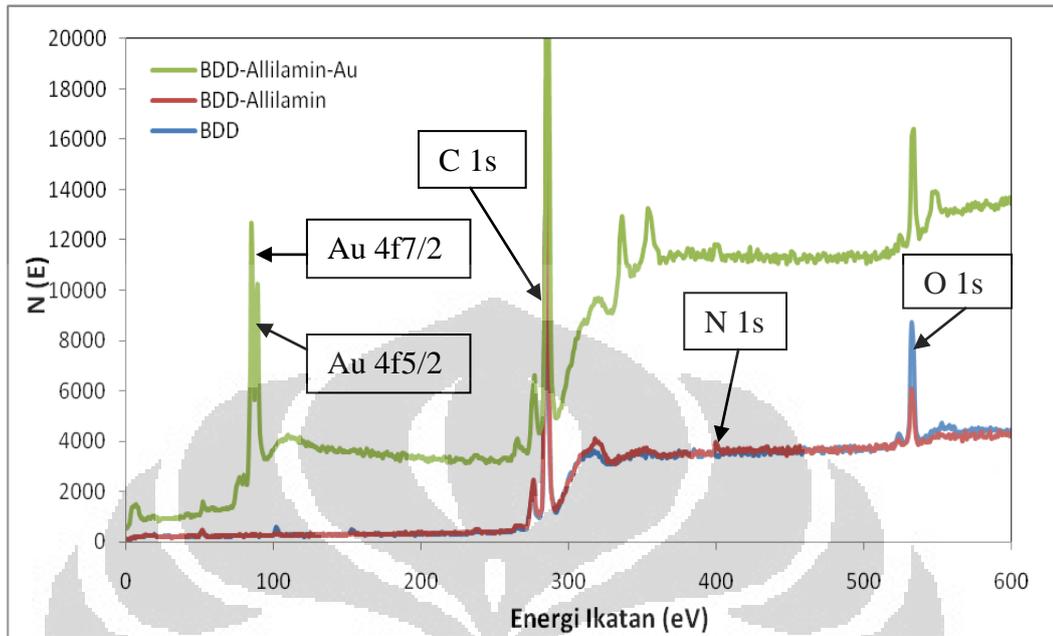
4.2.5 Karakterisasi BDD-NPAu dengan *X-ray Photoelectron Spectroscopy*

X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) merupakan instrumentasi spektroskopi yang didasari oleh adanya interaksi sinar X dengan sampel yang menghasilkan efek fotolistrik dan perangkat pemisahan beresolusi tinggi dari berbagai *ejected electron*. Nilai energi kinetik yang diukur dari setiap *ejected electron* dapat dikorelasikan dengan energi ikat elektron dari elemen penyusun sampel. XPS dapat digunakan untuk mengkarakterisasi struktur elektronik pada berbagai sistem keadaan padat maupun cair (dalam bentuk sel), melalui analisis energi ikat elektron kulit dalam sampai elektron valensinya. Penggunaan teknik ini telah meluas tidak hanya untuk mempelajari karakter permukaan secara kualitatif, tetapi juga secara kuantitatif. Secara kuantitatif teknik ini biasanya digunakan untuk menentukan komposisi elemen dan keadaan tingkat oksidasinya. Teknik ini juga dikenal sebagai metode *Electron Spectroscopy for Chemical Analysis* (ESCA). Penggunaan alat ini tidak hanya untuk analisis secara makroskopis, tetapi lebih pada skala mikroskopis (Marcus, 2000).

Nilai energi ikat ditentukan oleh beberapa faktor di antaranya adalah asal kulit orbital dan tingkat oksidasi unsur yang diukur, keelektronegatifan relatif terhadap unsur lain yang berikatan, efek elektronik dari kopling spin – orbit, keadaan final, dan penyebaran elektron (Yulizar, 2004).

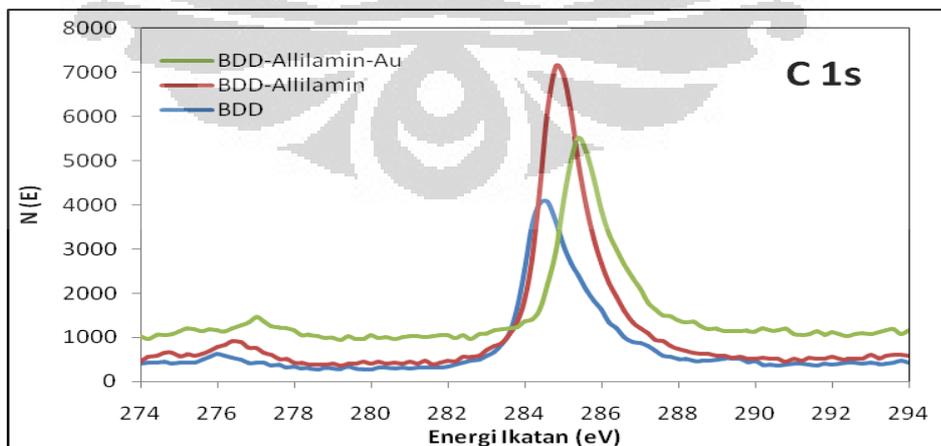
Sumber energi foton yang digunakan dalam XPS sangat besar, sehingga mampu mengakibatkan terlempar keluarnya elektron pada kulit orbital bagian tengah maupun bagian paling dalam (*core* atau sebelah dalam). Variasi besarnya nilai energi ikat elektron bagian dalam dan tengah memiliki kaitan dengan pembentukan dan pemutusan ikatan kimia yang melibatkan elemen tersebut. Oleh karena itu dinamika energi ikat elektron bagian dalam dan tengah ini merupakan sifat khas keadaan kimiawi suatu atom. Nilai energi ikat elektron bagian dalam dan tengah dipengaruhi oleh keadaan ikatan elemen tersebut, sehingga adanya pembentukan ikatan yang berbeda akan mengakibatkan adanya perubahan nilai energi ikat elektron dalam dan pada spektrum energinya muncul sebagai pergeseran puncak serapan (Robert, 1991). Sumber foton dalam XPS

biasanya merupakan sinar $X Al_{k\alpha}$ atau $Mg_{K\alpha}$. Pada penelitian ini digunakan sinar $X Al_{k\alpha}$.



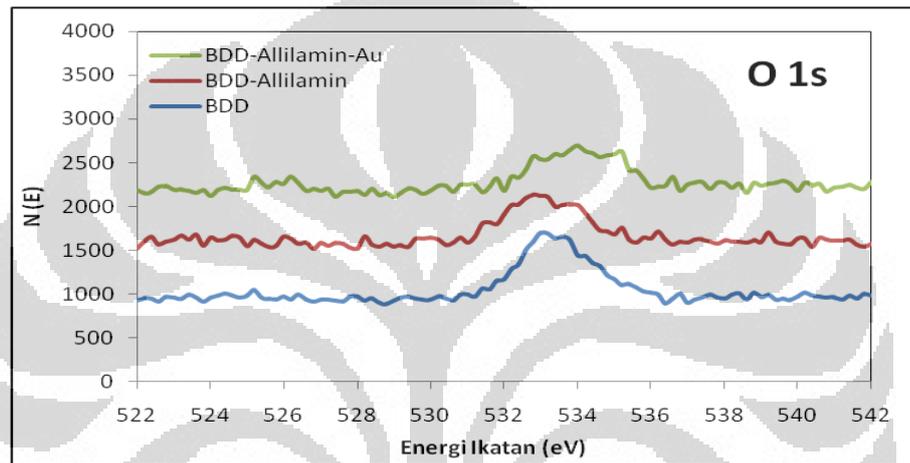
Gambar 4.7 Data Hasil XPS

Gambar 4.7 menunjukkan distribusi dari elemen yang berbeda pada permukaan BDD sebelum direndam oleh allilamin (BDD), BDD setelah direndam oleh allilamin (BDD-allilamin), dan BDD yang termodifikasi oleh nanopartikel emas (BDD-Allilamin-Au). Puncak C 1s mempunyai intensitas yang tinggi dibandingkan dengan puncak-puncak yang lain, karbon merupakan penyusun utama dalam BDD.



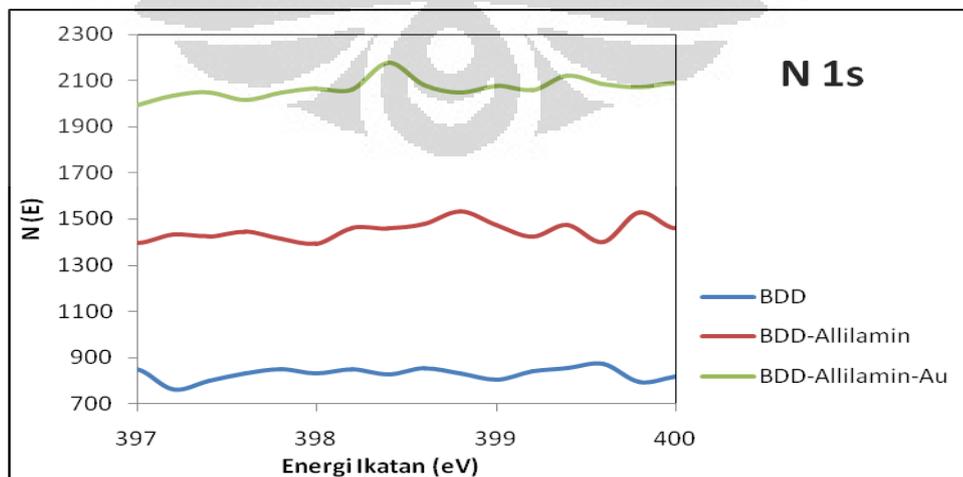
Gambar 4.8 Data Hasil XPS Spektrum C 1s

Puncak C 1s yang muncul dari sampel BDD berpusat pada 284,6 eV , sedangkan puncak C 1s pada sampel BDD – allilamin (modifikasi BDD dengan allilamin) muncul pada 284,8 eV. Pada sampel yang telah dimodifikasi dengan allilamin maka puncak C 1s didominasi oleh karbon dari allilamin, karenanya diamati pergeseran ke arah energi ikat yang lebih besar, sebagai akibat dari terbentuknya ikatan kovalen antara karbon dari BDD dengan gugus vinil dari allilamin. Namun, setelah berikatan dengan nanopartikel emas, spektra C 1s mengalami sedikit penurunan intensitas dan bergeser ke 285,6 eV.



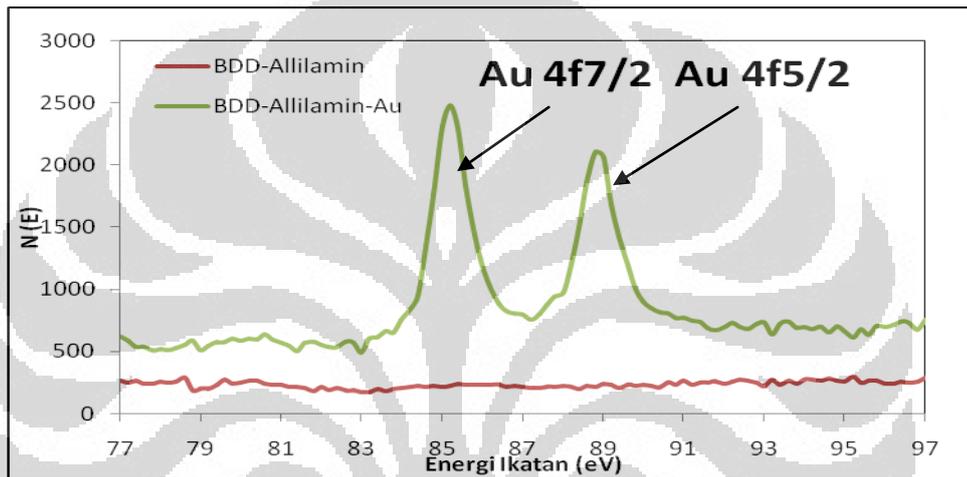
Gambar 4.9 Data Hasil XPS Spektrum O 1s

Intensitas puncak O 1s yang lemah berpusat pada 532,8 eV. Keberadaan oksigen merupakan sedikit kontaminan pada permukaan BDD. Akibat pengaruh penambahan allilamin membentuk spektra yang melebar dan semakin melebar pada saat penambahan nanopartikel emas.



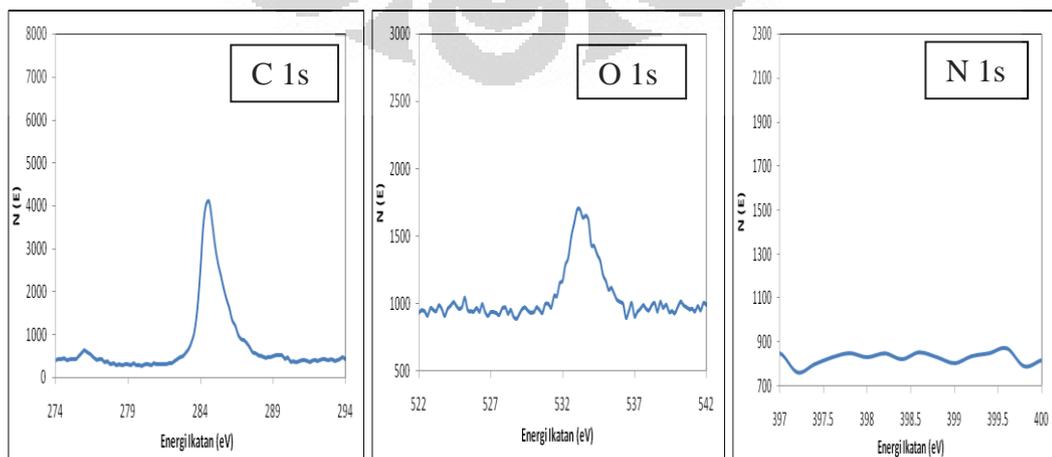
Gambar 4.10 Data Hasil XPS Spektrum N 1s

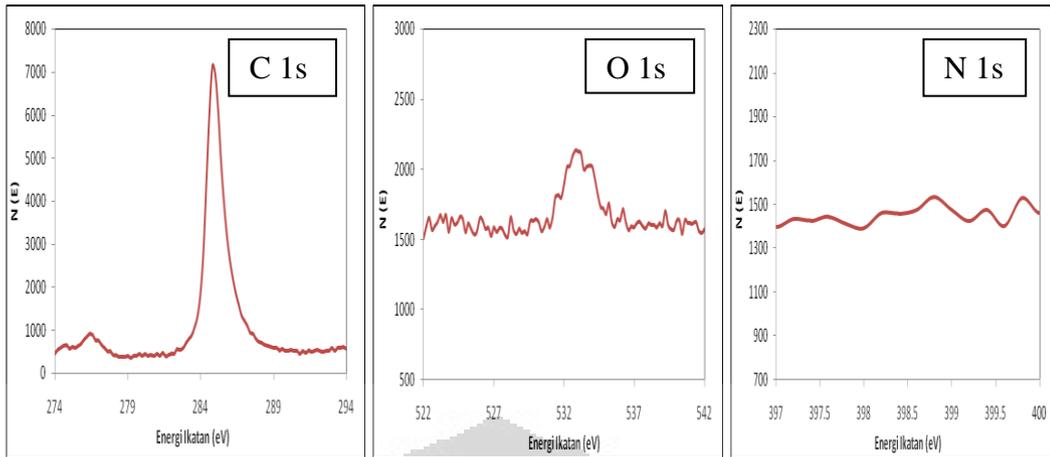
Setelah aktivasi permukaan BDD dengan allilamin, terdeteksi puncak N 1s berpusat pada 399,6 eV sebagai nitrogen terminal pada ujung – ujung permukaan BDD. Hal ini membuktikan bahwa molekul allilamin sudah berikatan pada permukaan BDD. Namun, setelah BDD termodifikasi nanopartikel emas, puncak N 1s bergeser lebih rendah ke 389,4 eV, energi ikatan dan kekuatan signal N 1s mengalami sedikit penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan non-bonding dari N tidak terikat baik dengan atom emas, tetapi lebih kecenderungan berinteraksi dengan ion sitrat.



Gambar 4.11 Data Hasil XPS Spektrum Au 4f7/2 dan Au 4f5/2

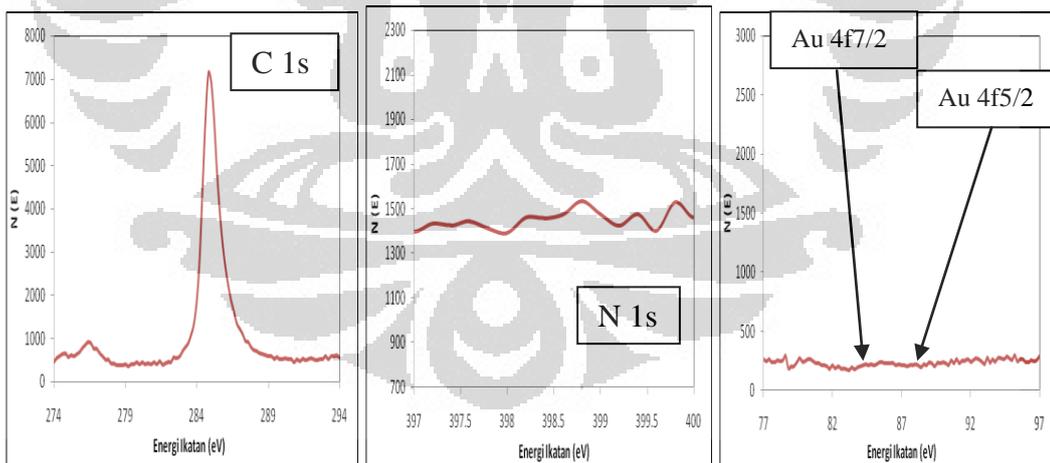
Pengikatan energi dari Au 4f7/2 dan Au 4f5/2 yang masing-masing berpusat pada 85,2 eV dan 88,8 eV ternyata sedikit lebih tinggi dari Au⁰, fenomena ini terjadi karena permukaan nanopartikel emas tertutupi ion sitrat.

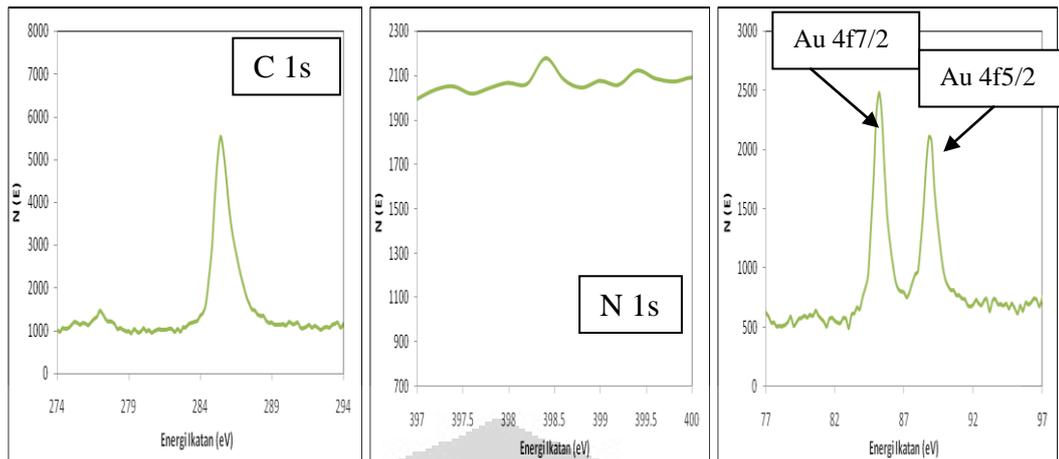




Gambar 4.12 Data Hasil XPS: BDD Sebelum Diredam Allilamin (biru);
BDD Sesudah Diredam Allilamin (merah)

Adanya perubahan ujung – ujung terminal permukaan BDD sebelum dan sesudah diaktivasi dengan allilamin ditunjukkan dari hasil XPS (Gambar 4.12). Kenaikan rasio N/C dari 0 menjadi 0,01. Sedangkan data rasio O/C mengalami penurunan dari 0,3 menjadi 0,1. Beberapa gugus allilamin menggantikan posisi oksigen pada permukaan BDD.





Gambar 4.13 Data Hasil XPS: BDD Sebelum Diredam Koloid Nanopartikel Emas (merah); BDD Sesudah Diredam Koloid Nanopartikel Emas (hijau)

Berdasarkan hasil XPS (Gambar 4.13), dapat dibuktikan adanya perubahan ujung – ujung terminal permukaan BDD sebelum dan sesudah dimodifikasi dengan nanopartikel emas – sitrat. Penurunan rasio N/C dari 0,01 menjadi 0,005. Rasio Au/C mengalami kenaikan dari 0 menjadi 0,289. Nanopartikel emas – sitrat menggantikan posisi nitrogen terminal pada permukaan BDD.

4.2.6 Karakterisasi Elektroda BDD-NPAu secara Elektrokimia

Pada penelitian ini digunakan sel elektrokimia dengan menggunakan sistem tiga elektroda. Ag/AgCl (KCl jenuh) digunakan sebagai elektroda pembanding, platina dalam bentuk kawat (*wire*) sebagai elektroda pendukung, elektroda Au dan BDD-NPAu sebagai elektroda kerja.

