

**PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI ELEKTRODA SELEKTIF
BERBASIS KARBON NANOPORI/*MOLECULARLY IMPRINTED*
POLYMER UNTUK ANALISIS GLUKOSA DALAM MADU**

Hayati Ika Puspitasari, Dr. Muji Harsini, M.Si., Dr. Ir. Suyanto M.Si

Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo, Surabaya

ABSTRACT

Preparation and characterization of selective electrodes based on nanoporous carbon/molecularly imprinted polymer (MIP) for glucose analysis in honey have been done. The purpose of the research is to know the optimum condition of electrodes based on nanoporous carbon/MIP and to know its electrodes performance. Molecularly imprinted polymer (MIP) was made by mixing glucose as template, methacrylic acid as monomer and ethylene glycol dimethacrylate as crosslinker with a ratio 1:4:12. The electrodes were made by mixing nanoporous carbon, MIP and paraffin with ratio 45:20:35. This research obtained optimum pH of glucose solution is 7,0-8,0, Nernst factor is 27,8 mV/decade, range of measurement from concentration 10^{-6} M until 10^{-2} M. Limit detection of this electrodes is $6,17 \times 10^{-7}$ M. The selectivity coefficient of fructose and sucrose solution are $1,786 \times 10^{-3}$ and $5,155 \times 10^{-4}$ which means these solution doesn't interfere measurement. The accuracy of this electrodes is 93,86% for concentration 10^{-2} M and 132% for concentration 10^{-4} M, coefficient of variation is 1,09% for concentration 10^{-2} M and 2,26% for concentration 10^{-4} M. The content of glucose in honey which measured using this electrode is 22,4% w/w.

Key word : glucose, molecularly imprinted polymer, potentiometry, nanoporous carbon

ABSTRAK

Telah dilakukan pembuatan dan karakterisasi elektroda selektif berbasis karbon nanopori/*molecularly imprinted polymer* (MIP) untuk analisis glukosa dalam madu. Penelitian ini bertujuan mengetahui kondisi optimum dan kinerja

elektroda selektif berbasis karbon nanopori/MIP untuk analisis glukosa dalam madu. *Molecularly imprinted polymer* (MIP) dibuat dengan mereaksikan glukosa sebagai template, asam metakrilat sebagai monomer dan etilen glikol dimetakrilat sebagai crosslinker dengan perbandingan berturut-turut 1:4:12. Elektroda dibuat dengan mencampurkan karbon nanopori, MIP dan parafin dengan perbandingan berturut-turut 45:20:35. Dari penelitian diperoleh pH optimum larutan glukosa sebesar 7,0-8,0, faktor Nernst sebesar 27,8 mV/dekade, jangkauan pengukuran sebesar 10^{-6}M - 10^{-2}M . Konsentrasi terkecil glukosa yang dapat diukur oleh elektroda sebesar $6,17 \times 10^{-7}\text{M}$. Koefisien selektivitas dari larutan fruktosa dan sukrosa sebesar $1,786 \times 10^{-3}$ dan $5,155 \times 10^{-4}$ yang berarti adanya larutan tersebut tidak mengganggu pengukuran. Elektroda ini memiliki akurasi pengukuran sebesar 93,86% untuk konsentrasi 10^{-2}M dan sebesar 132% untuk konsentrasi 10^{-4}M , presisi dinyatakan dengan koefisien variasi sebesar 1,09% untuk konsentrasi 10^{-2}M dan 2,26% untuk konsentrasi 10^{-4}M serta diperoleh kadar glukosa dalam madu sebesar 22,4% b/b.

Kata kunci : glukosa, molecularly imprinted polymer, potensiometri, karbon nanopori

