



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR AKRILAMIDA BERBASIS
HEMOGLOBIN MENGGUNAKAN *BORON-DOPED DIAMOND*
TERMODIFIKASI NANOPARTIKEL LOGAM**

DISERTASI

**RETNO WULANDARI
NPM 1506709403**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI PASCASARJANA ILMU KIMIA
DEPOK
2019**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR AKRILAMIDA BERBASIS
HEMOGLOBIN MENGGUNAKAN *BORON-DOPED DIAMOND*
TERMODIFIKASI NANOPARTIKEL LOGAM**

DISERTASI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor Ilmu Kimia**

**RETNO WULANDARI
NPM 1506709403**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI PASCASARJANA ILMU KIMIA
DEPOK
JULI 2019**

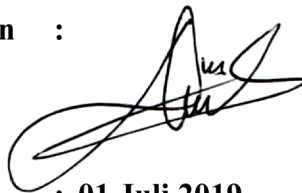
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Retno Wulandari

NPM : 1506709403

Tanda Tangan :

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Retno Wulandari', written over a horizontal line.

Tanggal : 01 Juli 2019

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh:

Nama : Retno Wulandari
NPM : 1506709403
Program Studi : Kimia
Judul Disertasi : Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis
Hemoglobin menggunakan *Boron-Doped Diamond*
Termodifikasi Nanopartikel Logam.

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

DEWAN PENGUJI

Promotor : Prof. Dr. Ivandini Tribidasari A., M.Si

Kopromotor : Dr. Endang Saepudin

Tim Penguji : Prof. Dr. Yoki Yulizar

Dr. Munawar Khalil

Dr. Jarnuzi Gunlazuardi

Dr. Asep Saefumillah, M.Si

Prof. Dr. Dra. Dyah Iswantini

Pradono, M.Sc.Agr

Dr. techn Djoko Triyono, S.Si., M.Si

(Ketua)

(Sekretaris)

(Anggota)

(Anggota)

(Anggota)

(Anggota)

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Depok
Juli, 2019

Ketua Program Studi Pascasarjana
Ilmu Kimia FMIPA-UI

Dr. Asep Saefumillah, M.Si
NIP. 197012161997031002

Dekan
Fakultas MIPA-UI

Prof. Dr. rer. nat Abdul Haris
NIP. 1970092119940100

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulisan disertasi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor pada Program Studi Pascasarjana Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan disertasi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan disertasi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ristekdikti yang telah memberikan kesempatan kepada penulis berupa Beasiswa Program Pascasarjana Dalam Negeri 2015 sehingga penulis dapat memperoleh gelar Doktor.
2. Dr. Ivandini Tribidasari A., M.Si, selaku promotor yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam menyusun disertasi ini;
3. Dr. Endang Saepudin, selaku kopromotor yang telah memberikan arahan, bimbingan dan pemikiran dalam penyusunan disertasi ini;
4. Dekan Fakultas MIPA beserta seluruh staf atas segala bantuan dan dukungan selama penulis menempuh studi di Fakultas MIPA Universitas Indonesia;
5. Seluruh staf dosen dan karyawan Program Studi Ilmu Kimia FMIPA UI atas ilmu dan pelayanan yang diberikan selama penulis menempuh studi;
6. Suami tercinta (Hernawan Sujatmiko), anak-anak tersayang Baskoro Setyo Utomo, Darmawan Jati Laksono, Dhearum Nesya Kirana, orang tua (Untung Suropati dan Suparti), Ibu mertua (Sri Harnawati), Bude (Maryati) dan seluruh keluarga yang telah sangat memberikan dukungan dari dalam hati baik secara moril dan materil serta pengorbanan waktu, pengertian dan kesabarannya selama menempuh studi ini;
7. Sahabat setia Assat Lusi, Shohifah Annur, Akip Suhendar, Sumiati, Tb Ai Munandar atas bantuan dan keikhlasannya yang diberikan untuk kelancaran selama penyusunan disertasi.