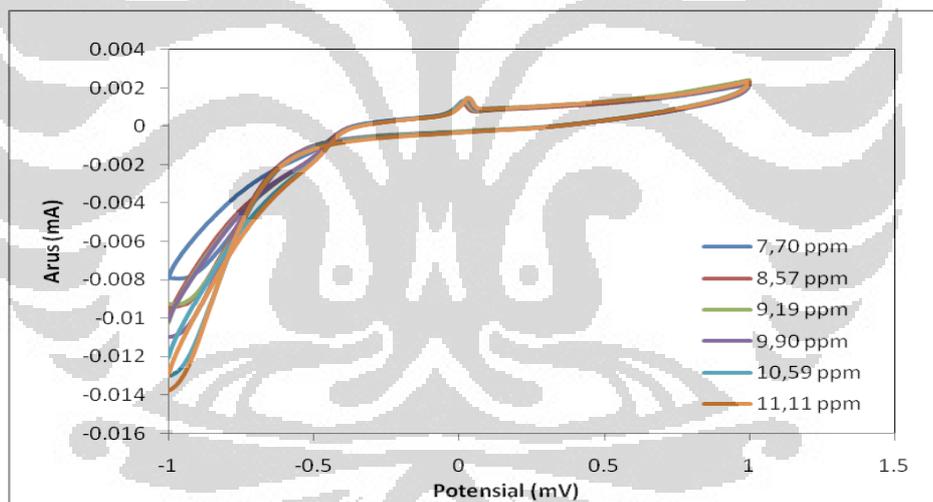
Hasil dari pengukuran secara *cyclic voltammetry* berupa voltamogram. Bentuk yang spesifik dan dipengaruhi oleh variabel analit pada potensiostat yang digunakan sebagai dasar analisis. Tinggi puncak arus akan memberikan informasi kuantitatif sedangkan potensial tempat terjadinya puncak arus tersebut memberikan informasi yang bersifat kualitatif. Tajamnya bentuk puncak pada voltamogram akan mempengaruhi keakuratan pengukuran tinggi arus. Puncak arus yang terbentuk pada voltamogram adalah representatif pergerakan elektron yang berkala dari reaksi yang terjadi di permukaan elektroda (Foliatini, 2005).

4.2.6.1 Penentuan potensial reduksi oksigen

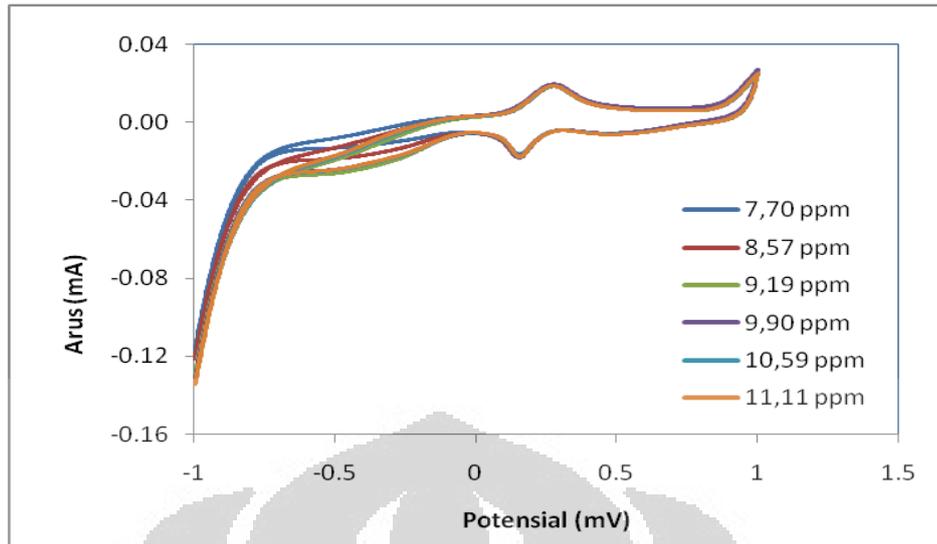
Potensial yang akan ditentukan adalah nilai potensial reduksi dari oksigen sehingga arus yang diamati adalah arus katodik. Potensial reduksi dari oksigen dapat ditentukan dari nilai puncak katodik pada *cyclic voltammetry*. Puncak katodik merupakan puncak yang terbentuk saat terjadi arus reduksi paling negatif.

Potensial divariasikan secara sistematis sehingga zat kimia tersebut mengalami reduksi dan oksidasi pada permukaan elektroda. Arus diukur selama *scanning* (penyapuan) potensial dari potensial awal -1000 mV ke potensial akhir +1000 mV dengan *scan rate* 100 mV/s untuk mendapatkan arus anodik dan kembali ke potensial awal lagi untuk mendapatkan arus katodik.

Gambar 4.14 dn 4.15 adalah voltamogram yang menunjukkan hubungan antara arus reduksi terhadap variasi konsentrasi oksigen terlarut dalam buffer fosfat pH 7 yang dialiri gas nitrogen 30 detik dan variasi waktu aliran gas oksigen setiap selang waktu 2 detik pada elektroda Au dan elektroda BDD-NPAu terhadap Ag/AgCl.



Gambar 4.14 Voltamogram Larutan Oksigen (Elektroda BDD-NPAu)



Gambar 4.15 Voltamogram Larutan Oksigen (ElektrodaAu)

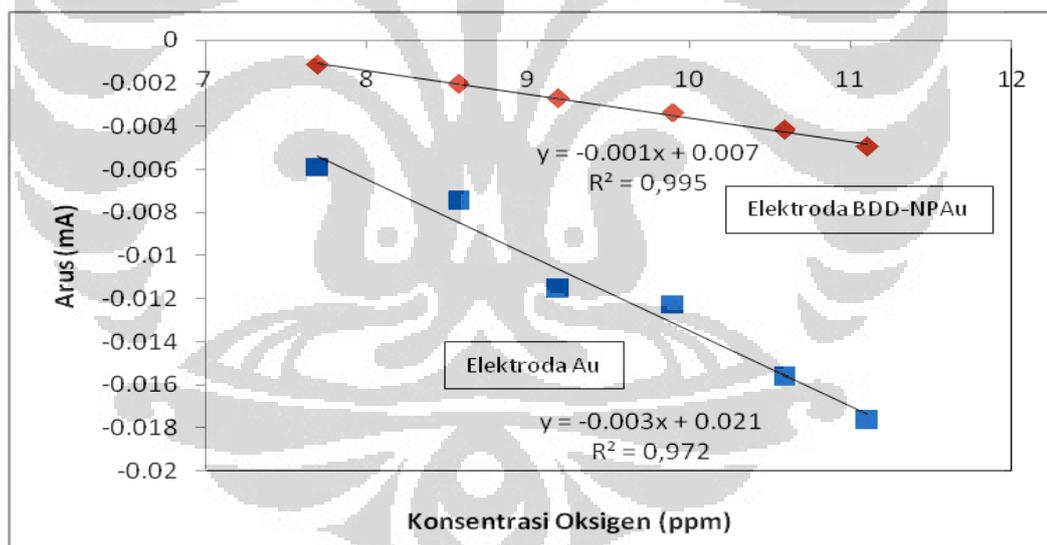
Dasar dari analisa dari *cyclic voltammetry* terdapat pada voltamogramnya. Tinggi puncak arus akan memberikan informasi kuantitatif sedangkan potensial tempat terjadinya puncak arus memberikan informasi yang bersifat kualitatif. Tajamnya bentuk puncak pada voltamogram akan mempengaruhi keakuratan pengukuran tinggi arus. Dengan fakta tersebut maka stabilnya nilai potensial tempat terjadinya arus, tinggi puncak arus, dan tajamnya bentuk puncak arus menjadi pertimbangan penentuan voltamogram yang optimal (Juliana, 2006).

Voltamogram di atas ini menunjukkan bahwa baik elektroda BDD-NPAu dan Au memiliki sensitivitas terhadap oksigen. Voltamogram menunjukkan hubungan antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen terlarut. Pertambahan nilai konsentrasi oksigen yang terlarut dalam larutan juga ditentukan dengan menggunakan DO meter. Adanya korelasi yang kuat dengan semakin tinggi konsentrasi oksigen menyebabkan bertambahnya kuat arus reduksi yang dibutuhkan. Semakin bertambahnya akumulasi waktu aerasi atau aliran oksigen memperlihatkan semakin negatifnya kuat arus reduksi. Ini menandakan bahwa konsentrasi oksigen terlarut dalam buffer fosfat proporsional dengan kuat arus reduksi yang dibutuhkan. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Yu (2008).

Pada penelitian ini dipilih potensial reduksi untuk sensor oksigen -554 mV dan digunakan pada pengukuran amperometri untuk selanjutnya melihat

hubungan variasi konsentrasi glukosa dengan kuat arus pada keadaan larutan yang dijenuhkan dengan oksigen. Amperogram yang dihasilkan merupakan fungsi dari waktu terhadap kuat arus, sedangkan nilai potensial dibuat tetap.

Emas merupakan elektroda yang sensitif untuk pengukuran oksigen. Namun, *bulk* emas memiliki beberapa keterbatasan, seperti arus *background* yang tinggi dan mudah berubah menjadi tidak aktif. BDD merupakan elektroda yang memiliki sifat yang sangat baik dalam elektrokimia seperti daerah potensial yang lebar, arus *background* yang rendah, ultra-stabilitas dan biokompatibel (Ru-hai, 2006). Nanopartikel emas dapat digunakan untuk memodifikasi elektroda BDD dengan memanfaatkan karakter nanopartikel emas yang bersifat biokompatibel, katalitik yang stabil, dan teraplikasi dalam berbagai nanoteknologi (Daniel, 2004). Nanopartikel emas mempunyai luas permukaan yang lebih besar dibandingkan emas dalam bentuk *bulk*, sehingga lebih sensitif terhadap pengukuran oksigen.



Gambar 4.16 Plot Grafik antara Variasi Konsentrasi Oksigen terhadap Arus pada Elektroda Au dan Elektroda BDD-NPAU

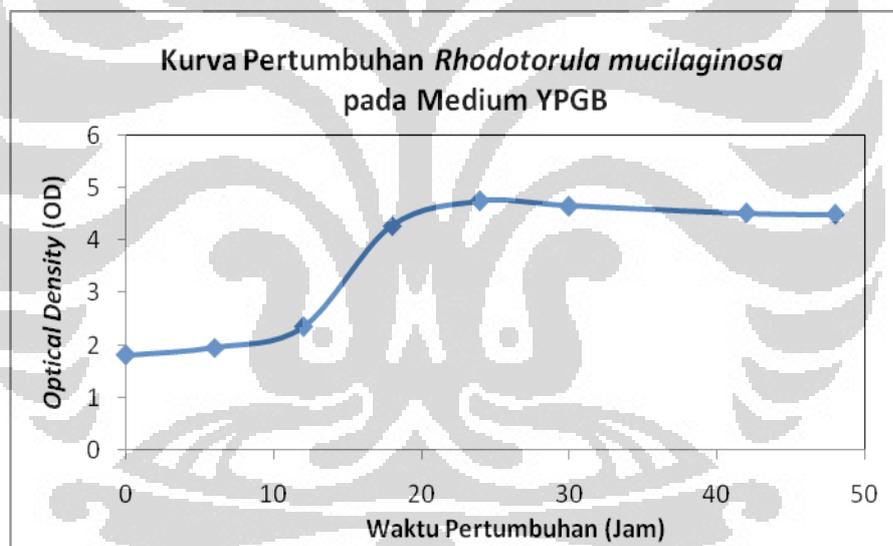
Dengan melihat data plot grafik di atas, ternyata lebih sensitif pengukuran variasi konsentrasi oksigen pada elektroda emas dibandingkan dengan menggunakan elektroda BDD-NPAu. Walaupun elektroda BDD-NPAu memiliki linieritas yang baik yaitu 0,995. Hal ini karena kurangnya optimalisasi dalam fabrikasi modifikasi BDD dengan nanopartikel emas.

4.4 PREPARASI SEL KHAMIR

4.4.1 Penentuan Kurva Pertumbuhan Khamir

Penentuan waktu optimum pertumbuhan mikroorganisme dilakukan menggunakan metode *Optical Density* (OD) dengan Spektrofotometer *Spectronic* 20 pada panjang gelombang 600 nm. Hasil dari penentuan kurva pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* pada medium YPGB dapat dilihat pada Gambar 4.17 Fase lag terjadi pada saat 0 – 12 jam, fase eksponensial atau fase logaritmik terjadi pada saat 12 – 24 jam, memasuki 30 jam mikroorganisme memasuki fase stasioner, dan terakhir adalah fase kematian.

Memasuki fase stasioner, mikroorganisme mengalami pertumbuhan yang optimum, sehingga pada penelitian ini digunakan waktu tersebut dalam pertumbuhan mikroorganisme, yaitu pada jam ke-24.



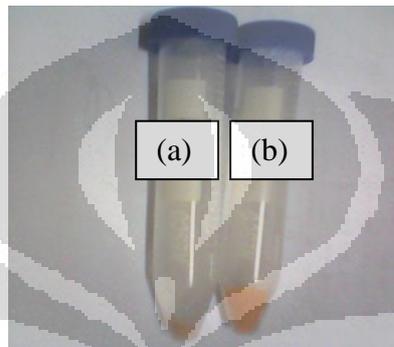
Gambar 4.17 Kurva Pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

4.4.2 Pemilihan Media Pertumbuhan Khamir

Waktu pemanenan biomassa khamir diketahui berdasarkan hasil pembuatan kurva pertumbuhan. Masa transisi antara fase log dan fase stasioner merupakan waktu yang tepat untuk pemanenan biomassa (Gandjar, 2006).

Perbedaan kecepatan pertumbuhan dan jumlah sel yang dihasilkan menunjukkan *Rhodotorula mucilaginosa* tumbuh lebih baik pada medium *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPGB) dibandingkan pada medium *Yeast-extract Malt-*

extract Broth (YMB). Hal tersebut berkaitan dengan perbedaan komposisi medium. Pembuatan YMB (YMA tanpa agar) dengan komposisi *yeast extract* 0,6 %; *malt extract* 0,6 %; pepton 1 %; dan glukosa 2 %. Medium YPGGB mengandung *yeast extract* 0,5 %; pepton 0,5 %; dan glukosa 4 % (Yarrow, 1998). Komposisi YPGGB yang lebih sederhana menyebabkan pertumbuhan sel khamir lebih cepat (Bhosale, 2001). Diperoleh biomassa khamir 1,04 g pada medium YMB dan 4,23 g pada medium YPGGB dari 50 mL larutan medium.



Gambar 4.18 (a) Biomassa *Rhodotorula mucilaginosa* pada Medium YMB

(b) Biomassa *Rhodotorula mucilaginosa* pada Medium YPGGB

Ketersediaan sumber karbon pada medium YMB yang lebih sedikit mengakibatkan pertumbuhan sel khamir terhambat dan jumlah sel yang dihasilkan sedikit. Glukosa sebagai sumber karbon merupakan salah satu elemen utama dalam pembentukan dan pertumbuhan sel khamir secara struktural dan fungsional (Walker, 1998).

4.4.3 Penentuan Jumlah Sel Khamir yang Digunakan dengan Metode Kamar Hitung (*Counting Chamber*)

Pada penentuan ini, setetes suspensi sel hasil biakan yang telah mengalami pengenceran 100 x dan 1000x ditempatkan pada kamar hitung (*counting chamber*) dan jumlah sel dapat ditentukan secara langsung dengan bantuan mikroskop. Jumlah total sel dihitung per mL suatu suspensi. Alat kamar hitung ini terbuat dari gelas dengan permukaan bagian atas terukir kotak bujur sangkar yang terbagi dalam petak-petak kecil dengan kedalaman petak 0,1 mm. Pada penentuan jumlah sel khamir ini diperoleh jumlah sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

sebanyak $1,35 \times 10^9$ sel/mL. Jumlah suspensi sel yang digunakan adalah 1 mL, maka sel khamir yang digunakan dalam sensor BOD adalah $1,35 \times 10^9$ sel/mL.

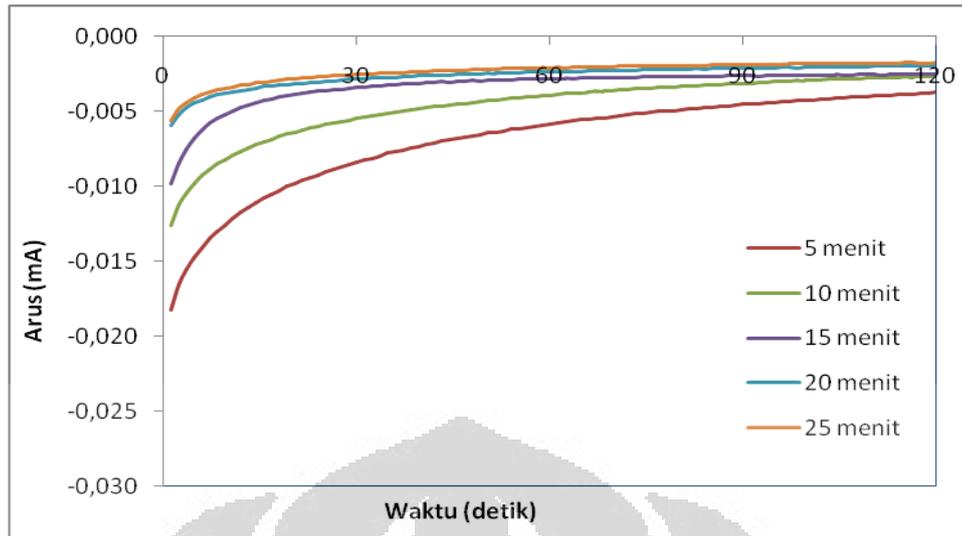
4.5 APLIKASI SENSOR BOD

4.5.1 Penentuan Waktu Optimum Sensor BOD

Pada sistem sensor ini diamati oksidasi elektrokimia glukosa dalam larutan buffer fosfat pH 7. Larutan buffer fosfat dapat meningkatkan efektifitas pertukaran elektron dalam sistem sensor kimia dan menjaga keseimbangan pH yang mendukung proses aktivitas mikroorganisme agar tetap berlangsung selama pengukuran BOD. Glukosa adalah jenis senyawa organik utama yang dikonsumsi oleh khamir jenis *Rhodotorula mucilaginosa*. Larutan glukosa digunakan karena selain telah diketahui kesetaraan konsentrasi glukosa dengan BOD (Miller and Miller 1993), larutan glukosa memberikan repon arus yang sangat signifikan dibandingkan dengan substrat organik lain (Wu, 1999).

Sensor BOD tidak dapat digunakan secara langsung karena sel khamir membutuhkan waktu untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya dan membutuhkan waktu untuk mengkonsumsi oksigen yang terlarut dalam sistem. Konsentrasi oksigen perlahan – lahan akan berkurang. Sistem elektrokimia akan mendeteksi penurunan konsentrasi oksigen dalam larutan yang nilainya ekuivalen dengan besarnya glukosa yang berkurang dalam larutan (Wang, 2000). Sehingga diperlukan penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD. Hal ini dilakukan karena pada waktu tersebut khamir telah optimum menggunakan oksigen untuk mendegradasi senyawa organik dalam larutan.

Penentuan waktu optimum sensor BOD dilakukan dengan memvariasikan waktu pengukuran yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25 menit. Pengukuran dilakukan dengan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) pada potensial -554 mV (vs Ag/AgCl). Gambar 4.19 menunjukkan waktu pengukuran sensor BOD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan didapat waktu optimum pengukuran sensor BOD pada waktu 20 menit.