PENDAHULUAN

Glukosa merupakan salah satu monosakarida yang terpenting sebagai sumber tenaga bagi makhluk hidup. Glukosa biasa disebut gula darah karena dijumpai dalam darah.³ Di alam, glukosa banyak terdapat dalam buah-buahan dan madu lebah. Madu merupakan bahan makanan yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Madu mengandung 38% fruktosa, 31% glukosa, 7% maltosa, 1,3% sukrosa, dan air rata-rata 17,2%.¹⁴ Kandungan madu yang unik membuat madu sering dipalsukan dengan penambahan pemanis buatan yang berbahaya pada penderita Diabetes Mellitus.⁵ Penentuan glukosa sebagai gula pereduksi biasa dilakukan dengan metode Nelson-Somogyi,¹² biosensor menggunakan enzim, dan HPLC.¹¹ Metode yang digunakan kurang akurat, Adapun yang akurat membutuhkan biaya yang relatif tinggi. Dari permasalahan tersebut diperlukan metode yang lebih sederhana namun tetap memberikan hasil yang akurat yaitu menggunakan teknik elektrokimia khususnya potensiometri dengan modifikasi

elektroda menggunakan *molecularly imprinted polymer* (MIP). Teknik MIP akan menghasilkan cetakan yang spesifik terhadap analit dalam sampel.¹ Metode *imprinted polymer* ini sangat cocok untuk pengembangan sensor karena akan menghasilkan sensor yang selektif dan sensitif terhadap analit target.⁷ Pada penelitian ini MIP dibuat dengan mereaksikan *template* glukosa dengan monomer asam metakrilat dan *crosslinker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dengan bantuan benzoil peroksida sebagai inisiator¹⁰ serta tambahan karbon nanopori karena bersifat inert dan memiliki konduktivitas yang tinggi.⁹

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah glukosa, fruktosa, sukrosa, asam metakrilat, kloroform, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), benzoil peroksida, air *Ultra High Pure* (UHP), metanol, asam asetat, natrium asetat trihidrat, kalium hidrogenfosfat trihidrat, kalium dihidrogenfosfat, kawat Ag, parafin padat dan karbon nanopori. Karbon nanopori diperoleh dari puslitbang hasil hutan LIPI. Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis.

Alat-alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan seperangkat alat potensiometri *Cyberscan* 510, pH-meter tipe 744, instrumen FTIR, *hotplate magnetic stirrer*, *tube* mikropipet, serta alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Pembuatan *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP) dan polimer kontrol

Molecularly Imprinted Polymer (MIP) dibuat dengan mereaksikan 0,0688 gram monomer asam metakrilat, 0,0360 gram glukosa dan 0,4752 gram etilen glikol dimetakrilat dalam kloroform. Campuran larutan kemudian dipanaskan pada temperatur 60°C selama kurang lebih 2 jam tanpa pengadukan. Padatan yang terbentuk kemudian digerus dan diayak dengan ukuran 200 mesh. MIP yang terbentuk kemudian di cuci dengan asam asetat :metanol (2:8 v/v) dan air 70°C.¹⁰

Sedangkan polimer kontrol dibuat serupa dengan MIP tanpa penambahan *template* glukosa.

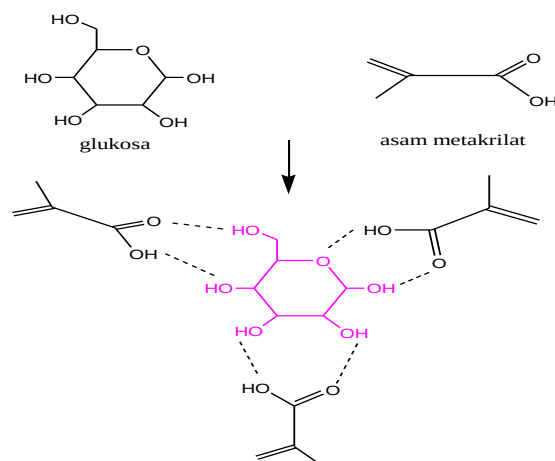
Pembuatan Badan Elektroda Karbon Nanopori/MIP

Elektroda dibuat dengan cara memasukkan parafin padat ke dalam $\frac{3}{4}$ tip mikropipet yang di dalamnya telah dipasang kawat Ag. Sisa tip yang belum terisi, diisi dengan karbon nanopori yang telah dicampur dengan parafin padat dan MIP kemudian ditekan hingga tip terisi penuh. Untuk membentuk pasta dilakukan pemanasan terlebih dahulu pada campuran tersebut. Selanjutnya, permukaan elektroda digosokkan pada kertas HVS hingga permukaannya halus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP) dan Polimer kontrol