8. Teman-teman Lab. BCG UI (Pak Salih Muharam, Pak Hayat, Umam, Tiara, Dewo, Hanif, Hanzola, Ayi, Rayhan, Izal, Kevin, Yika, April, Tesa, Tri, Cici, Listya, Hani, Tia, Rani), teman-teman UI (Chris, Bu Diba), lab Keio University (Irkham, Tika, Andrea, Khuang, Kai, Takagi) dan teman-teman UNSERA (Bu Tiur, Mba Fina, Bu Wyke, Bu Vidila, Bu Rina, Bu Nina, Bu Ken, Pak Farid, Pak Delly, Pak Kamil, Pak Mulya, Pak Abdul Malik, Pak Supriyadi dan Pak Agus Setiawan) atas bantuan dan kerjasamanya.
9. Rekan-rekan seperjuangan S3 Kimia UI (Bu Askal, Bu Yus, Bu Dian, Bu Irma, Bu Wayan, Pak Atep, Pak Hari, Pak Adi) serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan disertasi ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan disertasi ini. Semoga disertasi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Juli 2019

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Retno Wulandari
NPM : 1506709403
Program Studi : Pascasarjana Ilmu Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Disertasi

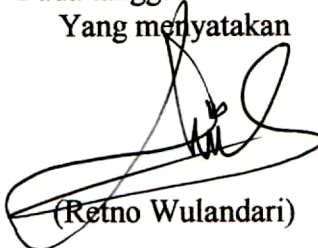
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin Menggunakan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Logam

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Juli 2019
Yang menyatakan


(Retno Wulandari)

ABSTRAK

Nama : Retno Wulandari
Program Studi : Doktor Ilmu Kimia
Judul : Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin menggunakan *Boron-Doped Diamond* Termodifikasi Nanopartikel Logam.
Pembimbing : Prof. Dr. Ivandini Tribidasari A., M.Si

Beberapa metode pembuatan sensor dengan menggunakan boron doped diamond (BDD) dimodifikasi logam dan hemoglobin (Hb) telah berhasil dikembangkan untuk deteksi senyawa akrilamida yang bersifat neurotoxin, karsinogen dan *genotoxicity*, serta dapat menyebabkan kanker dan tumor. Tetapi proses dalam memodifikasi elektroda BDD dengan logam tidak mudah, memerlukan banyak bahan kimia, waktu reaksi yang lama dan sensor yang dihasilkan tidak stabil. Penelitian ini berhasil mengembangkan cara modifikasi BDD menggunakan logam dan Hb dengan sederhana, mudah, dan menghasilkan metode yang relatif stabil untuk mendeteksi akrilamida. Selain itu, dapat digunakan berulang kali menggunakan gabungan dari metode *wet chemical seeding*, elektrodposisi, *rapid thermal annealing* (RTA), *refresh* dan aktivasi. Modifikasi dapat diperoleh dengan mereaksikan larutan H_2PtCl_6 dengan NaBH_4 langsung diatas permukaan elektroda BDD dan dibantu dengan RTA pada suhu $700\text{ }^\circ\text{C}$ selama 5 menit pada kondisi atmosfer N_2 . Pt/BDD yang terbentuk kemudian dikarakterisasi menggunakan CV, SEM-EDX, Raman, XRD dan XPS.

Karakterisasi menggunakan spektroskopi Raman membuktikan bahwa modifikasi BDD menggunakan metode gabungan ini tidak merubah struktur SP^3 dari BDD yaitu pada puncak $1333,517\text{ cm}^{-1}$. SEM-EDX menunjukkan Pt telah berhasil terdposisi diatas permukaan BDD yang terdistribusi secara homogen dengan % massa 94,80 %, hasil ini diperkuat dari hasil karakterisasi XPS dengan adanya puncak Pt $4f_{7/2}$ dan Pt $4f_{5/2}$ diatas permukaan BDD dengan energi ikat 71,0 eV dan 74,5 eV.

Pt/BDD yang diperoleh kemudian ditetaskan dengan 0.15 mM Hb dan digunakan untuk mendeteksi senyawa akrilamida (AA). Adanya senyawa AA menyebabkan terjadinya penurunan pucak arus $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$ pada Hb akibat interaksi N-terminal valin pada Hb dengan alkena pada senyawa akrilamida membentuk *adduct* akrilamida-Hb. Sensor ini menunjukkan limit deteksi yang sangat sensitif dalam pengukuran, yaitu sebesar 0,021 nM. Selain itu, potensi elektroda Hb/Pt/BDD dapat digunakan kembali dibuktikan dari % massa platinum pada hasil SEM-EDS sebelum, setelah digunakan untuk deteksi akrilamida dan setelah dilakukan pencucian menggunakan NaClO_4 yaitu 81,27%, 87,98% dan 90,60 %. Validasi dilakukan dengan membandingkan hasil pengukuran dalam sampel kopi sensor yang dipreparasi dengan metode spektrometri massa kromatografi cair-tandem (LC-MS/MS). Pengukuran AA dalam 1 gram kopi Luwak Toraja menggunakan sensor menunjukkan 211 nM AA, sebanding dengan metode referensi menggunakan LC-MS/MS yang mendeteksi 216 nM AA. Hasil analisis pengukuran konsentrasi AA dalam sampel kopi menggunakan sensor yang telah dikembangkan menunjukkan kesesuaian dengan metode LC-MS/MS dengan hasil yang tidak berbeda secara signifikan.