Gambar 4.19 Amperogram Penentuan Waktu Optimum Pengukuran Sensor BOD

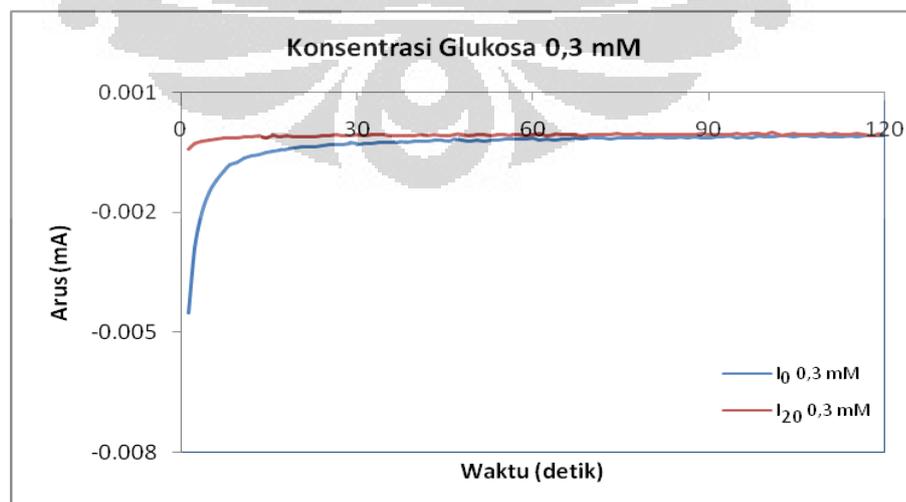
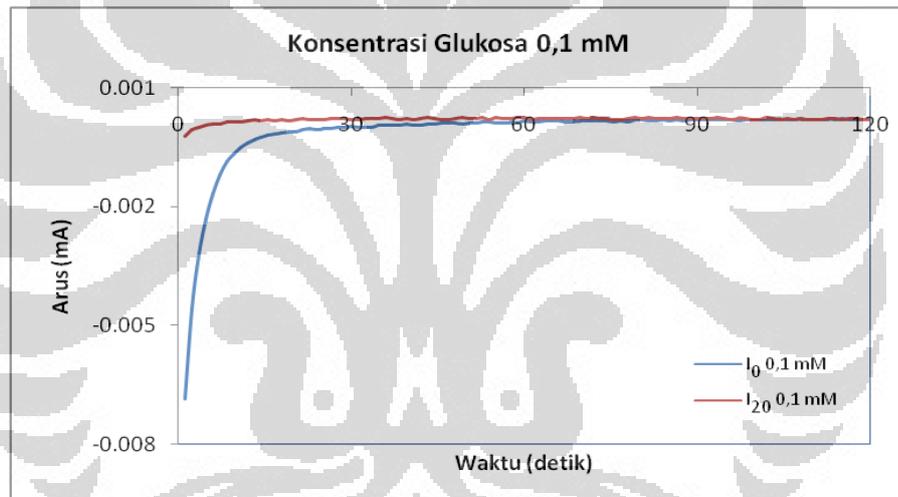
4.5.2 Penentuan Plot Grafik Khamir pada Keadaan *Free Cell*

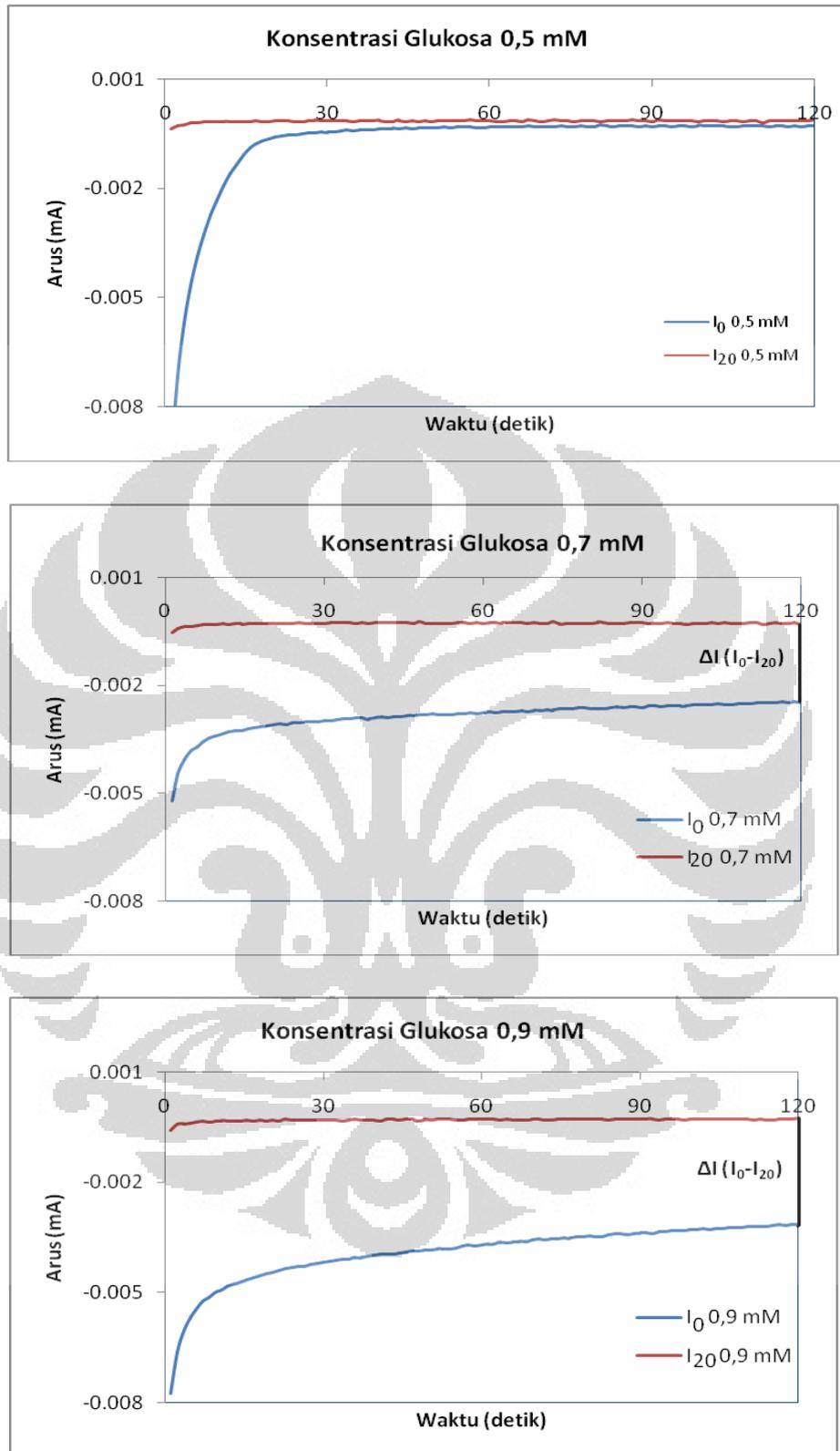
Pengujian potensi khamir sebagai elemen *sensing* sensor BOD dilakukan saat khamir dalam keadaan bebas (*free cell*) tanpa diimmobilisasi. Hal ini bertujuan untuk mengenali karakteristik mikroorganisme bersangkutan dan mengetahui apakah respon kuat arus yang terdeteksi mencerminkan perubahan laju respirasi substrat oleh khamir bukan karena akibat difusi substrat yang terhambat (Riedel, 1998).

Aktivitas *free cell* khamir *Rhodotorula mucilaginosa* sebagai elemen *sensing* dipelajari dari respon kuat arus yang berubah saat sebelum dan sesudah penambahan substrat. Sebelum penambahan substrat, khamir melakukan respirasi endogenus, sehingga kebutuhan oksigen untuk respirasi masih rendah. Konsentrasi oksigen terlarut yang masih tinggi dapat dilihat dari respon kuat arus reduksi yang tinggi. Saat substrat dimasukkan ke dalam sistem, khamir akan berusaha melakukan transportasi substrat ke dalam *inner cell*, aktifitas ini terpantau dari meningkatnya laju respirasi sel, karena transpor aktif substrat membutuhkan energi. Semakin banyak substrat yang ditranspor, semakin banyak kebutuhan oksigen sebagai akibat laju respirasi yang meningkat. Nilai kuat arus reduksi semakin menurun (nilai arus reduksi semakin positif) pada saat terjadi penurunan konsentrasi oksigen terlarut (Riedel, 1998).

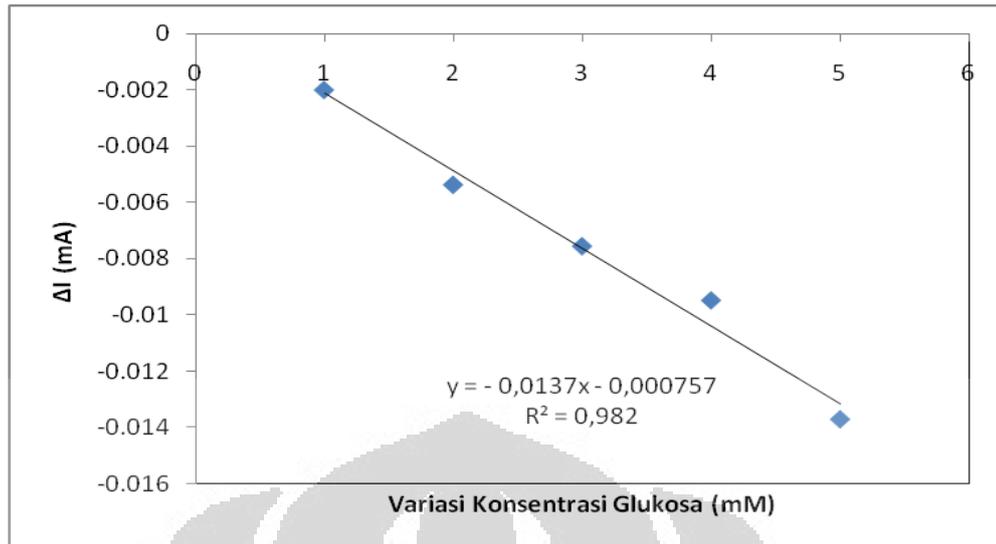
Karakterisasi secara elektrokimia pada khamir *Rhodotorula mucilaginosa* keadaan bebas dilakukan untuk mengetahui kondisi sebenarnya aktivitas konsumsi oksigen. Pada plot grafik dipilih variasi konsentrasi glukosa dalam daerah konsentrasi 0,1 – 0,9 mM glukosa dalam buffer fosfat pH 7. Berdasarkan standar Miller and Miller (1993), nilai konsentrasi glukosa tersebut akan setara dengan nilai BOD 10 – 90 mg/L.

Penelitian ini menggunakan pendekatan *end-point measurement*. Pada pengukuran *end-point measurement* pengukuran dihentikan saat kuat arus menjadi tetap (*steady state*) saat aktivitas penguraian oleh sel mikroorganismenya memiliki laju tetap. Nilai inilah yang kemudian dikorelasikan dengan nilai BOD (korelasi antara selirih arus end-point vs BOD) (Chan, 2000).

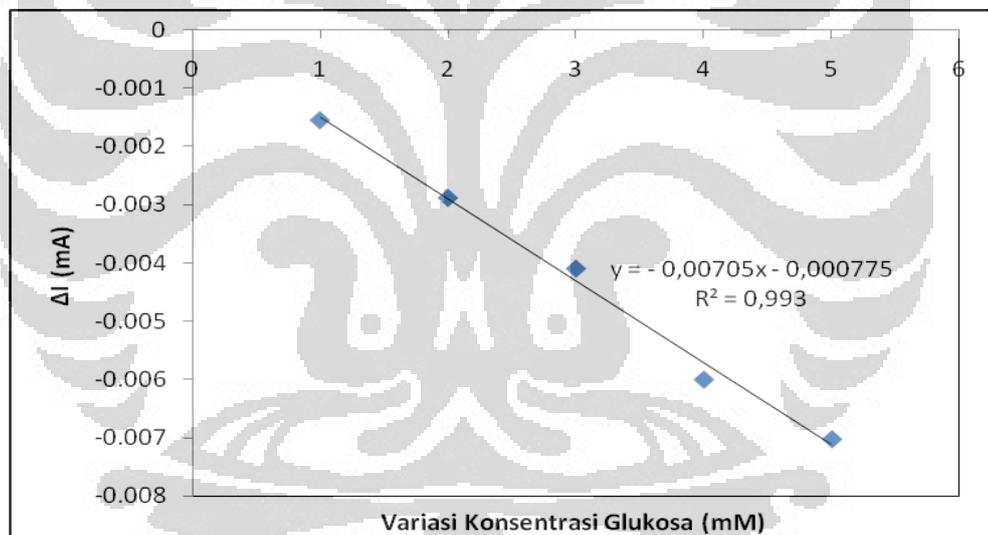




Gambar 4.20 Amperogram $\Delta I (I_0 - I_{20})$ terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan Bebas (BDD-NPAu)



Gambar 4.21 Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (Au)



Gambar 4.22 Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (BDD-NPAu)

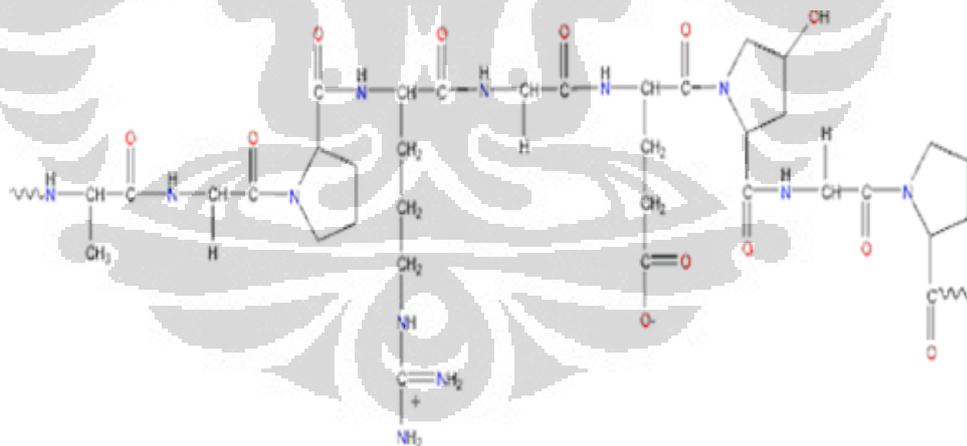
Sensitivitas sensor dapat dilihat berdasarkan slope kurva kalibrasi pengukuran analit. Slope besar memiliki sensitivitas lebih tinggi. Pada pengukuran plot grafik ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap variasi glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* keadaan *free cell* dengan menggunakan elektroda BDD-NPAu memiliki sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan elektroda emas. Aktivitas respirasi dari mikroba khamir yang digunakan tidak terhalangi oleh matriks dan

dengan kondisi yang jenuh dengan oksigen, maka khamir akan dengan cepat mengkonsumsi oksigen tersebut, sehingga berkurangnya konsentrasi oksigen dapat langsung terlihat perbedaannya secara signifikan.

4.5.3 Penentuan Plot Grafik Khamir pada Keadaan Terimobilisasi

Imobilisasi sel mikroorganisme dalam matriks pendukung memungkinkan penggunaan yang berulang – ulang. Beragam teknik imobilisasi dapat dilakukan baik dengan menggunakan polimer sintetik maupun alami. Imobilisasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam gelatin dan alginat dipilih karena tidak beracun untuk sel, aman untuk lingkungan, dan ekonomis (Muscat, 1996).

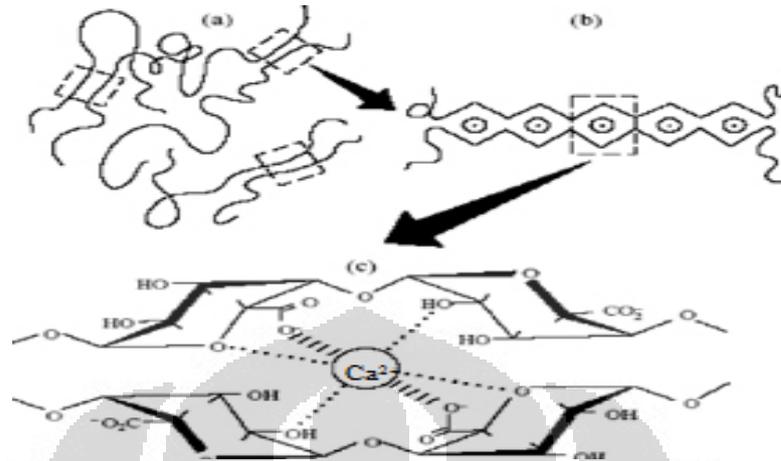
Gelatin sebagai matriks imobilisasi sel terdiri dari hidrogel alami yang dihasilkan dari hidrolis parsial kolagen. Gelatin komersial mengandung air sebesar 10 – 12 % , protein 80 – 85 % , dan mineral 5 – 7 % . Gel gelatin dapat dibuat menjadi tak terlarut dengan proses *cross-linking* (ikatan silang) menggunakan glutaraldehid atau formaldehid (Alteriis, 1987). Gugus reaktif yang ada di gelatin di antaranya gugus hidroksil, karboksil, dan amino. Imobilisasi gelatin dengan metode *cross-linking* merupakan ikatan kovalen antara gugus hidroksil. Ikatan kovalen ini akan mempertahankan struktur dan menstabilkan.



Gambar 4.23 Struktur Gelatin

Metode imobilisasi dengan alginat telah secara luas digunakan dalam imobilisasi mikroorganisme, sel hewan, dan sel tumbuhan (Skjak-Braek, 1989). Alginat merupakan polimer polisakarida alami yang linier pada matriks interselular pada alga coklat (Phaeophyta). Alginat stabil pada pH antara 5,0 –

10,0. Konsentrasi asam dan suhu yang tinggi akan mengakibatkan dekarboksilasi alginat (Kennedy & Cabral, 1987).



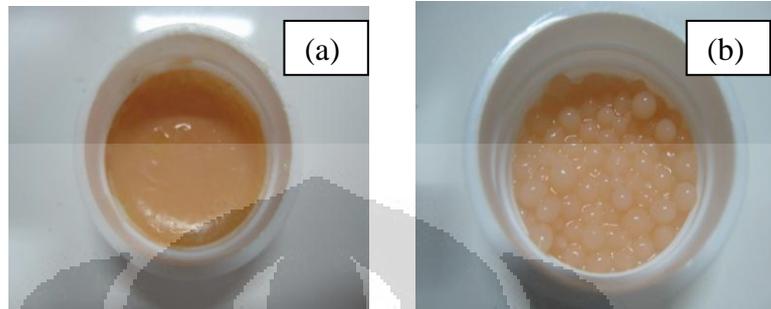
Gambar 4.24 Skema Representasi dari Model "egg-box" dari Gel Alginat.

- (a, b) Wilayah Ikatan Antara Molekul Alginat Polimer
(c) Sel Dasar dari Wilayah Mengikat (garis putus-putus menunjukkan ikatan ion antara gugus karboksil dan ion logam [McHugh, 1987]).

Biomassa khamir *Rhodotorula mucilaginosa* terimmobilisasi dengan matriks kalsium alginat dengan cara meneteskan campuran yang terdiri dari biomassa sel khamir dan larutan natrium alginat ke dalam larutan kalsium klorida. Saat pembentukan gel, ion kalsium dari larutan kalsium klorida dengan cepat berdifusi ke dalam butiran tetesan yang berisi alginat. Ion kalsium tersebut akan berikatan dengan senyawa uronat yang terdapat di dalam rantai alginat dan membentuk struktur yang khas yang dikenal dengan struktur *egg-box* (Draget, 2005). Matriks yang dihasilkan berbentuk bulat dengan ukuran yang sama seperti ukuran tetesan yang diberikan.

Imobilisasi biomassa sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dalam kalsium alginat menggunakan metode *entrapment* (penjebakan) yang melibatkan ikatan silang ionik di dalam lapisan. Polimer alginat dibentuk dari hubungan antara C-1 dan C-4 tiap monomer dan dihubungkan oleh ikatan eter oksigen. Polimer alginat terdiri dari 3 jenis, yaitu polimer M (manuronat), polimer G (guluronat), dan polimer MG. Polimer M dibentuk dari struktur ekuatorial gugus C-1 dan C-4 dan membentuk polimer lurus, sedangkan polimer G dibentuk dari struktur aksial. Perbedaan struktur polimer ini menyebabkan polimer G lebih

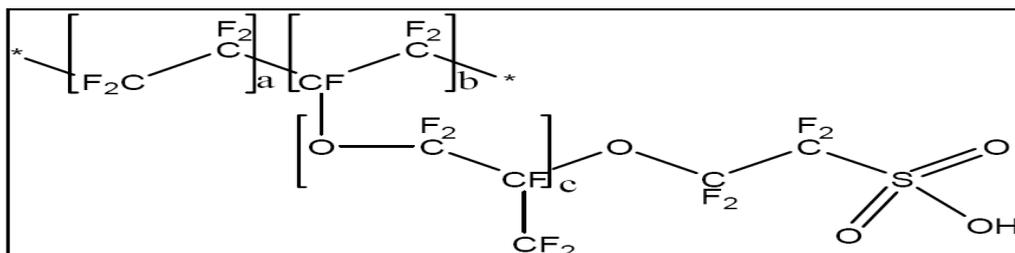
banyak digunakan untuk proses pembentukan gel alginat dengan penambahan ion Ca^{2+} . Ion tersebut akan menggantikan ion H^+ pada gugus karboksilat dan membentuk jembatan ion penghubung antara polimer G yang satu dengan yang lainnya. Hubungan antar polimer G ini akan membentuk struktur *egg-box*.