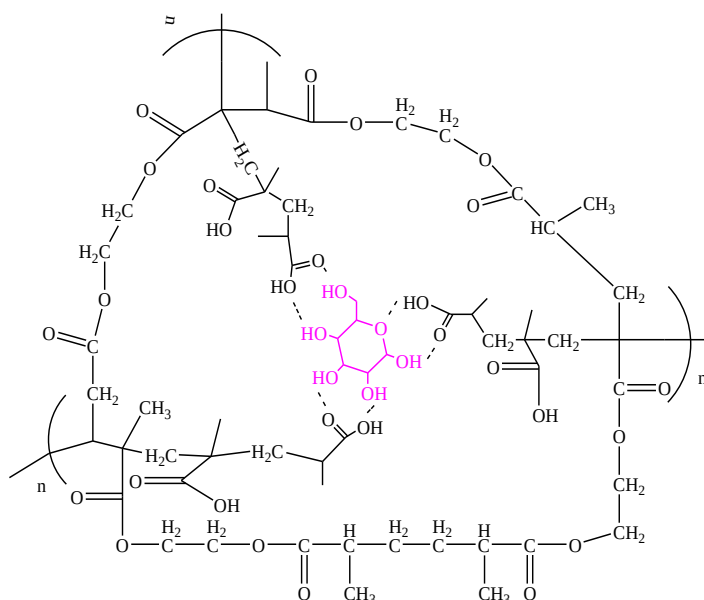
Bahan dasar pembuatan MIP adalah monomer asam metakrilat, *template* glukosa, dan crosslinker etilen glikol dimetakrilat dengan perbandingan berturut-turut 4:1:12.¹⁰ Ikatan yang terjadi antara *template* dan monomer diperkirakan adalah ikatan hidrogen antara O dan H. Perkiraan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Perkiraan reaksi antara glukosa dan asam metakrilat

Polimerisasi yang terjadi pada reaksi ini adalah polimerisasi adisi karena tidak disertai pembentukan molekul kecil seperti H_2O yang dapat mengganggu ikatan antara *template* dan monomer. Polimerisasi adisi membutuhkan inisiator untuk memulai reaksi. Inisiator yang digunakan adalah benzoil peroksida yang dapat membentuk radikal. Setelah radikal terbentuk terjadi propagasi yaitu

pemanjangan rantai. Tahap terakhir pada proses ini adalah terminasi yaitu berhentinya proses polimerisasi.⁶ Polimerisasi berlangsung selama 2 jam pada suhu 60°C sampai pelarut habis menguap. MIP yang terbentuk adalah padatan kekuningan yang berada pada dasar gelas. Padatan kemudian digerus, diayak dengan ukuran 200 mesh dan dicuci dengan asam asetat metanol 2:8 (v/v) dan air 70°C.¹⁰ Ikatan yang terjadi adalah ikatan hidrogen sehingga mudah diputus dan didapatkan MIP yang telah diekstraksi. Perkiraan reaksi polimerisasi dapat dilihat pada gambar 2.