Kata kunci : biosensor, nanopartikel, platina, akrilamida, hemoglobin

ABSTRACT

Name : Retno Wulandari
Study Program : Doktor Ilmu Kimia
Title : Hemoglobin-platinum nanoparticles modified on boron-doped diamond surface for acrylamide
Counsellor : Prof. Dr. Ivandini Tribidasari A., M.Si

Several methods of making sensors using boron doped diamond (BDD) metal and hemoglobin (Hb) have been successfully developed to detect compounds that are neurotoxin, carcinogens, genotoxicity and that can cause cancer and tumors. However, in the process of BDD electrodes with metal is very effective, retain a lot of chemicals, produce a long time and the resulting sensor is unstable. This research was carried out using a method that is easy and simple, easy, and produces a stable sensor to detect acrylamide and can be used repeatedly using the method of *wet chemical seeding*, electrodeposition, rapid thermal annealing (RTA), refresh and activation. Sensors can be obtained only by using H_2PtCl_6 with NaBH_4 directly on the surface of BDD electrodes and assisted with RTA at a temperature of 700 °C for 5 minutes under atmospheric conditions N_2 . Pt/BDD formed was then characterized using CV, SEM-EDX, Raman, XRD and XPS.

Characterization using Raman proves that BDD modification uses this method. There is no SP^3 structure from BDD which is at the peak of $1333,517\text{ cm}^{-1}$. SEM-EDX shows that Pt has been successfully deposited on the BDD surface which is homogeneously distributed with 94.80% mass%, this result is strengthened from the XPS characterization results using Pt $4f_{7/2}$ and Pt $4f_{5/2}$ peaks on BDD surface with 71,0 eV bonding energy and 74.5 eV.

The Pt/BDD obtained was then dropped with 0.15 mM Hb and to detect acrylamide compounds. The presence of acrylamide compounds causes a decrease in $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$ current at Hb due to the interaction of N-terminal valine in Hb with alkene in acrylamide-acrylamide-Hb acrylamide adduct compounds. This sensor shows the detection limit (LoD) which is very sensitive in measurement, which is 0.021 nM. In addition, the potential of Hb-Pt-BDD electrodes can be used from platinum results on SEM-EDS results before, after that to detect acrylamide and after washing using NaClO_4 which is 81.27%, 87.98% and 90, 60%. Validation was carried out by comparing the results of measurements in sensor coffee samples prepared by liquid-tandem chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS). Measuring AA in 1 gram of Toraja Luwak coffee using a sensor shows 211 nM AA, comparable to the reference method using LC-MS/MS which detects 216 nM AA. The results of the analysis of the measurement of AA concentrations in coffee samples using sensors that have been developed show compatibility with the LC-MS/MS method with results that are not significantly different.

Key words: biosensors, nanoparticles, platinum, acrylamide, hemoglobin

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vii
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	xvi
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 <i>Novelty</i> atau Kebaruan Penelitian	6
1.7 <i>State of the art</i> penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Akrilamida	9
2.2 Metode umum deteksi akrilamida.....	12
2.3 <i>Boron doped diamond</i> (BDD).....	16
2.4 Modifikasi <i>Boron doped diamond</i> (BDD)	29
2.5 Hemoglobin (Hb)	30
2.6 Bioensor akrilamida dan interaksinya dengan hemoglobin	33
2.7 Peningkatan stabilitas nanopartikel logam pada permukaan diamond.	34
2.8 Kopi.....	37
BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Alat dan bahan	39
3.2 Prosedur kerja	39
3.3 BDD	40