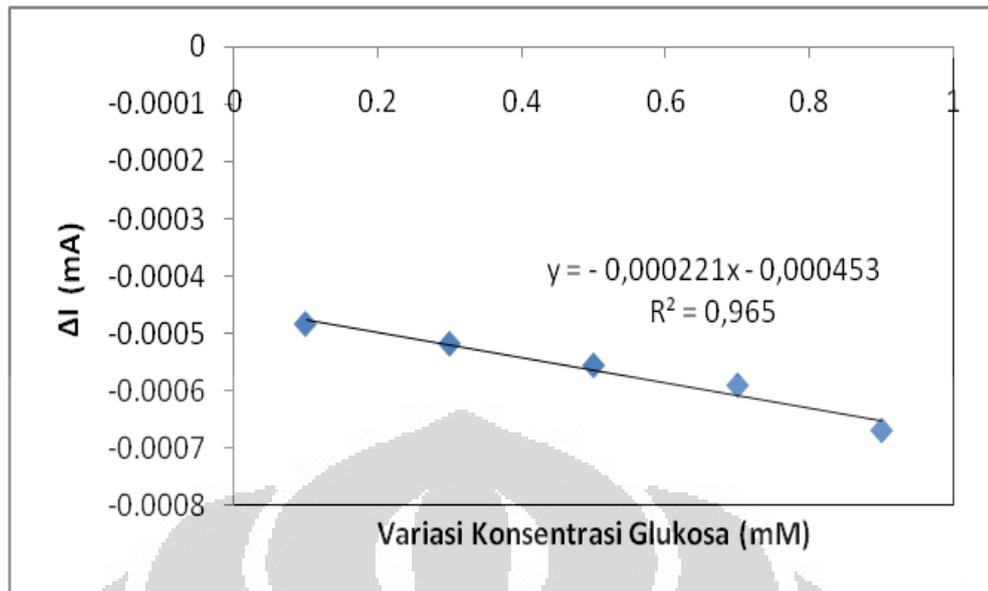
Gambar 4.25 (a) Imobilisasi Sel *Rhodotorula mucilaginosa* dalam Gelatin
(b) Imobilisasi Sel *Rhodotorula mucilaginosa* dalam Alginat

Sensor oksigen ini menggunakan imobilisasi mikroorganisma aerob. Respirasi dan fungsi metabolik mikroorganisme digunakan untuk mendeteksi senyawa substrat. Ketika analit terdegradasi oleh mikroorganisme yang terimobilisasi, aktivitas respirasi akan meningkat dan oksigen terlarut akan di konsumsi (Arikawa, 1998).

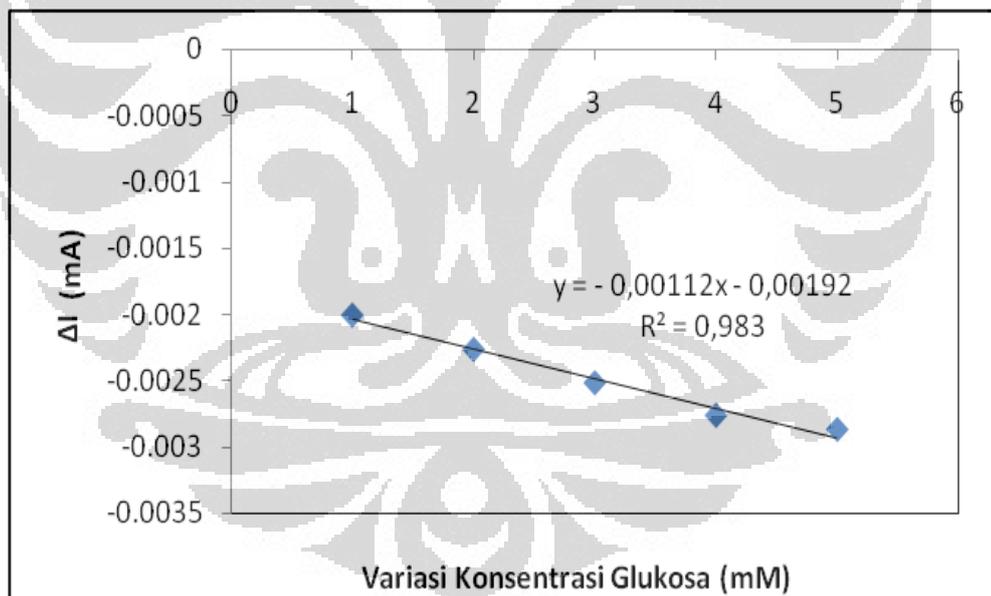
Sebagai sensor BOD, khamir harus mendapatkan suplai oksigen yang maksimum dari larutan, namun tetap dijaga agar matriks tidak terkontaminasi dengan larutan tersebut atau dengan kata lain matriks yang digunakan harus dijaga agar tidak kontak langsung dengan larutan (Zulfia, 2010). Membran Nafion® diperlukan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



Gambar 4.26 Unit Struktur Nafion®

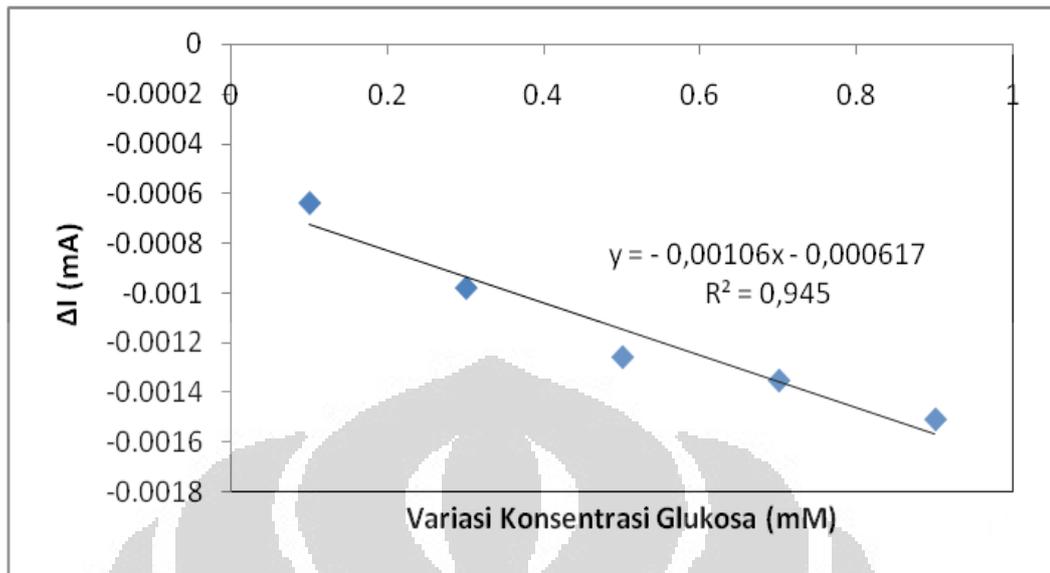


Gambar 4.27 Plot Grafik antara $\Delta I (I_0-I_{20})$ terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (Au)

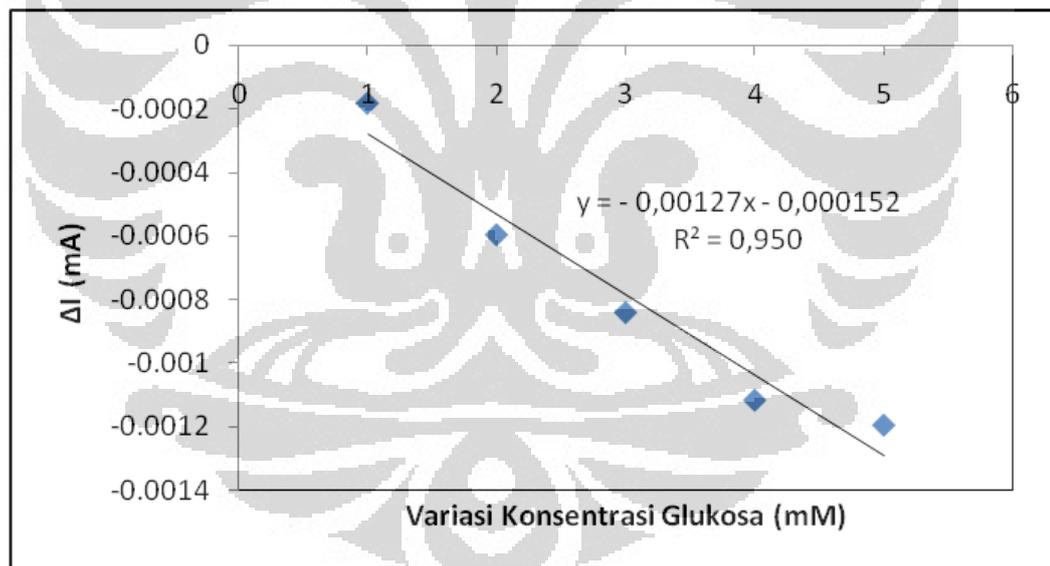


Gambar 4.28 Plot Grafik antara $\Delta I (I_0-I_{20})$ terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)

Dengan mengamati slope kurva kalibrasi pengukuran variasi glukosa pada matriks gelatin, diperoleh sensitivitas yang lebih tinggi pada elektroda BDD-NPAu dibandingkan dengan elektroda emas.



Gambar 4.29 Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (Au)



Gambar 4.30 Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu)

Sensitivitas sensor berdasarkan plot grafik ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap variasi glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* yang diimmobilisasi alginat kurang dapat diamati karena perbedaan *slope* pada kedua plot grafik berbeda tipis yaitu 0,001 pada elektroda Au dan 0,00127 pada elektroda BDD-NPAu.

Pemanfaatan khamir lokal *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 sebagai elemen sensing akan menjadi nilai tambah, karena harga elemen sensingnya akan menjadi lebih murah dan memiliki daya tahan yang lebih baik di kondisi iklim Indonesia. Khamir yang berasal dari perairan Teluk Jakarta ini, terbukti mempunyai ketahanan yang baik terhadap logam berat dan kadar garam yang tinggi (Rianasari, 2004). Imobilisasi khamir dan evaluasi aktivitasnya, adalah langkah krusial pemanfaatan khamir ini sebagai sensing BOD. Menurut Riedel (1998) tujuan imobilisasi mikroorganisma untuk tujuan analisa harus memenuhi kriteria-kriteria:

1. meningkatkan stabilitas kerja (*working stability*) mikroorganisma dan biosensor
2. penggunaan kembali (*reusability*) karena meningkatnya stabilitas penyimpanan.
3. umur aktivitas yang terprediksi dari mikroorganisma yang diimobilisasi karena menjadi bagian terintegrasi dengan peralatan analitik.
4. permeabilitas oksigen melalui membran terimobilisasi harus baik.

Penggunaan gelatin sebagai matriks imobilisasi telah dilakukan dalam beberapa penelitian (Parascandola, Scardi, & Alteriis, 1990; Akyilmaz & Dinçkaya, 2005). Akyilmaz menggunakan matriks gelatin dengan glutaraldehid sebagai *cross-linking agent* dalam sensor alkohol. Gelatin dianggap mudah tersedia dan murah, serta proses imobilisasinya yang mudah. Dalam dunia farmasi, gelatin juga sudah umum digunakan. Sifat gelatin yang tidak meracuni mikroorganisma, sangat mendukung pemanfaatannya sebagai matriks imobilisasi khamir, sifat ini diharapkan akan memperpanjang umur khamir yang diimobilisasi. Salah satu metode imobilisasi khamir menggunakan gelatin menggunakan formaldehid sebagai *cross-linking agent* (Alteriis, 1987).

Imobilisasi kalsium alginat terjadi melalui metode *entrapment*, sel mikroorganisma terperangkap di dalam kisi-kisi membran gel kalsium alginat yang tidak larut dalam air. Gel terbentuk melalui reaksi kimia dimana kalsium menggantikan natrium yang mengikat molekul-molekul alginat yang panjang sehingga membentuk gel. Gel ini menjadi kuat karena terbentuknya ikatan kelat antara kalsium dengan rantai L-Guluronat dari alginat (Morris, 1978). Jumlah kalsium dapat meningkatkan viskositas gel, sementara kandungan kalsium yang

tinggi menghasilkan asosiasi permanen yang menyebabkan pengendapan (Robinson, 1987).

Percobaan imobilisasi khamir *Rhodotorula mucilaginosa* berdasarkan prosedur 3.3.8 hanya berhasil untuk massa khamir sebesar 0,2 g/mL larutan. Massa yang lebih besar menyebabkan larutnya matriks dalam air. Konsentrasi biomassa yang dapat digunakan pada proses imobilisasi antara 0,2 – 1,0 g berat basah (w/mL) (Riedel, 1998). Konsentrasi lebih tinggi menyebabkan difusi substrat terhambat oleh massa khamir, akibatnya respon sensor lambat.

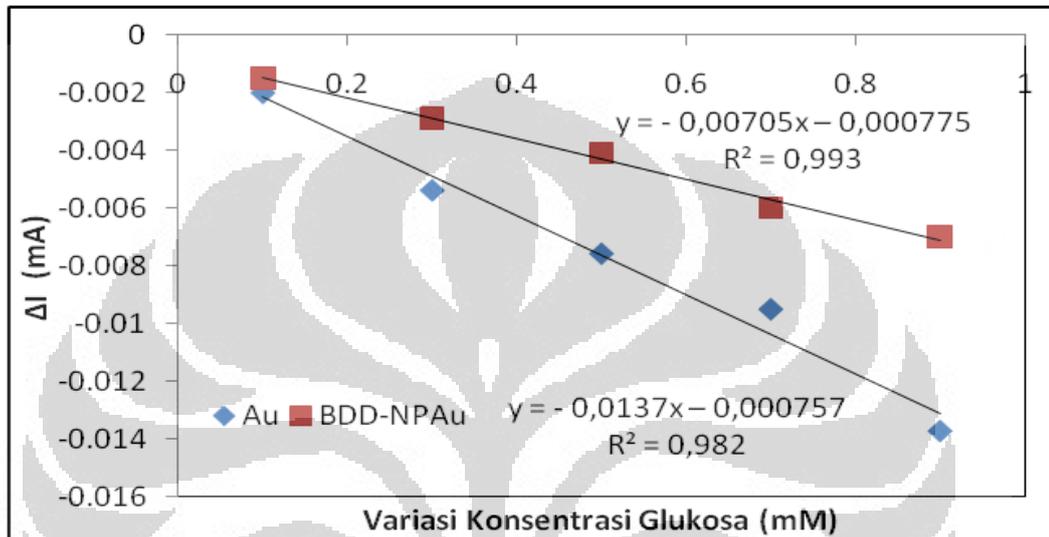
Ketidakstabilan pengukuran bisa terjadi akibat terlepasnya sel khamir ke dalam sampel selama pengukuran atau selama proses pembilasan karena tidak kuatnya matriks imobilisasi gelatin dan alginat. Ini menyebabkan jumlah biomassa khamir berkurang sehingga responnya pun berkurang.

Riedel (1998) menyatakan bahwa tujuan imobilisasi adalah untuk meningkatkan stabilitas kerja mikroorganisma dalam sensor, hasil ini menunjukkan imobilisasi dalam gelatin dan alginat yang dilakukan belum berhasil mencapai hal tersebut. Belum stabilnya imobilisasi dalam gelatin dan alginat bisa terjadi karena adanya massa khamir terlepas selama proses pengukuran.

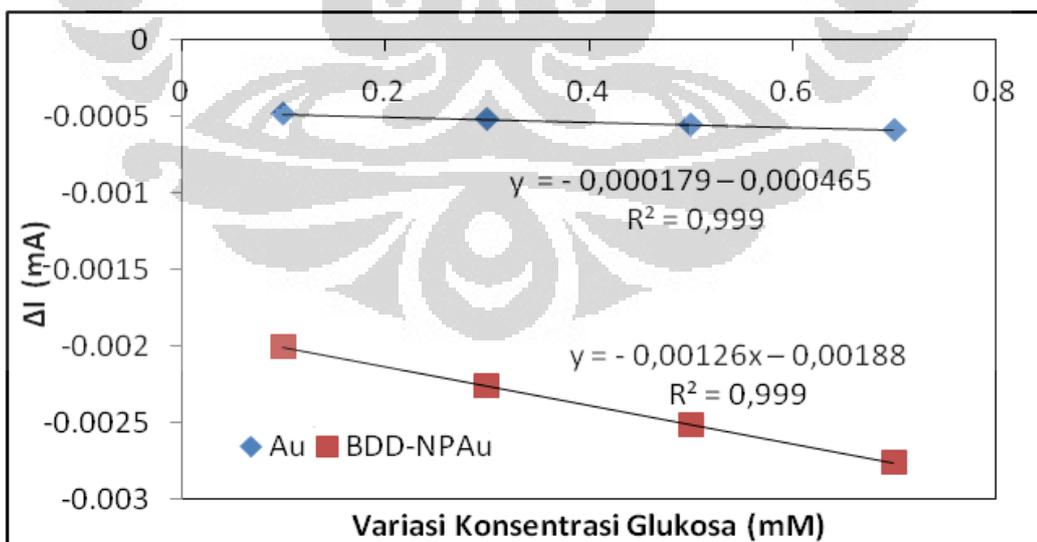
Penurunan respon arus menandakan aktivitas mikroba yang terus menurun. Pada penelitian ini belum dilakukan upaya untuk mempertahankan aktivitas khamir selama proses penyimpanan. Tetapi tidak tertutup kemungkinan bahwa khamir yang digunakan mengalami penurunan aktivitas dalam penyimpanan jangka panjang. Penelitian yang dilakukan oleh Ciuciu yang menggunakan khamir *Rhodotorula mucilaginosa* sebagai elemen *biosensing* untuk mendeteksi fenol dengan elektroda oksigen, menyebutkan bahwa aktivitas khamir tersebut menurun 90% setelah 12 hari (Kress-Rogers, 1997).

Rhodotorula mucilaginosa bersifat aerob obligat dengan digunakan oksigen sebagai akseptor elektron. Untuk pertumbuhannya, *Rhodotorula mucilaginosa* dapat menggunakan glukosa sebagai sumber karbon. Tahap awal metabolisme glukosa yaitu melalui jalur glikolisis. Di akhir jalur glikolisis, akan dihasilkan dua mol asam piruvat dan dua mol ATP. Asam piruvat akan masuk ke siklus asam sitrat. Tahap selanjutnya setelah siklus asam sitrat adalah rantai transpor elektron dan fosforilasi oksidatif yang juga menghasilkan ATP. Pada

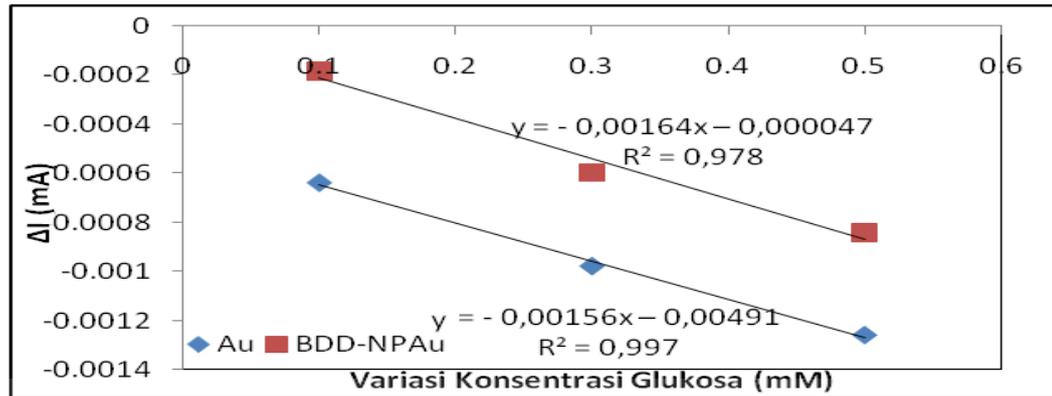
rantai transpor elektron, NADH dan FADH₂ yang dihasilkan dari siklus asam sitrat akan dioksidasi menjadi NAD⁺ dan FAD dengan melepaskan elektron dan proton. Elektron dan proton ini masuk ke dalam rantai pernapasan melalui beberapa kompleks: NADH-dehidrogenase, ubiquinon dan sitokrom b-c. Pada tahap akhir, bila tersedia oksigen maka oksigen sebagai akseptor elektron terakhir akan bereaksi dengan proton dan elektron untuk membentuk air (Randy, 2007).



Gambar 4.31 Plot Grafik antara $\Delta I (I_0-I_{20})$ terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell*



Gambar 4.32 Plot Grafik antara $\Delta I (I_0-I_{20})$ terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin



Gambar 4.33 Plot Grafik antara ΔI (I_0 - I_{20}) terhadap Variasi Glukosa pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat

Data – data plot grafik di atas diperoleh dari hasil pengujian MPA dengan potensial kerja -554 mV (vsAg/AgCl). Selisih kuat arus $I_0 - I_{20}$ pada berbagai konsentrasi glukosa diringkaskan dalam lampiran 5. Hasil pada Gambar 4.31 menunjukkan bahwa sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 keadaan *free cell* pada rentang konsentrasi glukosa 0,1 mM sampai 0,9 mM dengan selisih kuat arus $I_0 - I_{20}$ mempunyai korelasi yang baik pada BDD-NPAu dengan $R^2 = 0,993$; sedangkan pada elektroda Au sebesar $R^2 = 0,982$.