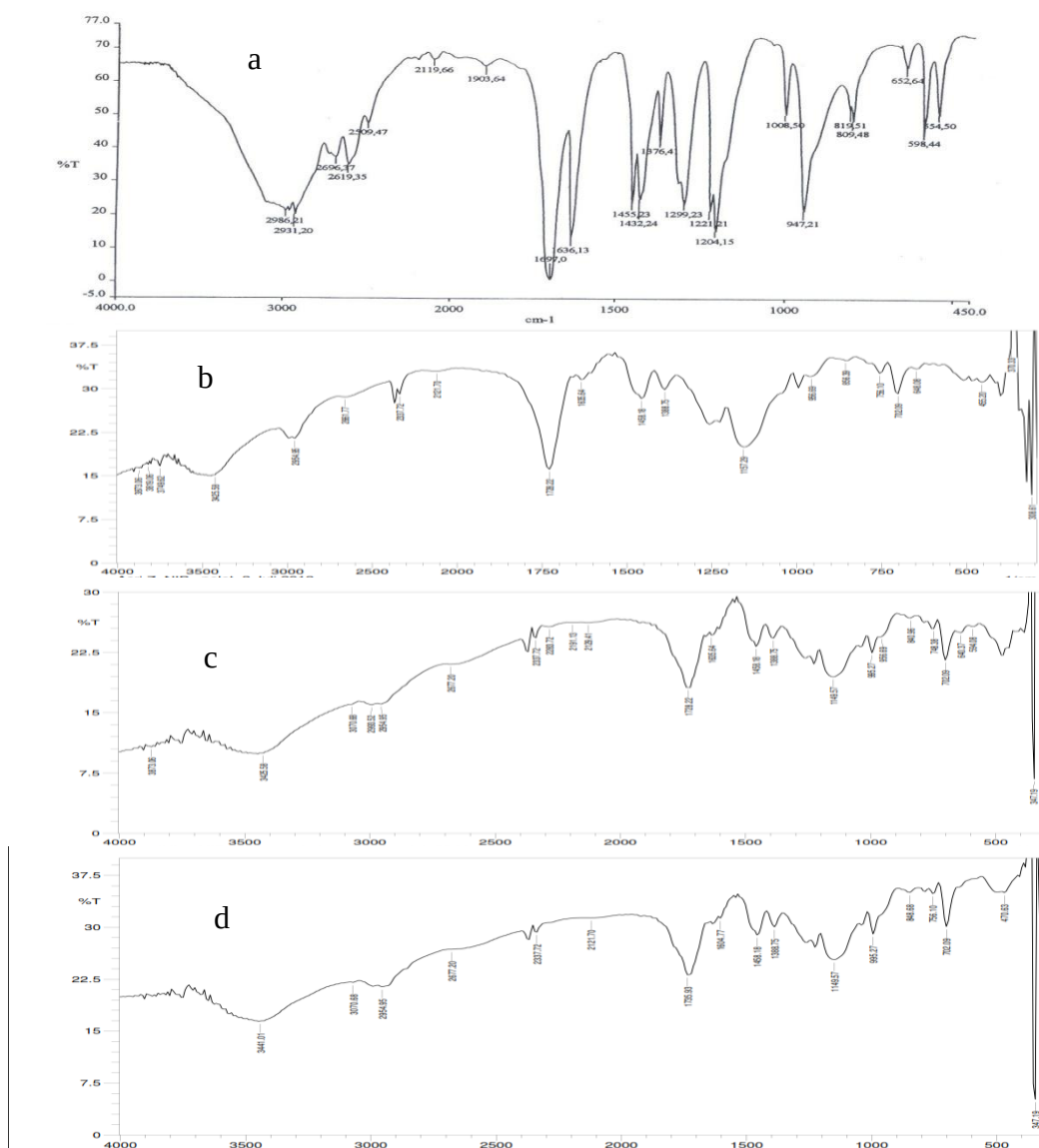


Gambar 2 Perkiraan polimerisasi asam metakrilat dan glukosa saat ditambahkan *crosslinker* EGDMA

Polimer kontrol dibuat serupa dengan MIP namun tanpa penambahan *template*. Hal ini membuat polimer *control* tidak memiliki sisi pengenal yang spesifik terhadap analit.

Dari hasil MIP dan polimer kontrol dilakukan karakterisasi dengan FT-IR yang spektranya dapat dilihat pada gambar 3. Berdasarkan spektra FT-IR terjadi pergeseran pita serapan C=O yang terkonjugasi C=C dari monomer asam metakrilat pada bilangan gelombang 1697 cm^{-1} (spektrum a) bergeser menjadi 1728,22 cm^{-1} yang merupakan pita serapan C=O biasa dari polimer kontrol (spektrum b) yang menunjukkan bahwa telah terjadi polimerisasi pada polimer kontrol. Polimerisasi MIP glukosa juga ditunjukkan dengan adanya pergeseran

pita serapan C=O terkonjugasi C=C dari asam metakrilat pada bilangan gelombang 1697 cm^{-1} (spektrum a) bergeser menjadi $1728,22\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan C=O biasa dari MIP glukosa (spektrum c). Adanya ikatan hidrogen antara *template* glukosa dan monomer asam metakrilat pada MIP ditunjukkan dengan adanya pita serapan O-H melebar pada bilangan gelombang $3425,58\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan pada polimer kontrol tidak ditambahkan *template* glukosa sehingga tidak terjadi ikatan hidrogen antara monomer dan *template*. Hal ini menjadikan pita serapan O-H bebas pada polimer kontrol agak tajam pada bilangan gelombang $3425,58\text{ cm}^{-1}$.



