

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat gangguan produksi atau fungsi insulin (Saeedi dkk., 2019). Peningkatan kadar glukosa darah yang tidak terkontrol dapat memicu berbagai komplikasi serius seperti nefropati diabetik, retinopati, neuropati, serta luka kronis yang sulit sembuh (Dagar dkk., 2021). Oleh karena itu, pemantauan kadar glukosa darah secara akurat, cepat, dan berkelanjutan menjadi sangat penting dalam manajemen diabetes melitus untuk mencegah komplikasi jangka panjang dan kematian.

Saat ini, glukometer komersial berbasis strip uji menjadi alat pemantauan kadar glukosa darah yang paling umum. Meskipun praktis, glukometer memiliki keterbatasan, seperti sensitivitas yang terbatas pada rentang konsentrasi ekstrem, stabilitas yang rentan terhadap kondisi penyimpanan, serta rentan terhadap senyawa interferensi dalam darah seperti asam askorbat dan asam urat (Bruen dkk., 2017; Yoo dan Lee, 2010). Salah satu faktor yang berkontribusi pada penurunan stabilitas adalah akumulasi hidrogen peroksida (H_2O_2) sebagai produk samping reaksi enzimatik yang bersifat oksidatif dan dapat menginaktivasi enzim secara bertahap.

Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, kombinasi enzim *glucose oxidase* (GOx) dan katalase menjadi salah satu pendekatan yang menjanjikan. GOx merupakan enzim yang dapat digunakan sebagai bioreseptor karena spesifisitasnya yang tinggi terhadap glukosa (Ferri dkk., 2011; Heller dan Feldman, 2008). GOx mengkatalisis oksidasi glukosa menjadi *gluconolactone* dengan menghasilkan

H_2O_2 sebagai produk samping (Špička dan Tavčer, 2011). Penambahan katalase terbukti dapat menguraikan H_2O_2 menjadi air dan oksigen, sehingga mengurangi kerusakan enzim sekaligus menyediakan oksigen untuk GOx (Hwang dkk., 2018a).

Dalam pengembangan biosensor glukosa enzimatik, pemilihan material elektroda menentukan kualitas antarmuka antara enzim dan transduser sinyal. MWCNT banyak digunakan sebagai matriks elektroda karena memiliki konduktivitas elektrik tinggi, luas permukaan spesifik yang besar, serta kemampuan memfasilitasi transfer elektron dari pusat aktif enzim menuju permukaan elektroda secara lebih efisien (Yang dkk., 2015a; C. Zhu dkk., 2015a). MWCNT dipilih karena stabilitas mekanik dan kimianya yang lebih baik dibandingkan SWCNT. Di sisi lain, *polyethyleneimine* (PEI) sebagai polimer kationik yang mengandung gugus amina primer, sekunder, dan tersier dalam jumlah tinggi (Grenda dkk., 2022), memiliki afinitas elektrostatik yang kuat terhadap enzim bermuatan negatif (Chen dkk., 2020), seperti GOx pada pH fisiologis, sehingga mampu mengikat enzim secara stabil tanpa merusak konformasi aktifnya (Karimi-Maleh dkk., 2020). Gugus amina pada PEI juga membentuk interaksi yang kuat dengan permukaan MWCNT, menjadikan sistem CNT/PEI sebagai matriks yang stabil secara mekanik sekaligus mendukung fabrikasi lapisan enzim secara berurutan dan terkontrol (Karimi-Maleh dkk., 2020a).

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penambahan katalase pada sistem CNT/PEI/GOx-Cat memiliki performa yang lebih baik dibandingkan CNT/PEI/GOx tanpa katalase (Christwardana dkk., 2017a). Namun, tata letak urutan lapisan dilakukan secara acak, yaitu hanya mencampurkan GOx dan