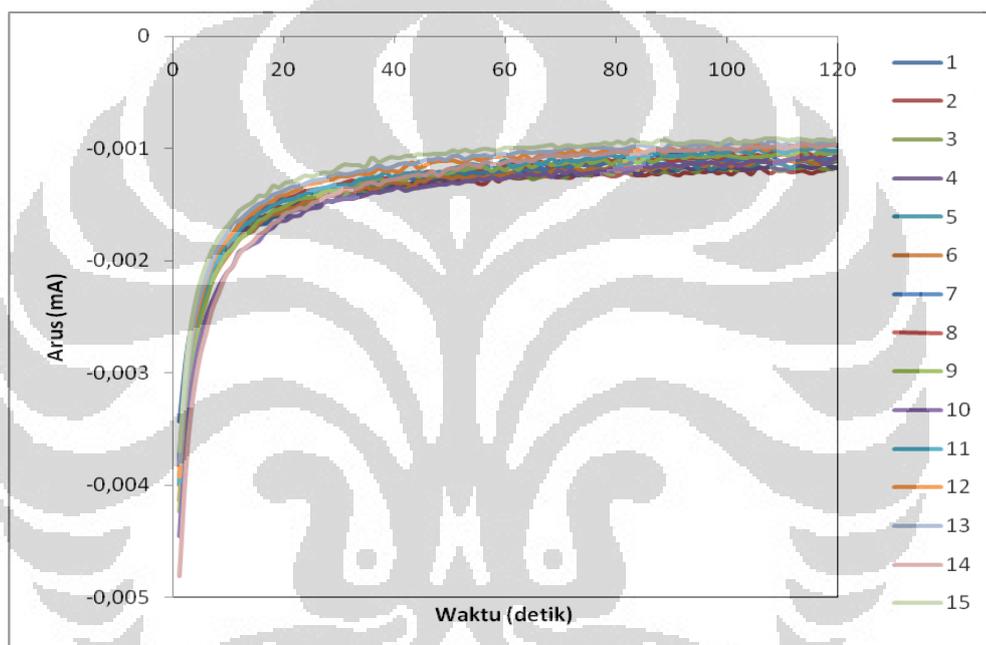
Sensor BOD pada khamir yang terimobilisasi dalam gelatin mempunyai rentang konsentrasi glukosa yang baik pada 0,1 mM sampai 0,7 mM yang setara dengan nilai BOD 10 mg/L sampai dengan 70 mg/L. Dalam kisaran konsentrasi glukosa ini korelasi antara selisih kuat arus $I_0 - I_{20}$ versus konsentrasi glukosa pada elektroda Au dan BDD-NPAu masing-masing mempunyai nilai $R^2 = 0,999$ (gambar 4.32). Hal ini memberikan korelasi yang lebih tinggi dibandingkan pada rentang konsentrasi glukosa 0,1 mM sampai 0,9 mM yang dengan nilai $R^2 = 0,965$ (Au) (Gambar 4.27) dan $R^2 = 0,983$ (BDD-NPAu) (Gambar 4.28).

Korelasi antara selisih kuat arus dengan konsentrasi glukosa pada khamir yang terimobilisasi dalam alginat mempunyai rentang yang linear (Gambar 4.33) pada konsentrasi 0,1 mM sampai 0,5 mM glukosa dengan nilai $R^2 = 0,997$ (Au) dan $R^2 = 0,978$ (BDD-NPAu). Nilai tersebut setara dengan nilai BOD yaitu 10 – 50 mg/L. Korelasi yang lebih rendah diperoleh pada rentang konsentrasi glukosa 0,1 mM sampai 0,9 mM yang dengan nilai $R^2 = 0,945$ (Au) (Gambar 4.29) dan $R^2 = 0,950$ (BDD-NPAu) (Gambar 4.30).

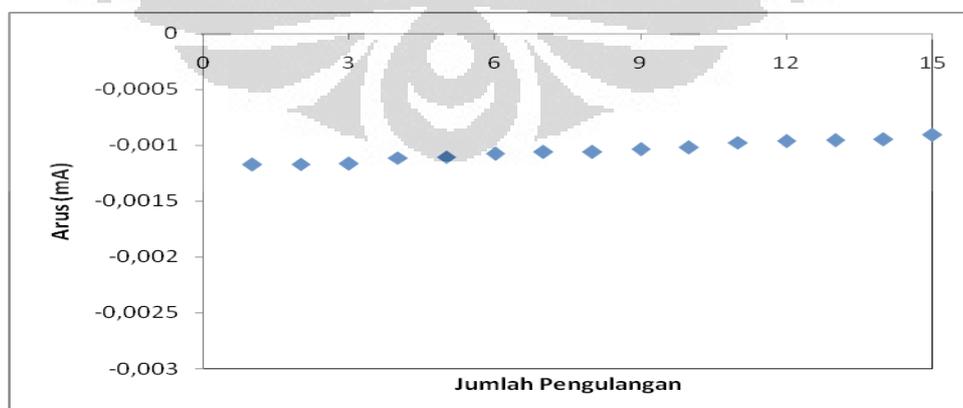
4.5.4 Pengujian Reprodusibilitas

Karakterisasi kinerja suatu sensor berdasarkan parameter stabilitas, sensitivitas, batas deteksi, selektivitas, dan kisaran pengukuran atau rentang konsentrasi yang memberikan kurva linier untuk pengukuran oksigen.

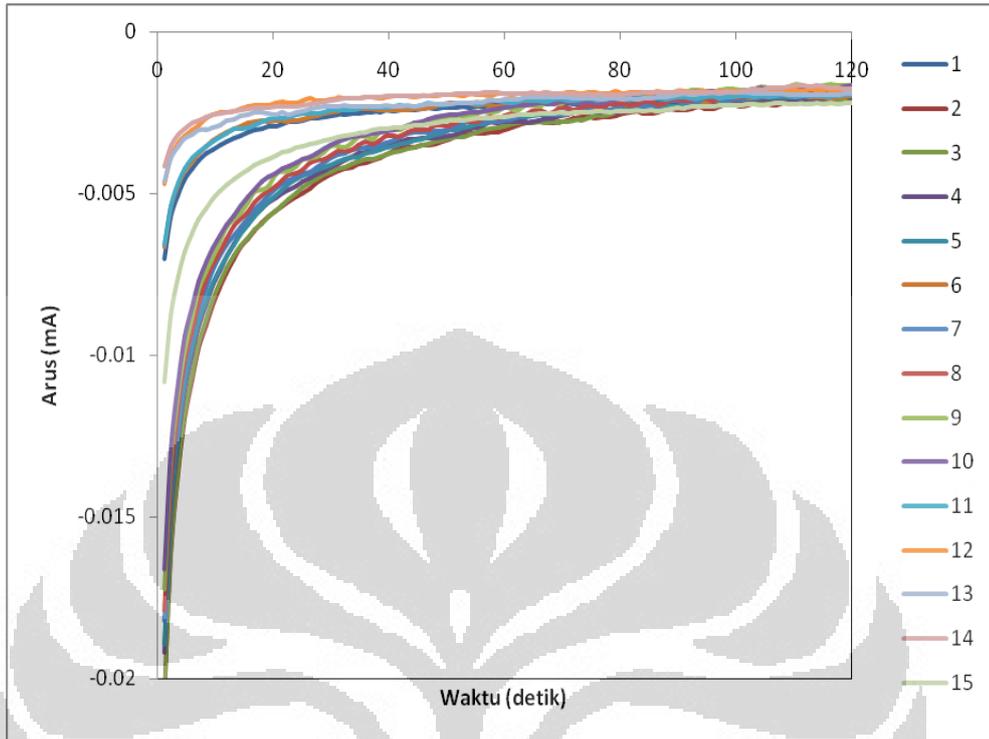
Pengukuran reprodusibilitas dilakukan pada *Rhodotorula mucilaginosa* dalam keadaan bebas serta terimobilisasi dalam gelatin dan alginat menggunakan elektroda Au dan BDD-NPAu pada metode MPA. Amperogram hail pengukuran menunjukkan presisi data yang dihasilkan pada 15 kali pengulangan.



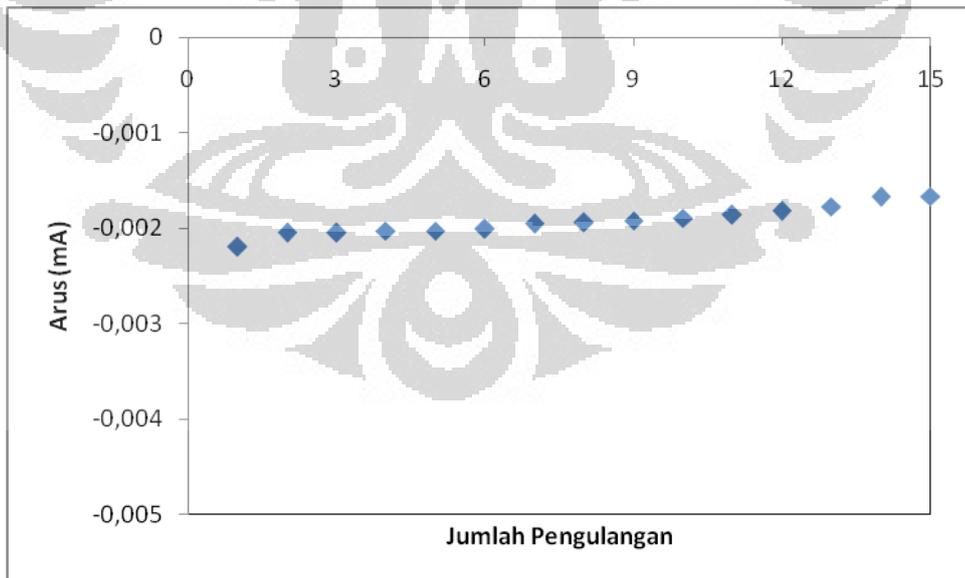
Gambar 4.34 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (Au)



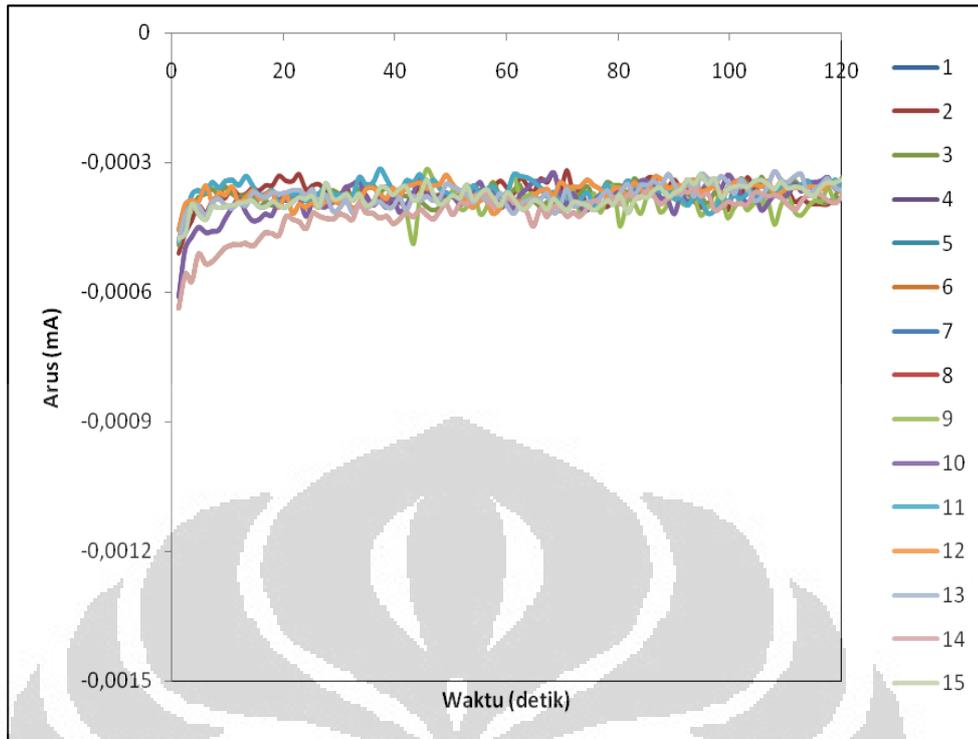
Gambar 4.35 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (Au)



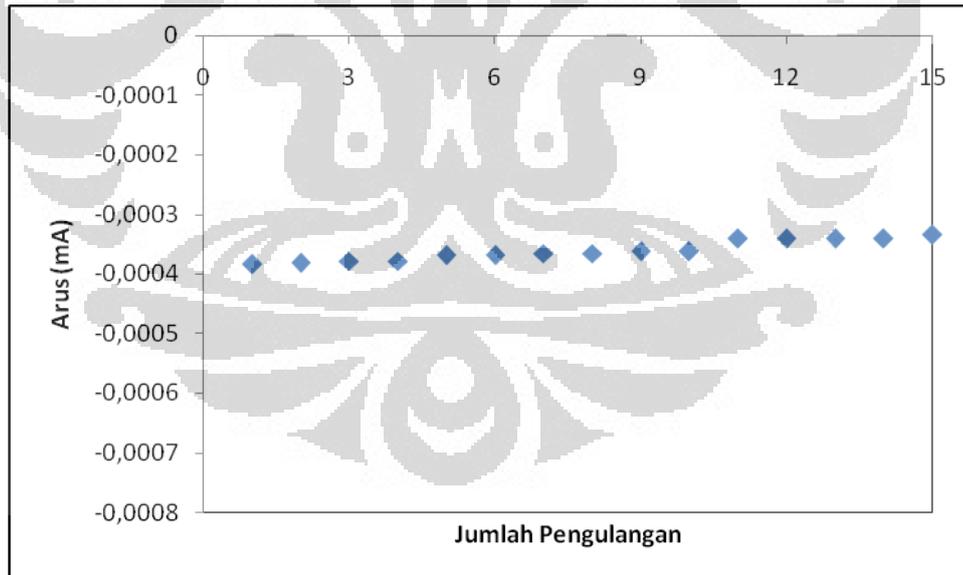
Gambar 4.36 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (BDD-NPAu)



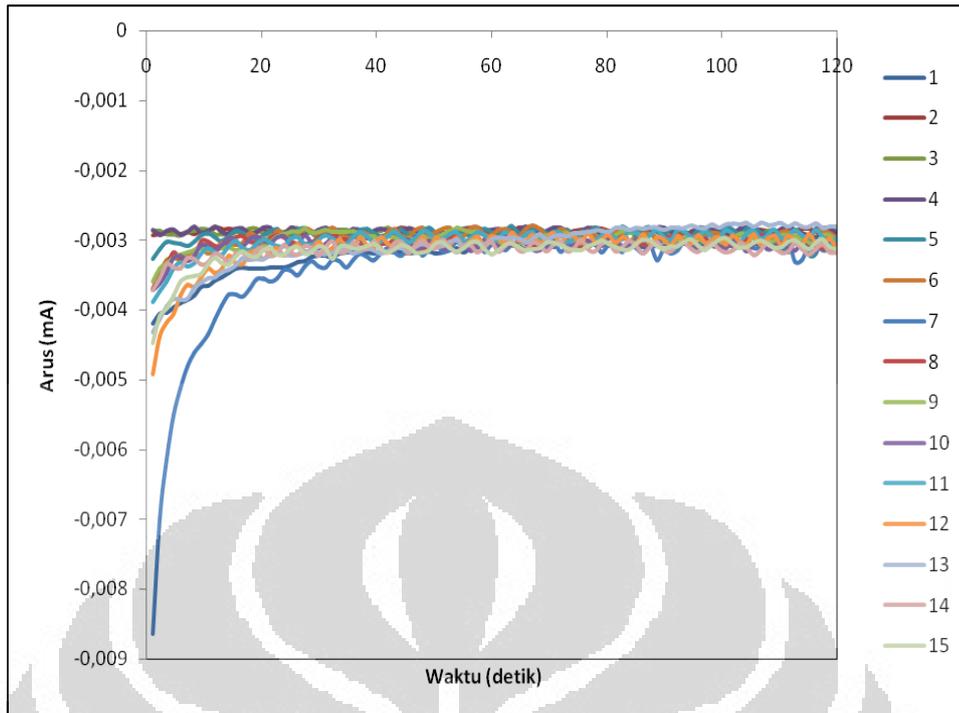
Gambar 4.37 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Keadaan *Free Cell* (BDD-NPAu)



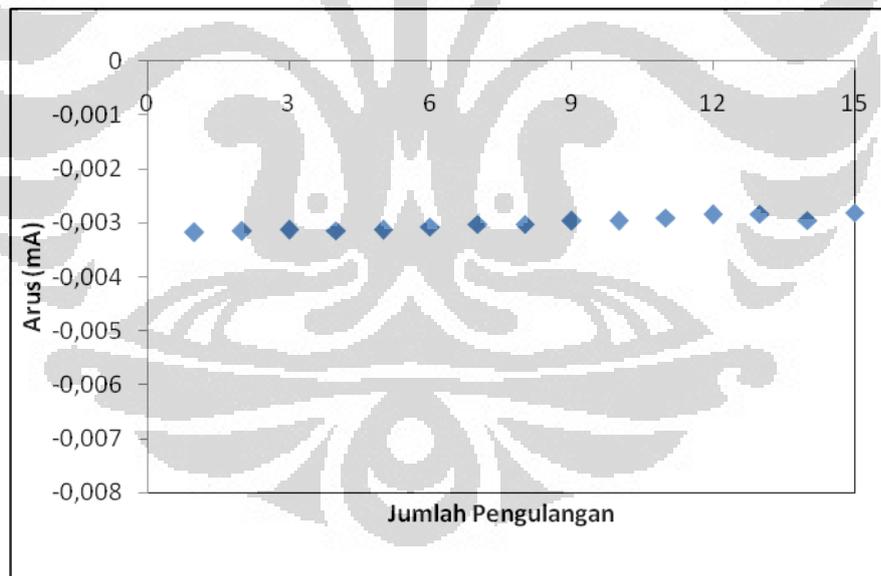
Gambar 4.38 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (Au)



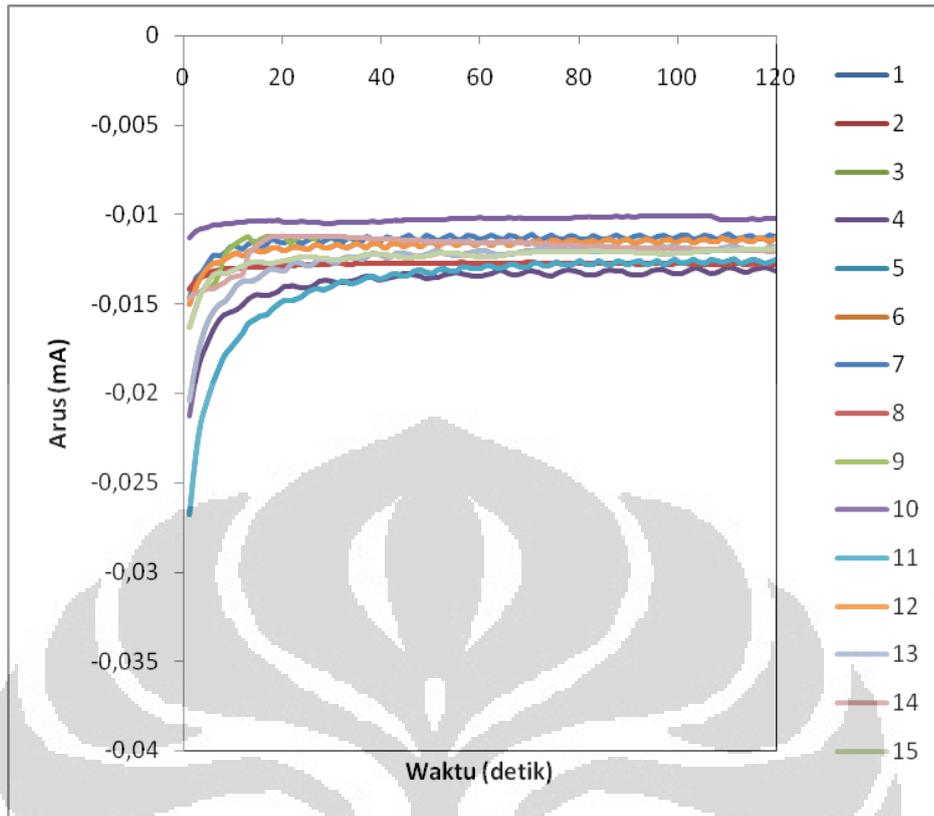
Gambar 4.39 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (Au)



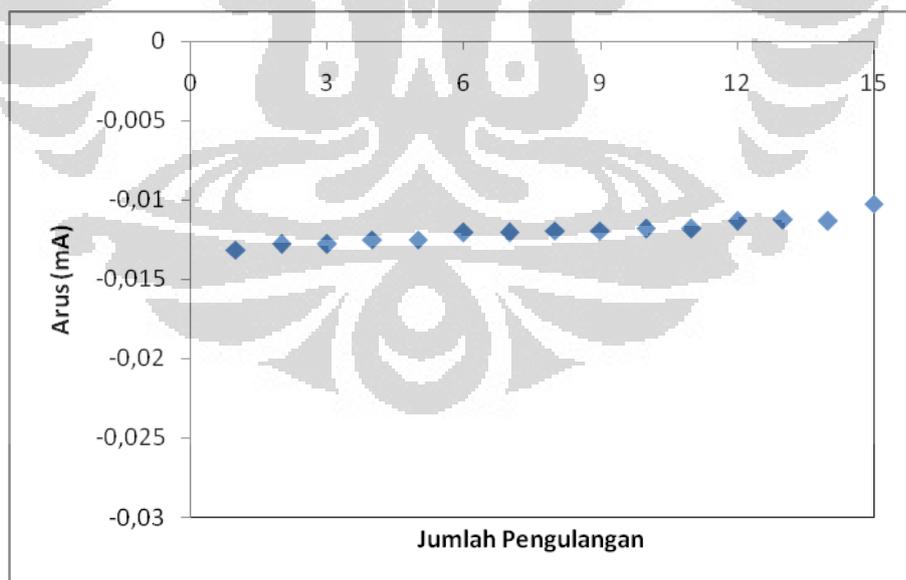
Gambar 4.40 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)