Gambar 3 Hasil FT-IR asam metakrilat (a) polimer kontrol (b) MIP glukosa sebelum ekstraksi (c) dan sesudah ekstraksi (d)

Untuk mengetahui glukosa telah terekstraksi dari MIP dapat dilihat pada spektrum c dan d. Intensitas pita serapan O-CH pada bilangan gelombang $2993,52\text{cm}^{-1}$ dari MIP yang belum diekstraksi menjadi berkurang pada MIP yang telah diekstraksi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua glukosa terkestrasi karena struktur polimer yang padat sehingga masih ada sebagian glukosa tertinggal dalam cetakan. Namun hal ini tidak mempengaruhi pengukuran karena elektroda pada potensiometri membutuhkan pengkondisian terlebih dahulu yaitu dengan perendaman menggunakan larutan standarnya (larutan glukosa)

Optimasi Komposisi Elektroda

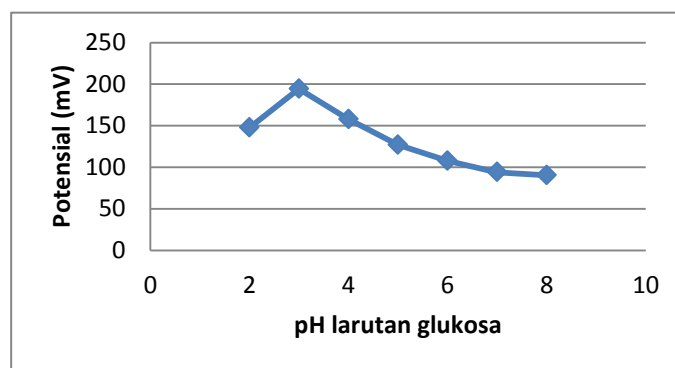
Dari kedelapan komposisi elektroda yang berisi karbon nanopori/MIP diperoleh bahwa elektroda ketujuh merupakan elektroda optimum. Elektroda ini mengandung 20% MIP. Penambahan MIP lebih dari 20% kurang memberikan respon yang optimum karena kemungkinan membran yang terbentuk menjadi kaku sehingga respon yang diberikan lemah.¹⁰ Kinerja elektroda dalam potensiometri salah satunya ditentukan oleh faktor Nernst. Suatu ESI dikatakan memenuhi persamaan Nernst jika memenuhi $0,0592/n$ ($\pm 1-2$ mV). Glukosa merupakan molekul divalent karena glukosa melepas dua electron untuk menjadi asam glukonat⁸ sehingga besarnya faktor Nernstnya $59,2\text{mV}/n$ yaitu mendekati $29,5\text{mV}/\text{dekade}$.² Elektroda ketujuh (MIP 20%) memberikan faktor Nernst sebesar $27,8$ mV/dekade. Selain faktor Nernst juga perlu diperhatikan jangkauan pengukuran dan linieritas. Elektroda ketujuh memiliki jangkauan pengukuran yang paling lebar yaitu 10^{-6}M - 10^{-1}M dan memiliki linieritas mendekati 1 yaitu 0,997. Elektroda dengan linieritas mendekati 1 memiliki sensitivitas yang relatif tinggi. Semakin linier suatu fungsi berarti alat atau metode yang digunakan akan memberikan respon yang signifikan terhadap sedikit peningkatan konsentrasi. Kinerja masing-masing elektroda dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Pengaruh komposisi karbon nanopori dan MIP terhadap kinerja elektroda

Elektroda	Karbon nanopori (%wt)	MIP (%wt)	Parafin (%wt)	Faktor Nernst (mV/dekade)	Jangkauan pengukuran (M)	Faktor korelasi (r)
E1	65	0	35	6,75	10^{-3} - 10^{-1}	0,995
E2	50	Control	35	10,69	10^{-4} - 10^{-1}	0,934
E3	60	5	35	5,65	10^{-5} - 10^{-3}	0,931
E4	58	7	35	7,66	10^{-7} - 10^{-3}	0,936
E5	55	10	35	20,28	10^{-5} - 10^{-2}	0,764
E6	50	15	35	5,15	10^{-6} - 10^{-3}	0,613
E7	45	20	35	27,8	10^{-6} - 10^{-1}	0,997
E8	40	25	35	23,7	10^{-5} - 10^{-1}	0,980