3.4	Proses preparasi Pt/BDD.....	40
3.5	Karakteristik kestabilan dan aktivitas elektrokimia Pt pada BDD.....	41
3.6	Preparasi elektroda Pt/Hb	41
3.7	Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD	42
3.8	Uji Kinerja Elektroda Hb/Pt/BDD pada Akrilamida Standar	42
3.9	Aplikasi Elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi.....	42
3.10	Perbandingan dengan metode lain (LCMS/MS).....	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		44
4.1	Proses preparasi elektroda Pt/BDD.....	44
4.2	Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD	52
4.3	Elektroda platina termodifikasi Hb (Pt/Hb).....	58
4.4	Proses preparasi elektroda Pt/BDD.....	62
4.5	Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD	81
4.6	Uji kinerja elektroda Pt/BDD(<i>wet chemical seeding</i>)/Hb pada akrilamida standar	84
4.7	Uji kinerja elektroda Pt/BDD pada akrilamida standar	85
4.8	Uji kinerja elektroda Hb/BDD pada akrilamida standar	86
4.9	Elektroda platina termodifikasi Hb (Pt/Hb).....	87
4.10	Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada akrilamida standar	90
4.11	Pengaruh senyawa lain pada elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida ...	92
4.12	Penggunaan ulang elektroda Hb/Pt/BDD	93
4.13	Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi.....	98
4.14	Metode standar LCMS/MS pada sampel kopi	102
BAB V KESIMPULAN SARAN.....		104
5.1	Kesimpulan.....	104
5.2	Saran	104
CAPAIAN LUARAN PENELITIAN		105
DAFTAR PUSTAKA		107
LAMPIRAN.....		119

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur akrilamida (Lingnert <i>et al.</i> , 2002)	9
Gambar 2.2	Sifat elektrokimia berbagai elektroda (Einaga, 2010)	16
Gambar 2.3	(a) Skematis dan (b) scanning electron microscopy (SEM) Gambar sisi pada pertumbuhan MC BDD (c) Citra optikal dari freestanding MC BDD (hak cipta Gambar Jonathan C. Newland 2014).	20
Gambar 2.4	(A) SEM dari pertumbuhan MC BDD; (B) SEM dari permukaan MC BDD yang dipoles. Zona-zona yang lebih gelap berhubungan dengan daerah-daerah yang lebih banyak intensitas boron yang didoping pada permukaan (Patten <i>et al.</i> , 2012). (C) SEM dari lapisan BDD NC dan (D) SEM dari lapisan BDD UNC (Wang <i>et al.</i> , 2009).	22
Gambar 2.5	Resistivitas suhu-kamar sebagai fungsi konsentrasi doping boron (Lagrange <i>et al.</i> , 1998).	24
Gambar 2.6	Pengukuran sudut kontak dilakukan pada permukaan BDD terminasi H dan terminasi O (Macpherson <i>et al.</i> , 2015).	26
Gambar 2.7	Struktur kuarterner hemoglobin yang tersusun dari 4 polipeptida dengan 2 sub-unit berbeda α dan β	32
Gambar 2.8	Reaksi <i>adduct</i> Hb-akrilamida (Garabagiu <i>et al.</i> , 2011).	33
Gambar 2.9	Skema reaksi yang terlibat dalam pembentukan elektroda Hb/Pt/BDD	35
Gambar 2.10	Contoh hasil SEM penyebaran partikel Pt pada elektroda BDD dengan metode Gao. (Gao <i>et al.</i> , 2013)	36
Gambar 4.1	SEM (a,c) <i>Bare</i> BDD (b,d) Pt/BDD dengan perbesaran (10.000 dan 5000) X.	46
Gambar 4.2	<i>Mapping</i> Pt/BDD terdiri dari unsur (a) Karbon (b) Platina (c) Boron (d) Oksigen	47
Gambar 4.3	Elektroda Pt/BDD (a) SEM Pt/BDD (b) EDX Pt/BDD berlapis	47
Gambar 4.4	Voltammogram Pt/BDD (a) <i>wetchemical seeding</i> dan elektrod deposisi (b) RTA (c) <i>refresh</i> (d) aktivasi dalam 0.1 M H ₂ SO ₄ scanrate 100 mV/s	50
Gambar 4.5	SEM-EDX Pt/BDD (a,c) sebelum RTA (b,d) setelah RTA	51
Gambar 4.6	Histogram Pt/BDD (a) sebelum RTA (b) setelah RTA	52
Gambar 4.7	Voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS pH 4,8 scanrate 100 mV/s	53