katalase. Sejumlah penelitian lain telah mengembangkan teknik *layer-by-layer* (LbL) sebagai pendekatan imobilisasi yang lebih terstruktur. Fabrikasi LbL GOx pada CNT dilaporkan menghasilkan transfer elektron yang lebih efisien (J. Zhang dkk., 2007), sementara peningkatan respons amperometrik dan sensitivitas melalui susunan multilapis GOx pada berbagai matriks karbon juga telah dibuktikan (Yan dkk., 2007; Komathi dkk., 2009). Secara khusus, pengaturan jumlah lapisan dalam sistem LbL berbasis mediator ditemukan berpengaruh terhadap stabilitas dan sensitivitas biosensor (Lee dkk., 2021). Namun, seluruh penelitian tersebut belum mengintegrasikan katalase ke dalam susunan lapisan *layer-by-layer* yang dikembangkan, sehingga permasalahan akumulasi H_2O_2 yang dapat menginaktivasi enzim secara bertahap belum diatasi secara struktural.

Ketiadaan katalase dalam susunan lapisan tersebut menunjukkan bahwa tata letak urutan enzim dalam sistem LbL belum pernah dikaji secara sistematis, padahal posisi relatif masing-masing enzim terhadap permukaan elektroda berpengaruh langsung terhadap efisiensi transfer elektron. Transfer elektron dari pusat aktif GOx ($FAD/FADH_2$) menuju permukaan elektroda sangat bergantung pada jarak fisik antara enzim dengan MWCNT, mengingat FAD terletak cukup jauh di dalam struktur protein sehingga transfer elektron langsung ke elektroda menjadi kurang efisien tanpa desain antarmuka yang tepat (Gu dkk., 2019; J. Zhang dkk., 2007). Semakin pendek jarak antara GOx dengan permukaan MWCNT, semakin kecil hambatan transfer elektron yang terukur dan semakin besar arus respons yang dihasilkan (G. Liu dan Lin, 2006). Posisi katalase pada lapisan terluar memungkinkan penguraian H_2O_2 lebih awal sebelum berdifusi ke lapisan dalam dan

merusak GOx, sedangkan konfigurasi sebaliknya berpotensi menjauhkan GOx dari elektroda sekaligus mengurangi efektivitas proteksi enzimatik. Belum ada studi yang secara sistematis menguji pengaruh kedua konfigurasi ini terhadap efisiensi transfer elektron dan stabilitas biosensor.

Penelitian ini mengisi celah tersebut dengan mengkaji pengaruh tata letak urutan lapisan GOx dan katalase pada sistem berbasis CNT/PEI menggunakan teknik *layer-by-layer*. Hipotesis yang diajukan adalah bahwa penempatan GOx lebih dekat dengan lapisan CNT akan meningkatkan efisiensi transfer elektron melalui pemendekan jarak antara pusat aktif FAD/FADH₂ dengan permukaan elektroda, sedangkan penempatan katalase pada lapisan terluar akan menguraikan H₂O₂ sebelum merusak GOx sehingga meningkatkan stabilitas biosensor. Konfigurasi tata letak yang optimal diharapkan menghasilkan biosensor dengan sensitivitas tinggi, limit deteksi rendah, stabilitas operasional dan penyimpanan yang baik, serta selektivitas yang memadai terhadap senyawa interferensi dalam darah.

I.2 Tujuan Penelitian

1. Mengonfirmasi keberhasilan fabrikasi elektroda termodifikasi dengan variasi tata letak urutan lapisan GOx dan katalase melalui karakterisasi fisikokimia menggunakan SEM-EDX dan FTIR.
2. Menganalisis pengaruh tata letak urutan lapisan enzim GOx dan katalase terhadap mekanisme dan efisiensi transfer elektron berdasarkan karakterisasi *cyclic voltammetry* (CV) pada kondisi anaerobik dan aerobik, serta penentuan konstanta laju transfer elektron (k_s).

3. Menentukan pengaruh tata letak urutan lapisan enzim GOx dan katalase terhadap performa biosensor berdasarkan parameter V_{max} , konstanta Michaelis-Menten (K_m), sensitivitas, *limit of detection* (LOD), selektivitas terhadap senyawa interferensi, *reusability*, dan *storage stability*.
4. Menentukan konfigurasi tata letak urutan lapisan enzim GOx dan katalase yang paling optimal secara menyeluruh berdasarkan korelasi seluruh hasil karakterisasi.