Optimasi pH

Pengukuran dilakukan pada konsentrasi 10^{-3} M dengan asumsi konsentrasi yang lain akan memberikan respon yang sama. pH optimum pada pengukuran menggunakan elektroda karbon nanopori/MIP ini adalah pH 7-8. Glukosa berada dalam keadaan stabil pada pH 7,4. Dalam larutan basa glukosa berada sebagai ion karboksilat rantai terbuka sedangkan pada suasana asam glukosa cepat berubah menjadi lakton.³

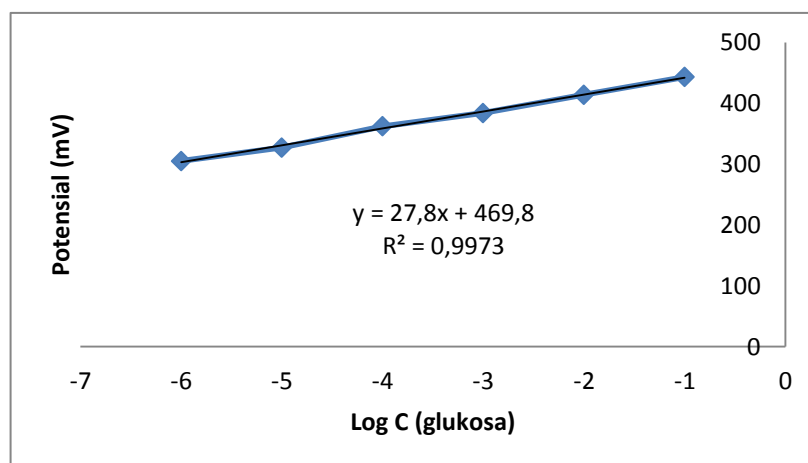


Gambar 4 Grafik hubungan antara pH dan potensial diukur menggunakan karbon nanopori/MIP secara potensiometri

Kinerja Elektroda

Elektroda karbon nanopori yang optimum digunakan untuk mengukur larutan glukosa dengan rentang konsentrasi antara 10^{-8} M hingga 10^{-1} M. Dari data diperoleh kurva kalibrasi glukosa yang terlihat pada Gambar 5. Sedangkan kinerja elektroda ditentukan melalui jangkauan pengukuran, faktor Nernst dan linieritas, batas deteksi, akurasi, presisi, dan koefisien selektivitas. Elektroda ketujuh

merupakan elektroda optimum dengan faktor Nernst 27,8 mV/dekade dan linieritas yang mendekati 1 yaitu 0,997. Jangkauan pengukuran elektroda ini relatif lebar dengan rentang 10^{-6}M - 10^{-1}M dan batas deteksi yang relatif rendah hingga $6,17 \times 10^{-7}\text{ M}$. Pengukuran menggunakan elektroda ini cukup akurat dengan persen *recovery* sebesar 93,86% dan 132% karena masih masuk dalam jangkauan yang ditoleransi yaitu 90-107%.⁴ Pengukuran menggunakan elektroda ini juga memiliki ketelitian (presisi) yang baik. Elektroda karbon nanopori/MIP memiliki presisi sebesar 1,09% dan 2,26%. Pada potensiometri presisi yang baik adalah 1-3%.¹³ Pada pengukuran sampel madu tidak hanya analit yang terdapat dalam matriks karena kemungkinan ada senyawa pengganggu lain seperti fruktosa dan sukrosa. Untuk itu perlu ditentukan koefisien selektivitasnya. Koefisien selektivitas untuk fruktosa dan sukrosa berturut-turut sebesar $1,786 \times 10^{-3}$ dan $5,155 \times 10^{-4}$. Elektroda memiliki selektivitas yang baik yaitu $< 10^{-3}$. Fruktosa dan sukrosa sebagai pengganggu memiliki struktur geometri dan letak gugus hidroksil yang berbeda dengan *template* glukosa. Hal ini menjadikan fruktosa dan sukrosa tidak dapat terukur secara spesifik karena ukuran cetakan yang tidak sesuai dan letak ikatan hidrogennya berbeda. Koefisien selektivitas fruktosa lebih besar dibandingkan sukrosa. Hal ini terjadi karena fruktosa merupakan monosakarida yang memiliki struktur hampir mirip dengan glukosa namun siklisasinya membentuk cincin lima sedangkan sukrosa merupakan disakarida.