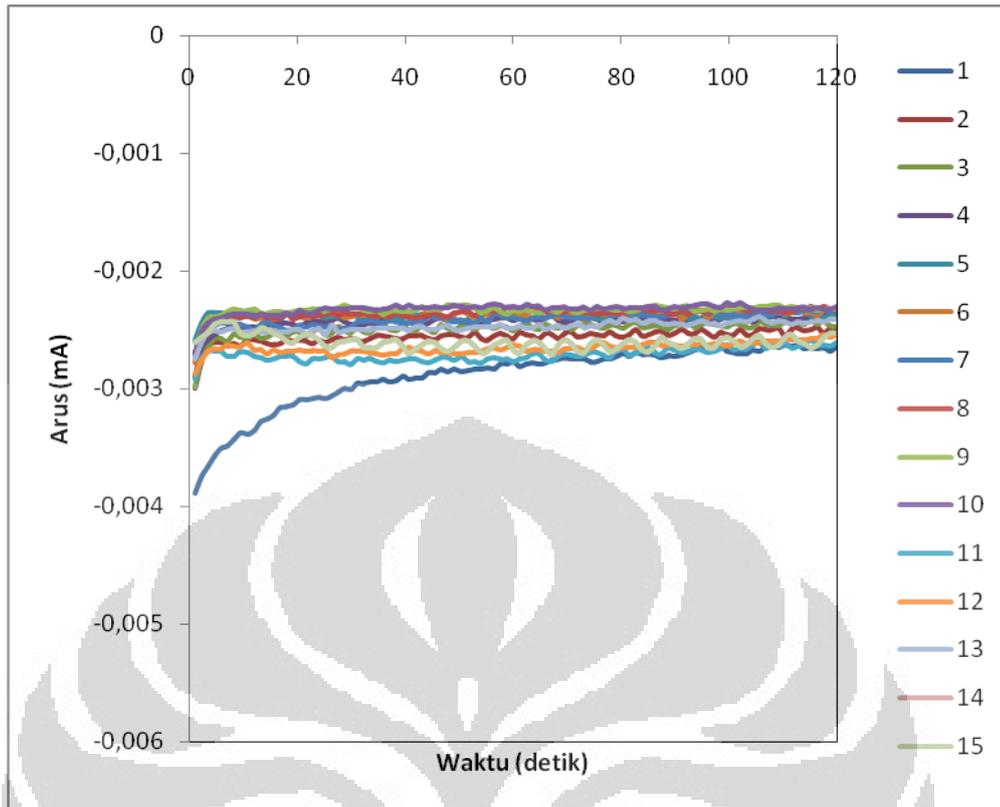
Gambar 4.43 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Gelatin (BDD-NPAu)



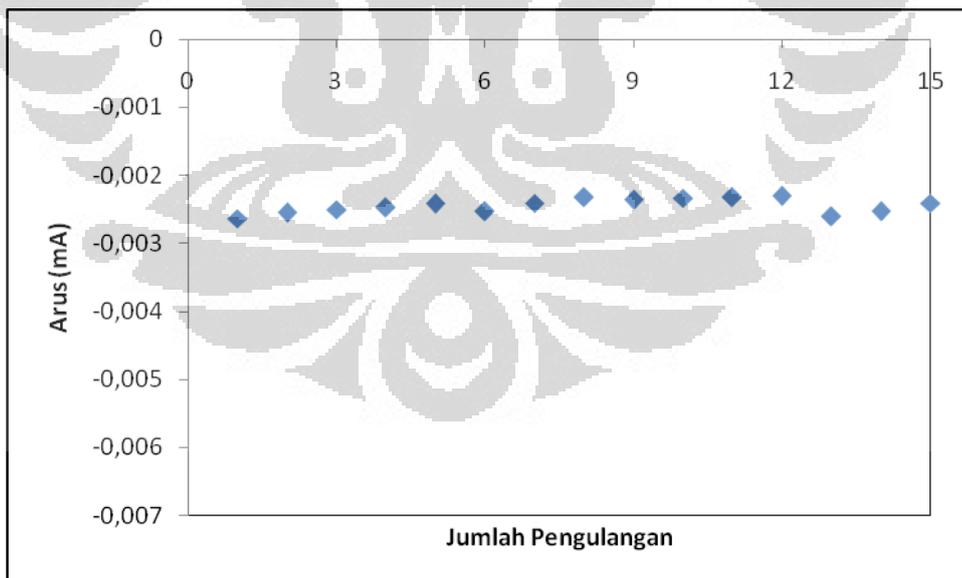
Gambar 4.42 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (Au)



Gambar 4.41 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (Au)



Gambar 4.44 Reprodusibilitas pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu)



Gambar 4.45 Plot Arus Reduksi terhadap Jumlah Pengulangan pada *Rhodotorula mucilaginosa* Terimobilisasi Alginat (BDD-NPAu)

Masing-masing data reproduibilitas dilakukan perhitungan nilai RSD (Standar Deviasi Relatif) terhadap amperogram yang dihasilkan. Nilai RSD untuk *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 keadaan bebas adalah 8,21 % (Au) dan 7,70 % (BDD-NPAu). Nilai RSD untuk *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi gelatin adalah 4,73 % (Au) dan 4,14 % (BDD-NPAu). Dan nilai RSD untuk *Rhodotorula mucilaginosa* UICCY-181 terimobilisasi alginat adalah 6,23 % (Au) dan 4,40 % (BDD-NPAu).

Nilai reproduibilitas yang semakin kecil menandakan elektroda tersebut semakin baik digunakan untuk sensor atau kerja oksidasi glukosa. *Range* nilai % RSD yang baik adalah kurang dari 10 % (Wu, 1999).

Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Pengukuran

No.	Elektroda	Kondisi Mikroorganisme	Persamaan Linier	Korelasi (R^2)	RSD (n=15, %)
1	Au	<i>Free cell</i>	$Y = -0,0137x - 0,000757$	0,982	8,21 %
2	Au	Diimobilisasi Gelatin	$Y = -0,000221x - 0,000453$	0,965	4,73 %
3	Au	Diimobilisasi Alginat	$Y = -0,00106x - 0,000617$	0,945	6,23 %
4	BDD-NPAu	<i>Free cell</i>	$Y = -0,00705x - 0,000775$	0,993	7,70 %
5	BDD-NPAu	Diimobilisasi Gelatin	$Y = -0,00112x - 0,00192$	0,983	4,14 %
6	BDD-NPAu	Diimobilisasi Alginat	$Y = -0,00127x - 0,000152$	0,950	4,40 %

Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit. Sensitivitas dapat dinyatakan sebagai *slope* kurva yang diperoleh pada rentang tertentu. Nilai sensitivitas yang besar menunjukkan perubahan konsentrasi analit yang kecil dapat memberikan respon yang berarti (Skoog, 1985). Dari Tabel 4.1, sensitivitas sensor yang menggunakan mikroorganisme bebas umumnya lebih tinggi daripada keadaan terimobilisasi, walaupun kedapatulangan yang lebih baik umumnya diperoleh pada sensor yang menggunakan mikroorganisme terimobilisasi, terutama yang diimobilisasi dalam matriks gelatin.

Respon sensitivitas elektroda BDD-NPAu pada keadaan *free cell* lebih rendah dibandingkan pada elektroda Au. Namun, respon sensitivitas BDD-NPAu pada sensor terimobilisasi pada gelatin dan alginat lebih tinggi daripada elektroda Au. Sel khamir yang terimobilisasi dalam matriks tidak secara bebas memperoleh nutrien dan oksigen dari lingkungan sekitarnya. Substrat harus terdifusi dahulu ke

dalam matriks sebelum mencapai sel khamir. Respon kuat arus tidak mencerminkan laju respirasi bila laju asimilasi substrat oleh khamir lebih cepat dari difusi substrat ke dalam matriks. Saat laju asimilasi menurun karena ketiadaan substrat, respon kuat arus reduksi oksigen akan semakin menurun (nilai arus reduksi semakin positif) karena konsumsi oksigen oleh khamir menurun. Tidak kuatnya matriks yang terbentuk, memungkinkan terlepasnya sel khamir ke dalam sampel selama pengukuran atau selama proses pembilasan. Ini menyebabkan jumlah biomassa khamir berkurang sehingga responnya pun berkurang (Dewangga, 2010).

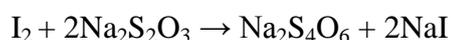
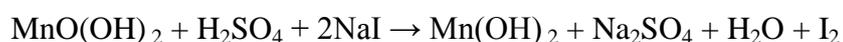
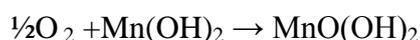
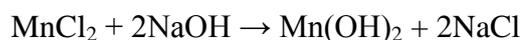
Umumnya pada hubungan linieritas antara selisih kuat arus (ΔI) dan variasi konsentrasi glukosa yang dikonsumsi oleh mikroorganisme pada sensor yang menggunakan elektroda BDD-NPAu lebih baik dibandingkan pada elektroda Au. Regresi linier ($R^2 = 0,95 - 0,99$) ditunjukkan oleh semua sensor BOD baik yang menggunakan mikroorganisme dalam keadaan bebas maupun terimobilisasi pada elektroda BDD-NPAu maupun elektroda Au.

4.5.5 Pengujian Kesetaraan Pengukuran Metode BOD Konvensional dengan Sensor BOD

Perbandingan nilai BOD yang dihasilkan melalui metode sensor kimia dengan metode pengukuran BOD secara konvensional dilakukan dengan menggunakan sampel yang berasal dari Situ Kenanga di UI. Metode BOD konvensional berdasarkan selisih nilai jumlah oksigen pada hari pertama dan hari kelima. Pada metode sensor BOD berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi gelatin dan alginat, nilai selisih arus awal dan arus menit ke-20 yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan linieritas sehingga akan diperoleh nilai konsentrasi glukosa dan dikonversi dengan nilai BOD (Miller & Miller, 1993). Pada pengukuran secara konvensional, diperoleh nilai BOD 17,20 mg/L. Sedangkan pada sensor BOD imobilisasi gelatin diperoleh 11,719 mg/L (Au) dan 12,52 mg/L (BDD-NPAu), imobilisasi alginat diperoleh 11,104 mg/L (Au) dan 11,771 mg/L (BDD-NPAu). Pada penelitian ini hanya digunakan senyawa glukosa sebagai model senyawa organik. Glukosa merupakan senyawa yang umumnya dikonsumsi oleh mikroorganisme.

Secara alamiah, oksigen yang terkandung dalam perairan akan digunakan oleh mikroorganisme untuk mengoksidasi tidak hanya bahan – bahan organik, tetapi juga bahan – bahan anorganik (APHA; AWWA; WPCF, 1980). Bahan – bahan organik yang masuk ke dalam perairan terdiri dari bahan organik yang mudah terurai (karbohidrat, protein, lemak) dan sukar terurai (DDT, PCB, PAH) (Olausson, 1972). Banyaknya oksigen tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah dan jenis bahan organik, tetapi juga dipengaruhi oleh waktu dan suhu inkubasi. Para ahli kualitas air telah sepakat bahwa waktu 5 hari dan suhu 20 °C dipakai sebagai standar untuk inkubasi. Oleh karena penguraian bahan organik sukar terurai (*persisten*) membutuhkan waktu yang sangat lama, maka waktu inkubasi selama 5 hari hanya untuk menguraikan bahan organik yang mudah terurai. Bahan organik yang mudah terurai umumnya berasal dari limbah domestik, sedangkan bahan organik yang sukar terurai berasal dari limbah pertanian, pertambangan, dan industri. Parameter BOD merupakan salah satu parameter kunci dalam pemantauan pencemaran air, khususnya pencemaran bahan organik yang mudah terurai (Hutagalang, 1985). Untuk memastikan bahwa penurunan kadar oksigen terlarut disebabkan oleh masuknya bahan organik, maka diperlukan parameter tambahan yaitu *Chemical Oxygen Demands* (COD).

Pada pengukuran dengan BOD konvensional, digunakan selisih nilai DO hari pertama dan DO pada hari kelima. Pengukuran nilai DO diperoleh dengan metode titrasi Winkler. Prinsipnya dengan menggunakan titrasi iodometri. Sampel yang akan dianalisis terlebih dahulu ditambahkan dengan larutan $MnCl_2$ dan $NaOH - KI$, sehingga terbentuk endapan $Mn(OH)_2$. Dengan menambahkan H_2SO_4 atau HCl maka endapan yang terbentuk akan larut kembali dan juga akan membebaskan molekul iodium (I_2) yang ekuivalen dengan oksigen terlarut. Iodium yang dibebaskan ini selanjutnya dititrasi dengan larutan standar natrium tiosulfat ($Na_2 S_2O_3$) dan menggunakan indikator larutan amilum (kanji).



(Salmin, 2005).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Dalam penelitian ini telah dikembangkan sensor BOD terimobilisasi khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 berbasis sensor oksigen. Elektroda yang digunakan adalah elektroda emas (Au) dan *Boron-Doped Diamond* termodifikasi nanopartikel emas (BDD-NPAu). Immobilisasi dilakukan pada matriks gelatin dan alginat.

Hasil amperogram menunjukkan adanya konsumsi oksigen oleh mikroorganisme khamir *Rhodotorula mucilaginosa* yang ditandai dengan semakin negatifnya nilai arus reduksi oksigen yang terdeteksi. Optimasi waktu pengukuran menunjukkan waktu 20 menit. Kalibrasi dilakukan menggunakan mikroorganisme dalam keadaan sel bebas dan terimobilisasi dengan variasi konsentrasi glukosa (0,1 – 0,9 mM) terhadap perubahan arus awal dan setelah 20 menit $\Delta I (I_0 - I_{20})$ setelah larutan dijenuhkan dengan oksigen.

Regresi linier ($R^2 = 0,95 - 0,99$) ditunjukkan oleh semua sensor BOD baik yang menggunakan mikroorganisme dalam keadaan bebas maupun terimobilisasi pada elektroda Au maupun elektroda BDD-NPAu. Tetapi sensitivitas sensor yang menggunakan mikroorganisme bebas umumnya lebih tinggi daripada keadaan terimobilisasi, walaupun kedapatulangan yang lebih baik umumnya diperoleh pada sensor yang menggunakan mikroorganisme terimobilisasi, terutama yang diimobilisasi dalam matriks gelatin.

5.2 SARAN

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan sehingga perlu dikembangkan lebih lanjut. Perlu dilakukan optimalisasi dalam sintesis nanopartikel emas yang akan digunakan dalam modifikasi dengan elektroda BDD sehingga lebih sensitif terhadap oksigen. Pemilihan jenis atau kombinasi mikroorganisme yang berbeda diperlukan sehingga bisa diketahui mikroorganisme yang memiliki kemampuan lebih baik untuk diaplikasikan sebagai *biosensing* pada sensor BOD. Mediator seperti ferrisianida juga diperlukan untuk efisiensi transfer elektron larutan glukosa dari pusat reduksi oksidasi sel mikroorganisme menuju elektroda.



DAFTAR PUSTAKA

- Akyilmaz, E., & Din`ckaya, E. 2005. *An Amperometric Microbial Biosensor Development Based on Candida Tropicalis Yeast Cells for Sensitives Determination of Ethanol*. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1263–1269.
- Alanazi, F. K., A. A. Radwan & I. A. Alsarra. 2010. *Biopharmaceutical Applications of Nanogold*. *Saudi Pharmaceutical Journal* 18, 179—193.
- Al-Nakib., et.al. 2007. *Arsenic Detection by Nanogold/Conducting-Polymer-Modified Glassy Carbon Electrodes*. *Journal of Applied Polymer Science*. 104, 1306-1311.
- Alteriis, E. de, Parascandola, P., Pecorella, M. A., & Scardi, V. 1987. *Entrapment of Microbial Cells within a Gelatin Matrix: A Comparison of three Procedures*. *Biotechnology Techniques*, 1, 109–114.
- American Public Health Association; American Water Work Association and Water Pollution Control Federation. 1980. *Standart Methode for The Examination of Water and Wastewater*. APHA, AWWA, WPCF. 15th ed. 388—399.
- American Public Health Association. 1986. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, D.C.: American Public Health Association.
- Arfiah, Yusri. 2006. *Studi Interaksi Nanopartikel Emas Termodifikasi pada Self-Assembled Monolayer Elektroda Emas dengan Voltametrisiklik*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Arikawa, Y., Ikebukuro, K., & Karube, I. 1998. *Microbial Biosensors Based on Respiratory Inhibition*. In A. Mulchandani & K. R. Rogers (Eds.), *Enzyme and microbial biosensors: techniques and protocols*. Humana Press.
- Bard, A., & Faulkner, L. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications (2nd ed.)*. John Wiley and Sons Inc.
- Baronian, K. H. R. 2004. *The Use of Yeast and Moulds as Sensing Elements in Biosensors*. *Biosensors and Bioelectronics*, 19: 953—962.
- Belkin, S. 2003. *Microbial Whole-Cell Sensing System of Environmental Pollutants*. *Current Opinion in Microbiology* 6: 206—212.

- Bhosale, P.B. 2001. *Studies on Yeast Rhodotorula, Its Carotenoids and Their Applications*. India: Doctoral Thesis of Chemical Engineering Division. University of Pune. iv + 203 hlm.
- Chan, C., Lehmann, M., Chan, K., Chan, P., Chan, C., Gruendig, B., et al. 2000. *Designing an Amperometric Thick-Film Microbial BOD Sensor*. *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 343–353
- Cortie, M. B. 2004. *The Weird World of Nanoscale Gold*. *Gold Bulletin*, edisi 37.
- D'Souza, S. F. 2001. *Review: Microbial Biosensor*. *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 337—353.
- Daisuke., Y., Tribidasari, A. I., Motoharu, K., Akira, F., & Yasuaki , E. 2008. *Anodic Stripping Voltammetry of Inorganic Species of As³⁺ and As⁵⁺ at Gold-Modified Boron Doped Diamond Electrodes*. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 615, 145-153.
- Daniel, Marie-Christine & Astruc, Didier. 2004. *Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications Toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 104(1):293-346.
- Deak, T. 2006. *Environmental Factors Influencing Yeast*. Dalam: Rosa, C. & G. Peter (eds.) 2006. *The Yeast Handbook: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. New York: Spinger-Verlag Berlin Heidelberg. 155—174.
- Dewangga, Netra. 2010. *Studi Pengembangan Sensor BOD Berbasis Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181*. Depok: Tesis S2 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Dien, Sherly A. 2011. *Modifikasi Permukaan Plastik Menggunakan Nanopartikel Au dan Studi Aplikasinya sebagai Sensor Oksigen*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Draget KI, Smidsrod O, Skjak-Braek G. 2005. *Alginates*. In Steinbuchel A, Rhee SK (eds) *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry: Properties, Production, and Patents*. Wiley. Winheim, pp 1-30.
- Dutta, J. & A.Sugunan. 2004. *Colloidal Self-Organization for Nanoelectric*. Kuala Lumpur: Proc. IEEE International Conference on Semiconductor Electronics. ICSE.
- Eggins, B. 1996. *Biosensor: An Introduction*. New York: John Wiley & Sons Ltd. And B. G. Teubner. xi + 212 hlm.
- Ehsan, Majid., et.al. 1987. *Electrochemical Determination of Arsenite Using a Gold Nanoparticle Modified Glassy Carbon Electrode and Flow Analysis*. *Anal. Chem.* 2006, 78, 762-769.

- El-Sayed, M. A. 2004. *Small is different: Shape, Size, and Composition Dependent Properties of Some Colloidal Semiconductor Nanocrystals*. *Acc. Chem. Res.* 37, (5), 326-333.
- Fell, J. W. & A. Statzell-Tallman. 1998. *The Yeast: A Taxonomy Study*. Elsevier, Amsterdam: 800—827.
- Foliatini. 2005. *Studi Modifikasi Grafit dengan Polimer dan Cu-Co-Heksasinoferat sebagai Elektroda Sensor Glukosa secara Voltametri*. Depok: Tesis S2 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oetari. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. 36—46.
- Gupta, R., P. Ahuja, S. Khan, R. K. Saxena & H. Mohapatra. 2000. *Microbial Biosorbent: Meeting Chalanges of Heavy Metal Pollution in Aqueous Solution*. *Current Science* 78 (8): 967—73.
- Guo, S. & Wang, E. 2007. *Synthesis and Electrochemical Applications of Gold Nanoparticles*. *Analytical Chimica Acta*, 598, 181—192.
- Harmesa. 2012. *Perbandingan Sensor BOD Berbasis Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181 dengan Candida fukuyamaensis UICC Y-247*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI. xiv + 65 hlm.
- Hikuma M., Suzuki, H., Yasuda, T., Karube, I., Suzuki, S., 1979. *Amperometric Estimation of BOD by Using Living Immobilized Yeast*, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* (8), 289—297.
- Hutagalung, Horas P. & Abdul Razak. 1997. *Penentuan Kebutuhan Oksigen Biologis*. Dalam: *Metode Analisa Air Laut, Sedimen, dan Biota*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Lihua, P., Koichi, M., & Motonari, A. 2004. *Formation Process of Two-Dimensional Networked Gold Nanowires by Citrate Reduction of AuCl₄⁻ and the Shape Stabilization*. *Langmuir*, 20, 7837-3843.
- Juliana. 2006. *Biosensor Glukosa Berbasis Mediator 1,1 Ferrocene Dicarboxylic Acid secara Voltametri Siklik*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Lukmanto, Alex S. 2010. *Studi Fabrikasi Sensor Kimia untuk Analisis Ion Logam Berat: Variasi Jenis Elektroda dan Konsentrasi Ligan*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.