Gambar 4.8	SEM elektroda Hb/Pt/BDD	54
Gambar 4.9	Voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s	55
Gambar 4.10	Grafik linearitas repeatability kinerja elektroda Hb/Pt/BDD yang pertama (A) (a,b,c) dan elektroda Hb/Pt/BDD ke-2 (B) (c,d,f) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s	56
Gambar 4.11	Voltammogram elektroda Pt dengan variasi konsentrasi Hb dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s.....	59
Gambar 4.12	Voltammogram elektroda Pt/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s (a) CVs Pt/Hb (b) perbesaran CVs Pt/Hb.....	60
Gambar 4.13	Grafik linearitas kinerja elektroda Pt/Hb yang pertama (a,b,c) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s.....	61
Gambar 4.14	SEM Pt/BDD pada proses wet chemical seeding dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt (a) 0.01 mM (b) 0.05 mM (c) 0.1 mM (d) 0.2 mM (e) 0.3 mM (f) 0.4 mM (g) 1 mM.....	64
Gambar 4.15	SEM Pt/BDD pada proses electrochemical overgrowth of seed dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt a) 0.01 mM b) 0.05 mM c) 0.1 mM d) 0.5 mM dan e) 1 mM	66
Gambar 4.16	SEM Pt/BDD pada proses RTA dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt.....	67
Gambar 4.17	SEM Pt/BDD pada proses refresh dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt.....	69
Gambar 4.18	Voltammogram Pt/BDD (a) <i>bare</i> BDD (b) <i>wet chemical seeding</i> (c) <i>electrochemical overgrowth</i> (d) RTA (e) <i>refresh</i> (f) aktif dalam 0.1 M H ₂ SO ₄ scanrate 100 mV/s	71
Gambar 4.19	SEM (a) <i>Bare</i> BDD (b) Pt/BDD <i>wet chemical seeding</i> (c) <i>Electrochemical overgrowth</i> (deposisi) (d) RTA (e) <i>refresh</i> (f) aktif dengan perbesaran 10.000 X	72
Gambar 4.20	SEM (a) Pt/BDD hasil penelitian Gao (b) Pt/BDD dalam penelitian ini	74
Gambar 4.21	Spektrum raman proses modifikasi BDD menggunakan nanopartikel Pt.....	76
Gambar 4.22	Pola XRD Pt/BDD pada proses a) <i>electrochemical overgrowth of seed</i> b) RTA c) aktif	78
Gambar 4.23	Karakterisasi XPS elektroda Pt/BDD	80
Gambar 4.24	Voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS pH 4,8 scanrate 100 mV/s.....	81

Gambar 4.25	Voltammogram variasi pH elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS dengan <i>scanrate</i> 100 mV/s	82
Gambar 4.26	SEM elektroda Hb/Pt/BDD	83
Gambar 4.27	Voltammogram elektroda Pt/BDD (<i>wet chemical seeding</i>)/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100mV/s.....	85
Gambar 4.28	Voltammogram elektroda Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s.....	86
Gambar 4.29	Voltammogram elektroda BDD-Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s.....	87
Gambar 4.30	Voltammogram elektroda Pt/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M <i>scanrate</i> 100mV/s	88
Gambar 4.31	Grafik linearitas kinerja elektroda Pt/Hb yang pertama (a,b,c) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M <i>scanrate</i> 100 mV/s	89
Gambar 4.32	Voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s.....	90
Gambar 4.33	Grafik linearitas kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2M <i>scanrate</i> 100 mV/s	91
Gambar 4.34	Voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida dengan adanya senyawa lain seperti (a. Kafein, b. melain, c. asam askorbat, d. Natrium asetat) dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s.....	93
Gambar 4.35	SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi akrilamida	94
Gambar 4.36	SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD setelah digunakan untuk deteksi akrilamida	95
Gambar 4.37	SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD setelah dicleaning menggunakan NaClO ₄	96
Gambar 4.38	(a) dan (c) voltammogram dan (c) grafik linearitas elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida pada sampel kopi Luwak Toraja dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s.....	99
Gambar 4.39	(a) dan (c) voltammogram dan (c) grafik linearitas elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida pada sampel kopi Luwak Toraja dalam ABS 0.2 M pH 4.8 <i>scanrate</i> 100 mV/s setelah pengenceran 10.000 kali.....	101
Gambar 4.40	LC-MS/MS pada sampel kopi Luwak Toraja.....	103