Gambar 5 Kurva kalibrasi glukosa menggunakan elektroda karbon nanopori/MIP (E7) secara potensiometri

Pengukuran Kadar Glukosa dalam madu

Dari hasil pengukuran diperoleh kadar glukosa dalam madu sebesar 22,4% yang perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 11. Madu mengandung 31% glukosa.¹⁴ Perbedaan kadar glukosa yang relatif besar dimungkinkan karena perbedaan matriks yang terkandung dalam madu tersebut dan tidak adanya komposisi glukosa yang pasti pada madu.

KESIMPULAN

Kondisi optimum dalam pembuatan dan karakterisasi elektroda selektif berbasis karbon nanopori/MIP adalah pada perbandingan 40:25 pada pH optimum larutan 7,0-8,0. Nilai validasi metode dalam pembuatan dan karakterisasi elektroda selektif berbasis karbon nanopori/MIP meliputi batas deteksi sebesar $6,17 \times 10^{-7}$ M, faktor Nernst sebesar 27,8 mV/dekade, jangkauan pengukuran sebesar 10^{-6} M- 10^{-2} M, akurasi pengukuran sebesar 93,86% untuk konsentrasi 10^{-2} M dan sebesar 132% untuk konsentrasi 10^{-4} M, presisi dinyatakan dengan koefisien variasi sebesar 1,09% untuk konsentrasi 10^{-2} M dan 2,26% untuk konsentrasi 10^{-4} M, dan koefisien selektifitas untuk larutan fruktosa dan sukrosa masing-masing sebesar $1,786 \times 10^{-3}$ dan $5,155 \times 10^{-4}$, serta diperoleh kadar glukosa dalam madu sebesar 22,4% b/b.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brüggemann, O., 2002, *Molecularly Imprinted Materials-Receptors More Durable than Nature Can Provide*, Springer-Verlag Heidelberg, Berlin, Germany
2. Cattral, R.W., 1997, *Chemical Sensors*, Oxford University Press, New York
3. Fessenden, R.J.; Fessenden, J.S., 1995, *Kimia Organik*, Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka, Jilid I dan Jilid II, edisi ketiga, cetakan keempat, Erlangga, Jakarta
4. Harmita, 2004, **Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya**, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No. 3, 117-135
5. Maun, S., 1999, *Pemalsuan Madu Dengan Sakarosa*, Kimia Kedokteran Fakultas Kedokteran Trisakti, Jakarta

6. Odian, G., 1991, *Principles of Polymeryzation*, third edition, The City of University of New York, Staten Island, New York
7. Özcan, L., Sahin, Yücel, 2007, **Determination of Paracetamol Based on Electropolymerized-molecularly Imprinted Polypirrole modified Pencil Graphite Electrode**, *Sensors and Actuators B*, 30:30-31
8. Park, S., Boo, H., dan Chung, T.D., 2005, **Electrochemical Non-enzymatic Glucose Sensors**, *Analytica Chemica Acta*, 46-57
9. Pyun, S., Lee, G., 2007, **Synthesis and Characterization of Nanoporous Carbon and Its Electrochemical Application to Electrode Material for Supercapacitors**, *Modern Aspect of Electrochemistry*, No 41, Springer, New York
10. Qin, W., Liang, R., Zhang, R., 2009, **Potentiometric Sensor based on Molecularly Imprinted Polymer for Determination of Melamine in Milk**, *Sensor and Actuators B*, 141: 544-550
11. Ratnayani, K., Adhi S. D., Gitadewi, I G.M.A.S., *Penentuan Kadar Glukosa Dan Fruktosa Pada Madu Randu Dan Madu Kelengkeng Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
12. Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi, 1994, *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta
13. Taylor, L.R., Papp, Richard. B., Pollard, B.D., 1994, *Instrmental methods for determining elements*, VCH Publishers, Inc., New York.
14. White, J.W., Doner, L., 1980, *Bee Keeping in the USA Agriculture Handbook number 335*, Eastern Regional center, Philadelphia 82-91
15. Yan, H., Row, K.H., 2006, **Characteristic and Synthethic Approach of Molecularly Imprinted Polymer**, *International journal of Molecular Science*, 402-751