- Karube, I., Matsunaga, T., & Suzuki, S. 1977. *Microbial electrode BOD sensor*. *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 1535–1547.
- Kennedy, J. F & Cabral, J. M. S. 1987. *Enzyme Immobilization*. *Biotechnology* 7a, 347.
- Kress-Rogers, E. 1997. *Handbook of Biosensors and Electronic Noses: Medicine, Food, and the Environment*. CRC Press.
- Madden, Dean. 2007. *Immobilised Yeast, Immobilisation of Yeast in Calcium Alginate Beads*. NCBE, 1—5.
- Mal-Nam Kim. 1999. *Biochemical Oxygen demands Sensor Using Serratia Marcesens LSY 4*. Department of Biology Samyung University. *Biosensors & Bioelectronics*, 14, 1–7.
- Marcus, P. Maurice. V. 2000. *Materials Science and Technology*, edited by M.Schütze, vol 19. London: Willey-VCH, 131-169.
- Maryani, Faiza. 2010. *Modifikasi Glassy Carbon dengan Nanopartikel Emas Sebagai Sensor Oksigen dan Studi Pendahuluan untuk Pengukuran BOD*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Mc. Hugh, D.J., 1987. *Productions, Properties and Uses of Alginate*. Rome: Food and Agriculture Organization of Nation.
- Miller, J., & Miller, J. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry (3rd ed.)*. West Sussex: Ellis Horwood.
- Morris, E.R. & Rees D. A., Thom D, Boyd L. 1978. *Chiroptical and Stoichiometric Evidence of A Specific, Primary Dimerisation Process in Alginate Gelation*. *Carbohydr Res* 81: 305—314.
- Mumtahinah, N. 2007. *Potensi Biomassa Khamir Rhodotorula mucilaginosa (Jorgensen) F. C. Harrison UICC Y-235 sebagai Elemen Biologi pada Biosensor Logam Berat Cuprum (II)*. Depok: Skripsi S1 Departemen Biologi FMIPA-UI. xii + 105 hlm.
- Muscat, A., Prube, U., & Vorlop, K. 1996. *Stable Support Materials for the Immobilization of Viable Cells*. In R. Wijffels, R. Buitelaar, C. Bucke, & J. Tramper (Eds.), *Immobilized cells: Basics and applications* (pp. 55–61). Elsevier Science B.V.
- Nagarajan, Sounderya & Zhang, Yong. 2008. *Use of Core/Shell Structured Nanoparticles for Biomedical Applications*. Singapore: Bentham Science Publishers Ltd. *Biomedical Engineering*, 1, 34-42.

- Nathanael, Dante. 2011. *Studi Pengembangan Sensor BOD dengan Elektroda Glassy Carbon Terdeposisi Partikel Emas dan Terimobilisasi Mikroba Candida fukuyamaensis UICC Y-247 Berbasis Sensor Oksigen*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Olausson, E. 1972. *Water Sediment Exchange and Recycling of Pollutant Through Biogeochemical Processes*. Dalam: *Marine Pollution and Sea Life* (Ruivo ed). Inggris: Fishing News (Books) Ltd. 158—161.
- Parascandola, P., Scardi, V. & Alteriis, E. de. 1990. *Immobilization of Viable Yeast Cells within Polyaldehyde-Hardened Gelatin Gel*. *Biotechnology Techniques*, 4, 237–242.
- Peraturan Gubernur Provinsi Daerah Khusus Ibukota Jakarta Nomor 122 Tahun 2005. *Pengelolaan Air Limbah Domestik di Provinsi Daerah Khusus Ibukota Jakarta*. Jakarta.
- Peraturan Pemerintah RI No.82 Tahun 2001. *Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*. Jakarta.
- Privett, Benjamin J.; Jae Ho Shin, dan Mark H. Schoenfish. 2008. *Electrochemical Sensors*. *Anal. Chem.*, 2008, 80 (12), 4499-4517.
- Preininger, C., I. Klimant & O. S. Wolfbeis. 1994. *Optical Fiber Sensor for Biological Oxygen Demand*. *Analytical Chemistry* 66 (11), 1841 – 1846.
- Randy, Ahmad. 2007. *Pemanfaatan Membran Cangkang Telur pada Microbial Fuelcell Termediasi Methylene Blue Menggunakan Kultur Saccharomy cerevicae*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia-FMIPA UI.
- Rianasari, S. D. 2004. *Penapisan Kemampuan Biosorpsi Cr, Cu, Hg, dan Pb oleh Strain-Strain Khamir Toleran Logam Berat dari Perairan Laut di Sekitar Teluk Jakarta, Jakarta Utara*. Skripsi S1 Departemen Biologi FMIPA-UI, Depok: x+ 78 hlm.
- Riedel, K. 1990. *A microbial Sensor for BOD*. *Water Research*, 24(7), 883 - 887.
- Riedel, K. 1998. *Microbial Biosensors Based on Oxygen Electrodes*. In A. Mulchandani & K. R. Rogers (Eds.), *Enzyme and microbial biosensors: techniques and protocols*. Humana Press.
- Riki. 2008. *Seleksi Berbagai Spesies Khamir Untuk Menghasilkan Xilitol Menggunakan Bahan Dasar D-Xilosa*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Roberts M,W. 1991. *Evidence for the role of Surface Transients and Precursor States in Determining Molecular Pathways in Surface Reactions*. *Applied Surf. Sci.*, 52, 133-140.

- Robinson RK. 1987. *Survival of Lactobacillus Acidophilus in Fermented Products-Afrikaanse*. Suid A Frikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde. 19: 25-27.
- Ru-hai, T., Tata, N.R., Yasuaki, E. & Jin-Fang, Z. 2006. *Construction of Two-Dimensional Arrays Gold Nanoparticles Monolayer onto Boron-Doped Diamond Electrode Surface*. Chem. Mater, 18, 939-945.
- Ru-hai, T & Jin-Fang, Z. 2007. *Fabrication and Electrochemical Properties of Boron-Doped Diamond Film-Gold Nanoparticle Array Hybrid Electrode*. Electrochemical Communications 9, 1120-1126.
- Sabrina, Nurul. 2011. *Nanopartikel Emas Termodifikasi Kitosan Sebagai Pendeteksi Ion Logam Berat*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia-FMIPA UI. xix + 103 hlm.
- Salmin. 2005. *Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Air*. Oseana. XXX (3), 21—26.
- Skjak-Braek, 1989. *Effect of Acetylation on Some Solution and Gelling Properties of Alginate*. Carbohydr Res 185, 131-138.
- Skoog, West. 1985. *Fundamental of Analytical Chemistry*. USA: Thomson Learning Academic Resource Center.
- SNI 6989.72. 2009. *Air dan Air Limbah – Bagian 72: Cara Uji Kebutuhan Oksigen Biokimia (Biochemical Oxygen Demands/BOD)*. Jakarta.
- Sohn, B., & Kim, C. 1996. *A new pH-ISFET based dissolved oxygen sensor by employing electrolysis of oxygen*. Sensors and Actuators, B 34, 435–550.
- Sun, K., J. Qiu, J.Liu & Y. Miao. 2009. *Preparation and Characterization of Gold Nanoparticles Using Ascorbic Acid as Reducing Agent in Reverse Micelles*. J. Mater Sci. 44, 754—758.
- Tribidasari A., Ivandini et. el. 2008. *Construction of Gold Nanoparticles Array at Carbon Substrate by Self-Assembly Method for Sensor and Biosensor Applications* (Research Proposal for Bangkok Meeting).
- Urgeghe, C. 2006. *Oxygen evolution and oxygen reduction in electrochemical energy conversion*. Unpublished doctoral dissertation, Università degli Studi di Ferrara, Ferra. Italia.
- Umar, Rania. 2012. *Anodic Stripping Voltammetry Pada As (III) dan As (V) dengan Elektroda Glassy Carbon dan Screen Printed Electrode Termodifikasi Nanopartikel Emas*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia-FMIPA. xiv + 93 hlm.

- Vaskelis, A., R. Tarozait & A. Jagminien. 2007. *Gold Nanoparticles Obtained by Au (III) Reduction with Sn (II): Preparation and Electrocatalytic Properties in Oxidation of Reducing Agents* *Electrochim. Acta.* 53, 407—416.
- 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, 233—238.
- Wagner, J. Tshikhudo, T. R., Kohler, J. M. 2008. *Microfluidic Generation of Metal Nanoparticles by Borohydride Reduction*. *Chem. Eng. J.* 135, S104—S109.
- Wang, Joseph. 2000. *Analytical Electrochemistry (2nd ed)*. John Wiley and Sons Inc.
- Walker, G. M. 1998. *Yeudo, T. R. Kohast Physiology and Biotechnology*. New York: John Wiley & Sons Ltd. ix + 350 hlm.
- Walmsley, R. M. & P. Keenan. 2000. *The Eukaryote Alternative: Advantages of Using Yeast in Place of Bacteria in Microbial Biosensor Development*. *Biotechnologu and Bioprocess Engineering* 5: 387—394.
- Wibowo, Rahmat. 2004. *KSK Analisis Elektrokimia*. Depok: Departemen Kimia FMIPA UI.
- Widiyah, Sri. 2010. *Deteksi Ion logam Berat Secara Simultan pada Elektroda Boron-Doped Diamond dengan Metode Anodic Stripping Voltammetry*. Depok: Tesis S2 Departemen Kimia-FMIPA UI.
- Wijaya, Lanny. 2008. *Modifikasi Elektroda Karbon dengan Nanopartikel Emas dan Aplikasinya Sebagai Sensor Arsen(III)*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.
- Wu, Chaohong & Tan, T.C. 1999. *BOD sensors using multi-species living or thermally killed cells of a BODSEED microbial culture*. Department of Chemical Engineering, National University of Singapore.
- Yang, S., & Greg, M.S. 2007. *Total Inorganic Arsenic Detection in Real Water Sample Using Anodic Stripping Voltammetry and a Gold-Coated Diamond Thin-Film Electrode*. *Analytica Chimica Acta*, 593, 7-12.
- Yarrow, D. 1998. *Methods for the Isolation, Maintance, and Identification of Taxonomic Study*. Amsterdam: 4th ed. Elsvier. 77—100.
- Yi Sun, E., Josephson, L. Kelly, Kim A., Weissleder, Ralph. 2006. *Development of Nanoparticle Libraries for Biosensing*. Boston. *Bioconjugate Chem.* 2006, 17, 109113.
- Yu Lei, W. Chen & A. Mulchandani. 2006. *Microbial Biosensor: Review*. *Analytica Chimica Acta* 568, 200—210.

- Yu, J. 2008. *Development of Microfabricated Electrochemical Sensors for Environmental Parameter Measurements Applicable to Corrosion Evaluation and Gaseous Oxygen Detection*. Unpublished doctoral dissertation, Case Western Reserve University.
- Yulizar, Yoki. 2004. *KSK Fifik IV : Kimia Nanopartikel Logam*. Depok: Departemen Kimia FMIPA UI.
- Zul, Nurlita. 2012. *Polimerisasi Anilin pada Permukaan Nanopartikel Ag sebagai Pendeteksi Ion Logam Berat dalam Sistem Koloid*. Depok: Tesis S2 Departemen Kimia-FMIPA UI. vi + 96 hlm.
- 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*. Depok: Skripsi S1 Departemen Kimia FMIPA UI.

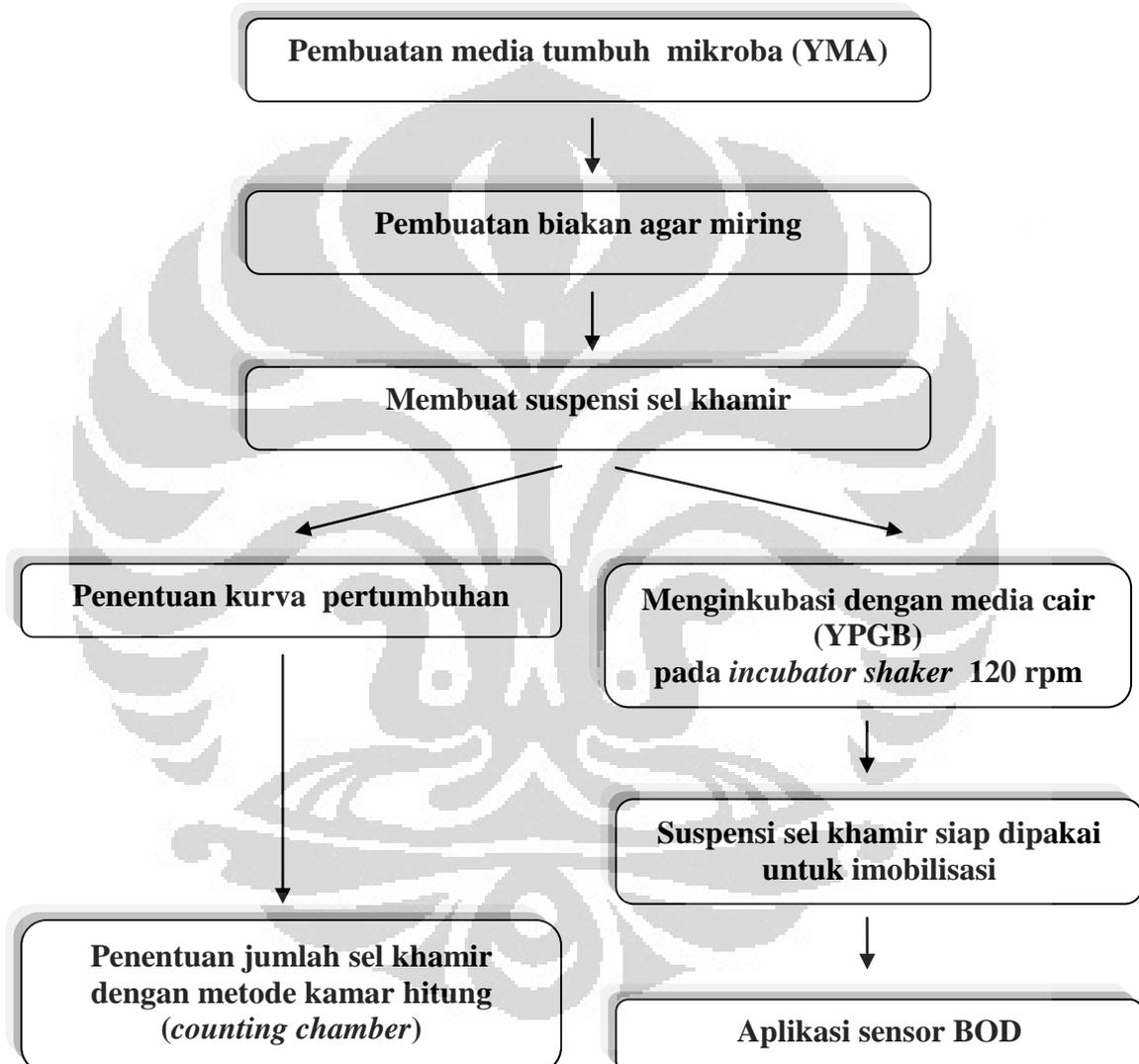


LAMPIRAN

Lampiran 1:

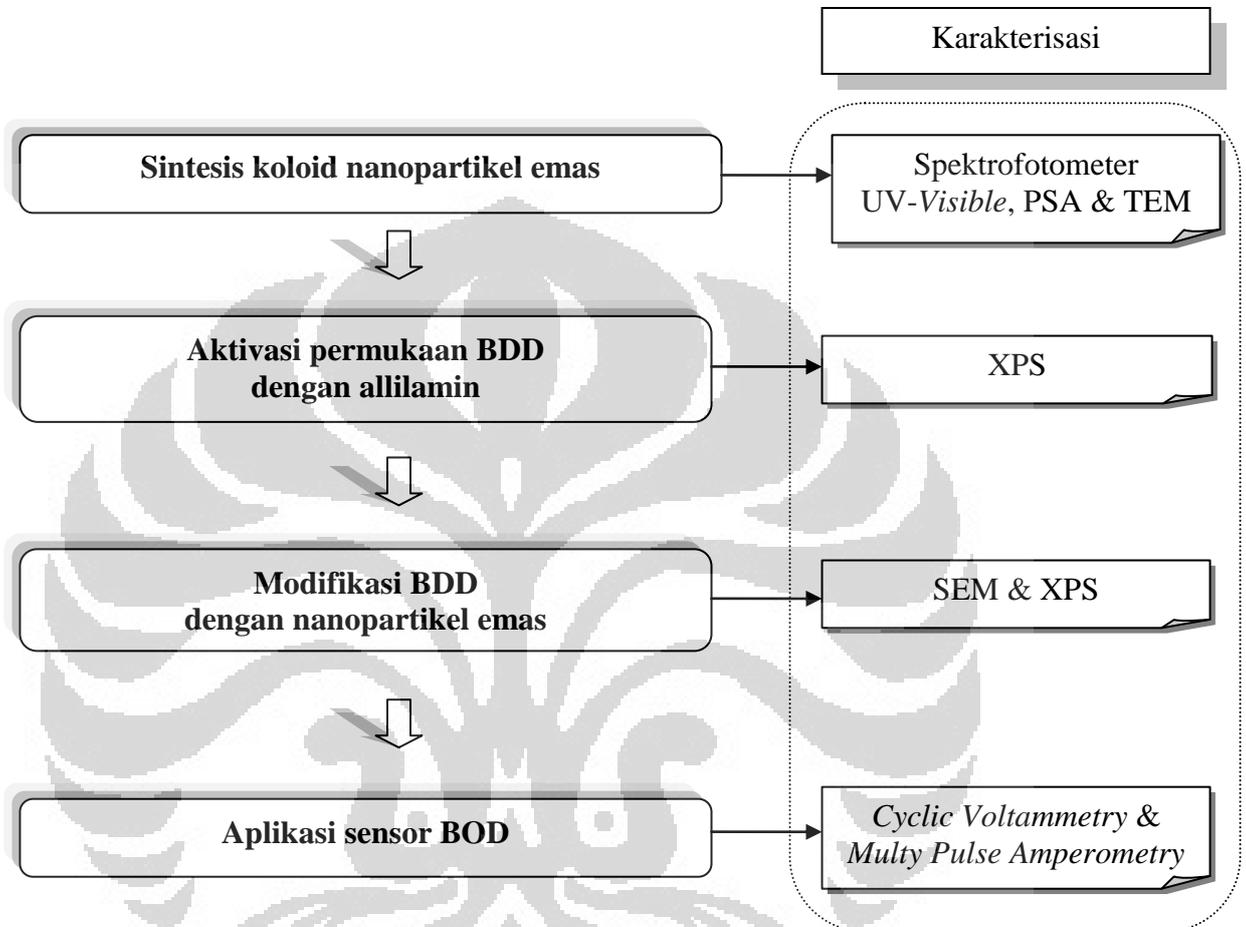
Bagan Kerja

Preparasi Sel Khamir



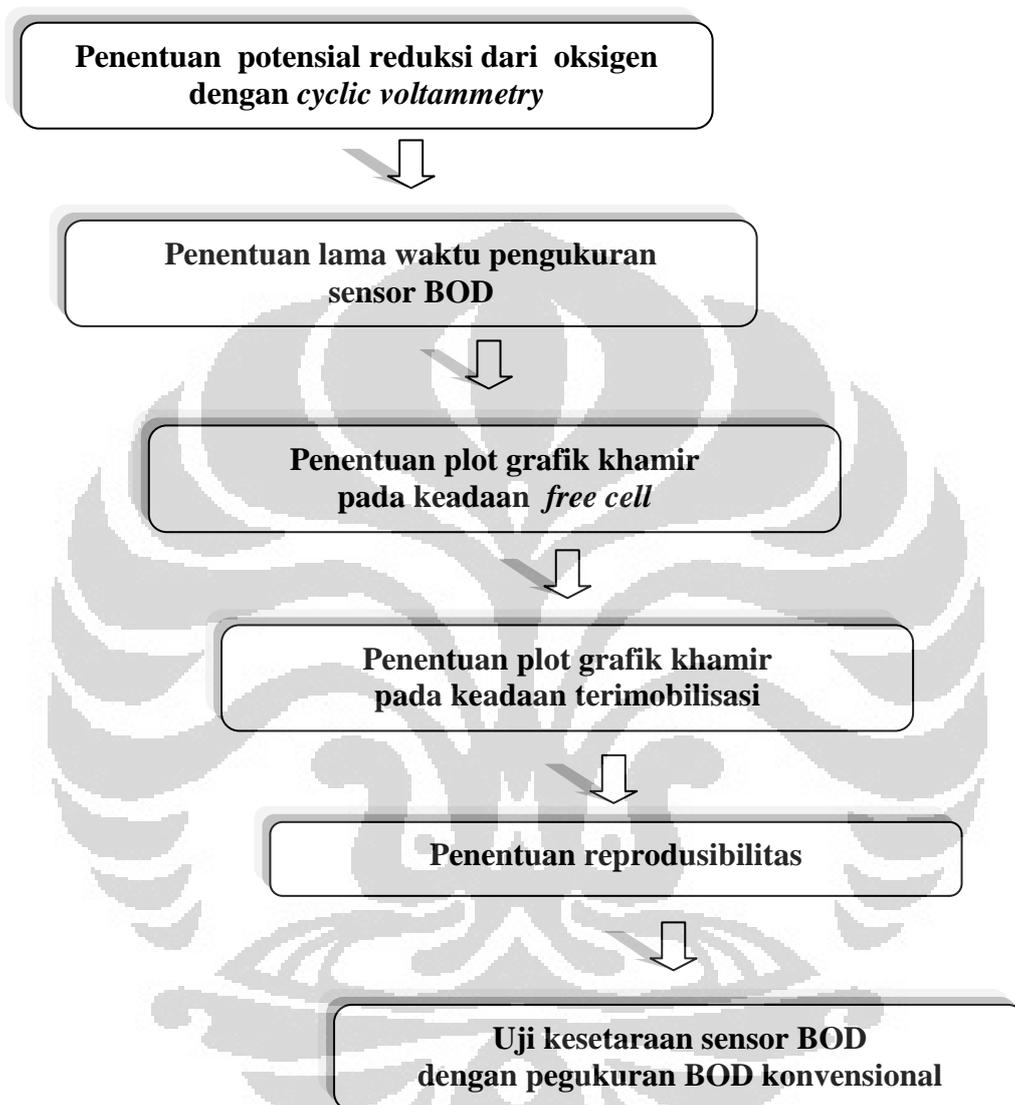
(lanjutan)

Fabrikasi Elektroda BDD-NPAu



(lanjutan)

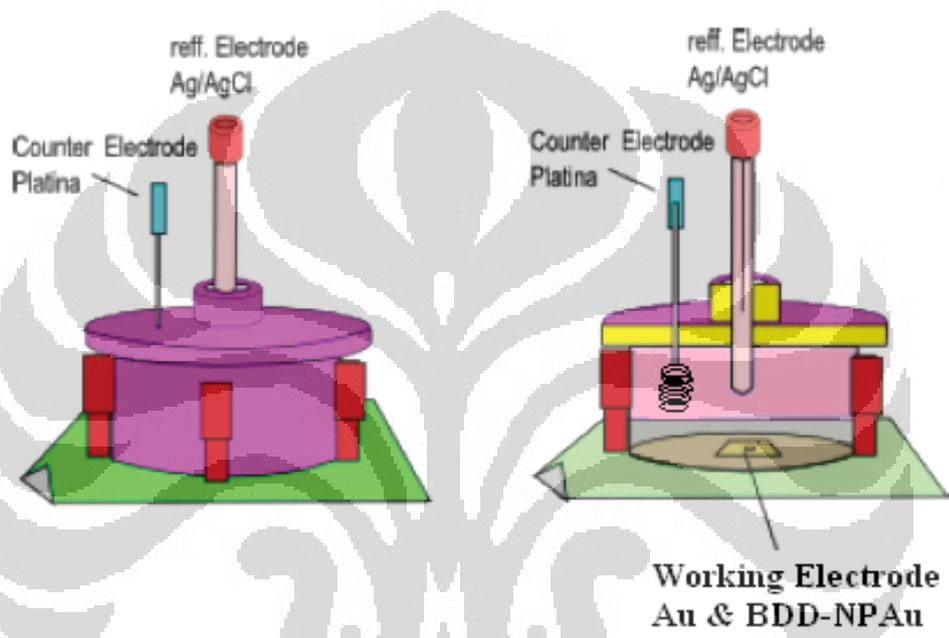
Aplikasi Sensor BOD



Lampiran 2:

Rancangan Sensor BOD

[Dewangga, 2010, telah diolah kembali]



Lampiran 3:

Data Waktu Pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Waktu Pertumbuhan (jam)	Nilai Optical Density
0	1,815
6	1,959
12	2,355
18	4,278
24	4,754
30	4,657
42	4,500
48	4,498



Lampiran 4:

Data Plot Grafik antara Konsentrasi Oksigen dan Arus

a. Pada elektroda Au

Konsentrasi Oksigen (ppm)	Arus (mA)
7,70	-0,00588
8,57	-0,00746
9,19	-0,0115
9,90	-0,0123
10,59	-0,0156
11,11	-0,0176

b. Pada elektroda BDD-NPAu

Konsentrasi Oksigen (ppm)	Arus (mA)
7,70	-0,00115
8,57	-0,00204
9,19	-0,00270
9,90	-0,00336
10,59	-0,00418
11,11	-0,00495

Lampiran 5:

Data Plot Grafik antara Variasi Kadar Glukosa dan ΔI (I_0 - I_{20})

a. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dalam keadaan *Free Cell*

1. Elektroda Au

Kadar Glukosa (mM)	ΔI (I_0 - I_{20}) dalam mA
0,1	-0,00201
0,3	-0,00538
0,5	-0,00757
0,7	-0,00949
0,9	-0,0103

2. Elektroda BDD-NPAu

Kadar Glukosa (mM)	ΔI (I_0 - I_{20}) dalam mA
0,1	-0,00155
0,3	-0,00288
0,5	-0,00409
0,7	-0,00600
0,9	-0,00702

b. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Gelatin

1. Elektroda Au

Kadar Glukosa (mM)	ΔI (I_0 - I_{20}) dalam mA
0,1	-0,000484
0,3	-0,000519
0,5	-0,000556
0,7	-0,000591
0,9	-0,000669

2. Elektroda BDD-NPAu

Kadar Glukosa (mM)	ΔI (I_0 - I_{20}) dalam mA
0,1	-0,00200
0,3	-0,00226
0,5	-0,00252
0,7	-0,00276
0,9	-0,00287

(lanjutan)

c. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Alginat

1. Elektroda Au

Kadar Glukosa (mM)	$\Delta I (I_0-I_{20})$
0,1	-0,000637
0,3	-0,000978
0,5	-0,00126
0,7	-0,00135
0,9	-0,00151

2. Elektroda BDD-NPAu

Kadar Glukosa (mM)	$\Delta I (I_0-I_{20})$ dalam mA
0,1	-0,000184
0,3	-0,000597
0,5	-0,000841
0,7	-0,00112
0,9	-0,00119

Lampiran 6:

Data Arus Reduksi pada Penentuan Reprodusibilitas

a. Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181 dalam keadaan *Free Cell*

1. Elektroda Au

Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00117
2	-0,00111
3	-0,00107
4	-0,00110
5	-0,00117
6	-0,00106
7	-0,00104
8	-0,00102
9	-0,00106
10	-0,00096
11	-0,00117
12	-0,00095
13	-0,00098
14	-0,00096
15	-0,00091
Rata-rata	-0,001050
Standar deviasi	0,000086
%RSD	8,21

2. Elektroda BDD-NPAu

Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00220
2	-0,00201
3	-0,00205
4	-0,00203
5	-0,00186
6	-0,00203
7	-0,00195
8	-0,00194
9	-0,00192
10	-0,00190
11	-0,00205
12	-0,00182
13	-0,00177
14	-0,00167
15	-0,00167
Rata-rata	-0,001920
Standar deviasi	0,000148
%RSD	7,70

Standar deviasi →

$$sd = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

Deviasi rata-rata relatif (%) →

$$RSD(\%) = \frac{\bar{d}}{x} \times 100\% = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} |x_i - \bar{x}| / n}{\bar{x}} \times 100$$

(lanjutan)

b. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Gelatin

1. Elektroda Au

Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00038
2	-0,00038
3	-0,00037
4	-0,00034
5	-0,00034
6	-0,00038
7	-0,00038
8	-0,00036
9	-0,00038
10	-0,00034
11	-0,00037
12	-0,00034
13	-0,00037
14	-0,00032
15	-0,00032
Rata-rata	-0,000361
Standar deviasi	0,000017
%RSD	4,73

2. Elektroda BDD-NPAu

Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00318
2	-0,00316
3	-0,00314
4	-0,00313
5	-0,00330
6	-0,00330
7	-0,00296
8	-0,00314
9	-0,00330
10	-0,00297
11	-0,00296
12	-0,00290
13	-0,00285
14	-0,00283
15	-0,00281
Rata-rata	-0,003062
Standar deviasi	0,000127
%RSD	4,14

(lanjutan)

c. Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181 Terimobilisasi dalam Alginat

1. Elektroda Au

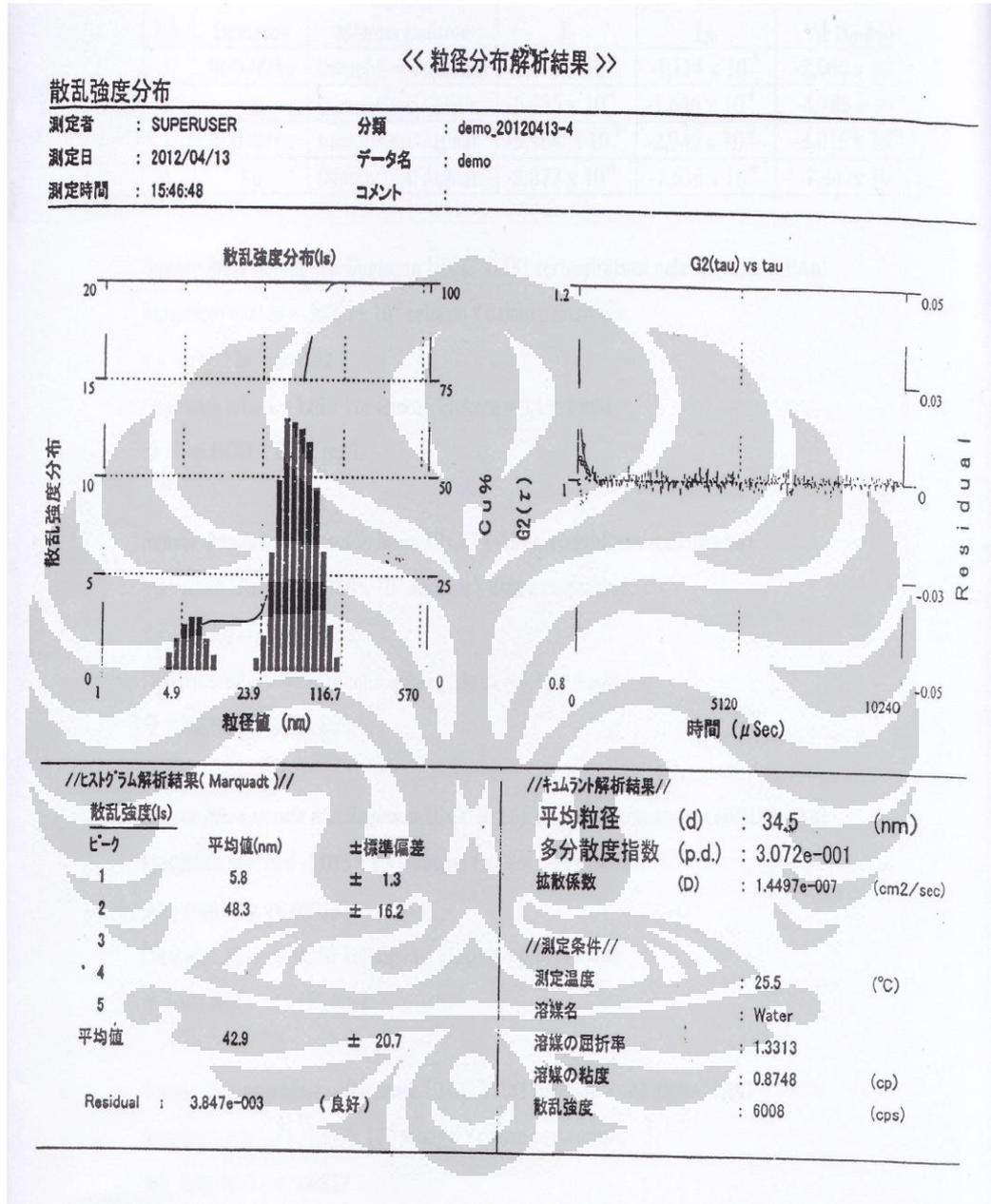
Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00131
2	-0,00128
3	-0,00125
4	-0,00120
5	-0,00113
6	-0,00128
7	-0,00119
8	-0,00118
9	-0,00113
10	-0,00125
11	-0,00118
12	-0,00120
13	-0,00119
14	-0,00113
15	-0,00102
Rata-rata	-0,00120
Standar deviasi	0,000754
%RSD	6,23

2. Elektroda BDD-NPAu

Pengukuran ke-	Arus (mA)
1	-0,00264
2	-0,00260
3	-0,00255
4	-0,00253
5	-0,00242
6	-0,00247
7	-0,00236
8	-0,00233
9	-0,00247
10	-0,00250
11	-0,00241
12	-0,00241
13	-0,00233
14	-0,00232
15	-0,00230
Rata-rata	-0,00245
Standar deviasi	0,00011
%RSD	4,40

Lampiran 7:

Data Hasil Particle Size Analyzer



Lampiran 8:

Pengujian Kesetaraan Pengukuran BOD Konvensional dengan Metode Sensor Kimia

No.	Elektroda	Kondisi Mikroorganisme	$\Delta I (I_0 - I_{20})$ dalam mA
1.	Au	Diimobilisasi Gelatin	-0,0004789
2.	BDD-NPAu	Diimobilisasi Gelatin	-0,002060
3.	Au	Diimobilisasi Alginat	-0,0007347
4.	BDD-NPAu	Diimobilisasi Alginat	-0,0003015

Sensor *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi gelatin (Au)

Masukkan nilai $\Delta I = -0,0004789$ sebagai Y dalam persamaan:

$$Y = -0,000221x - 0,000453$$

Diperoleh nilai $x = \text{kadar konsentrasi glukosa} = 0,11719 \text{ mM}$

→ Nilai BOD = 11,719 mg/L

Sensor *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi gelatin (BDD-NPAu)

Masukkan nilai $\Delta I = -0,002060$ sebagai Y dalam persamaan:

$$Y = -0,00112x - 0,00192$$

Diperoleh nilai $x = \text{kadar konsentrasi glukosa} = 0,1252 \text{ mM}$

→ Nilai BOD = 12,52 mg/L

Sensor *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi alginat (Au)

Masukkan nilai $\Delta I = -0,0007347$ sebagai Y dalam persamaan:

$$Y = -0,00106x - 0,000617$$

Diperoleh nilai $x = \text{kadar konsentrasi glukosa} = 0,11104 \text{ mM}$

→ Nilai BOD = 11,104 mg/L

Sensor *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 terimobilisasi alginat (BDD-NPAu)

Masukkan nilai $\Delta I = -0,0003015$ sebagai Y dalam persamaan:

$$Y = -0,00127x - 0,000152$$

Diperoleh nilai $x = \text{kadar konsentrasi glukosa} = 0,11771 \text{ mM}$

→ Nilai BOD = 11,771 mg/L

(lanjutan)

Menghitung Nilai BOD Konvensional:

$$\text{BOD}_5 = [(A_1 - A_2) - (B_1 - B_2)] \times K$$

Keterangan:

BOD_5 adalah nilai BOD_5 sampel (mg/L);

A_1 adalah kadar oksigen terlarut sampel uji sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L);

A_2 adalah kadar oksigen terlarut sampel uji setelah inkubasi (5 hari) (mg/L);

B_1 adalah kadar oksigen terlarut blanko sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L);

B_2 adalah kadar oksigen terlarut blanko uji setelah inkubasi (5 hari) (mg/L);

K adalah faktor pengenceran

Menghitung Nilai kadar oksigen (DO):

$$\text{DO} = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times \text{vol } S_2O_3^{2-}}{P} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

Menghitung nilai A_1 :

$$\text{vol } S_2O_3^{2-} = 26,93 \text{ mL}$$

$$\text{DO} = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times 26,93 \text{ mL}}{300 - 4 \text{ mL}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$A_1 = \text{DO} = 0,00728 \text{ g/l} = 7,28 \text{ mg/L} = 7,28 \text{ ppm}$$

Menghitung nilai A_2 :

$$\text{vol } S_2O_3^{2-} = 20,57 \text{ mL}$$

$$\text{DO} = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times 20,57 \text{ mL}}{300 - 4 \text{ mL}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$A_2 = \text{DO} = 0,00556 \text{ g/l} = 5,56 \text{ mg/L} = 5,56 \text{ ppm}$$

(lanjutan)

Menghitung nilai B₁ :

$$\text{vol } S_2O_3^{2-} = 5,66 \text{ mL}$$

$$DO = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times 5,66 \text{ mL}}{300 - 4 \text{ mL}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$B_1 = DO = 0,00153 \text{ g/l} = 1,53 \text{ mg/L} = 1,53 \text{ ppm}$$

Menghitung nilai B₂ :

$$\text{vol } S_2O_3^{2-} = 2,48 \text{ mL}$$

$$DO = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times 2,48 \text{ mL}}{300 - 4 \text{ mL}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$B_2 = DO = 0,00067 \text{ g/l} = 0,67 \text{ mg/L} = 0,67 \text{ ppm}$$

Menghitung Nilai BOD Konvensional:

$$BOD_5 = [(A_1 - A_2) - (B_1 - B_2)] \times K$$

K diperoleh dari pengenceran 50 mL sampel ke dalam 1 L = 20 kali

$$\begin{aligned} BOD_5 &= [(7,28 \text{ ppm} - 5,56 \text{ ppm}) - (1,53 \text{ ppm} - 0,67 \text{ ppm})] \times 20 \\ &= 17,20 \text{ ppm} = 17,20 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Lampiran 9:

LAMPIRAN PERATURAN PEMERINTAH
 NOMOR 82 TAHUN 2001
 TANGGAL : 14 Desember 2001
 TENTANG : PENGELOLAAN KUALITAS AIR DAN
 PENGENDALIAN PENCEMARAN AIR

Kriteria Mutu Air Berdasarkan Kelas

PARAMETER	SATUAN	KELAS				KETERANGAN
		I	II	III	IV	
FISIKA						
Temperatur	$^{\circ}\text{C}$	Deviasi 3	Deviasi 3	Deviasi 3	Deviasi 5	Deviasi temperatur dari alamiahnya
Residu Terlarut	mg/L	1000	1000	1000	2000	
Residu Tersuspensi	mg/L	50	50	400	400	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, residu tersuspensi ≤ 5000 mg/L
KIMIA ORGANIK						
pH		6 - 9	6 - 9	6 - 9	5 - 9	Apabila secara alamiah di luar rentang tersebut, maka ditentukan berdasarkan kondisi alamiah
BOD	mg/L	2	3	6	12	
COD	mg/L	10	25	50	100	
DO	mg/L	6	4	3	0	Angka batas minimum
Total fosfat sbg P	mg/L	0,2	0,2	1	5	
NO_3 sebagai N	mg/L	10	10	20	20	
$\text{NH}_3\text{-N}$	mg/L	0,5	(-)	(-)	(-)	Bagi Perikanan, kandungan amonia bebas untuk ikan yang peka $\leq 0,02$ mg/L sebagai NH_3
Arsen	mg/L	0,05	1	1	1	
Kobalt	mg/L	0,2	0,2	0,2	0,2	
Barium	mg/L	1	(-)	(-)	(-)	
Boron	mg/L	1	1	1	1	
Selenium	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	
Kadmium	mg/L	0,01	0,01	0,01	0,01	
Khrom (VI)	mg/L	0,05	0,05	0,05	1	
Tembaga	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,2	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, $\text{Cu} \leq 1$ mg/L
Besi	mg/L	0,3	(-)	(-)	(-)	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, $\text{Fe} \leq 5$ mg/L
Timbal	mg/L	0,03	0,03	0,03	1	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, $\text{Pb} \leq 0,1$ mg/L
FISIKA						
Mangan	mg/L	0,1	(-)	(-)	(-)	
Air Raksa	mg/L	0,001	0,002	0,002	0,005	

Lampiran 10:

Peraturan Gubernur Provinsi DKI Jakarta
Nomor : 122 Tahun 2005
Tanggal : 19 Oktober 2005

BAKU MUTU LIMBAH CAIR DOMESTIK

PARAMETER	SATUAN	INDIVIDUAL / RUMAH TANGGA	KOMUNAL
pH	-	6 - 9	6 - 9
KMnO ₄	Mg / L	85	85
TSS	Mg / L	50	50
Amoniak	Mg / L	10	10
Minyak & Lemak	Mg / L	10	10
Senyawa Biru Metilen	Mg / L	2	2
COD	Mg / L	100	80
BOD	Mg / L	75	50

GUBERNUR PROVINSI DAERAH KHUSUS
IBUKOTA JAKARTA

SUTIYOSO