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan akrilamida dalam makanan olahan	11
Tabel 2.2	Aplikasi metode standar dan metode cepat untuk mendeteksi AA dalam makanan yang diproses secara termal.	14
Tabel 4.1	Komposisi unsur Pt/BDD EDX	48
Tabel 4.2	Kondisi preparasi elektroda Pt/BDD	52
Tabel 4.3	Hasil optimasi Hb pada elektroda Pt/BDD	54
Tabel 4.4	Hasil optimasi akrilamida standar pada elektroda Hb/Pt/BDD	58
Tabel 4.5	Perbandingan elektroda Hb/Pt/BDD dengan elektroda lain ..	58
Tabel 4.6	Data energi ikat spesifik untuk logam Platinum (Ikeo et al. 1991)	79
Tabel 4.7	EDS Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi akrilamida	94
Tabel 4.8	EDS Hb/Pt/BDD setelah digunakan untuk deteksi akrilamida	95
Tabel 4.9	EDS Hb/Pt/BDD setelah dicleaning dengan NaClO ₄	97
Tabel 4.10	Perbandingan hasil yang diperoleh dengan mengukur LCMS/MS dan CV.....	103

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Jadwal Perencanaan Waktu Perkuliahan Dan Penelitian S3 Kimia	119
Lampiran 2	Biodata.....	121
Lampiran 3	Sertifikat Seminar Internasional.....	125
Lampiran 4	Prosiding Seminar Internasional	126
Lampiran 5	Sertifikat Seminar Internasional.....	132
Lampiran 6	Abstrak Seminar Internasional	133
Lampiran 7	Bukti penerimaan jurnal internasional	134
Lampiran 8	Jurnal Internasional	135
Lampiran 9	Penyaji poster terbaik Ristekdikti hibah disertasi doktor tahun 2018	150
Lampiran 10	Poster.....	153

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa dalam makanan yang dapat membahayakan kesehatan adalah *issue* yang sangat penting dalam pengelolaan kesehatan masyarakat. Salah satu senyawa yang sering dibahas adalah akrilamida (AA). AA bersifat neurotoxin, karsinogen dan *genotoxicity* yang dapat menyebabkan kanker dan tumor (Lyon *et al.*, 1994; Tareke *et al.*, 2002; Lingnert *et al.*, 2002; Zyzak *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2003; Rusdén *et al.*, 2004; Harahap., 2006; Erkekoglu *et al.*, 2010; Hogervorst *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011; Pennisi *et al.*, 2013; Fazendeiro *et al.*, 2013 dan Riboldi *et al.*, 2014). Biasanya AA ditemukan dalam makanan yang diolah dengan suhu tinggi ($> 120\text{ }^{\circ}\text{C}$) seperti proses penggorengan, pemanggangan, pembakaran, proses pembuatan kue (Stadler *et al.*, 2002; Tareke *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2005; Wicklund *et al.*, 2006; De Vleeschouwer *et al.*, 2010 dan Halford *et al.*, 2012). AA juga ditemukan dalam makanan berbahan dasar kentang, roti, pati, kopi, teh, jus plum kering, rokok, produk-produk sereal, sedangkan pada makanan berprotein kandungan AA sangat rendah (Gökmen *et al.*, 2006; Krajewaska *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Garabagiu *et al.*, 2011 dan Lineback *et al.*, 2012).

Metode standar yang biasa digunakan untuk deteksi senyawa AA dalam makanan yaitu GC-MS/MS (Ono *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2003; Hoenieke *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2010; Yamazaki *et al.*, 2012 dan Notardonato *et al.*, 2013), ultra-performance liquid chromatography (UPLC-MS) (Zhang *et al.*, 2007 dan Zhang *et al.*, 2011), high performance liquid chromatography (HPLC) (Robert *et al.*, 2005; Stobiecka *et al.*, 2007 dan Zargar *et al.*, 2009), *liquid chromatography mass spectrometry* (LC-MS/MS) (Cheng *et al.*, 2009; Bortolomeazzi *et al.*, 2012). Metode standar memiliki sensitivitas tinggi, selektif, stabil dan keberulangan yang baik, namun metode tersebut membutuhkan penggunaan instrumen yang mahal, memerlukan teknisi yang terampil untuk pengoperasiannya, biaya pengujian sampel yang mahal, waktu yang lama dan tidak dapat memenuhi kebutuhan pengukuran AA dalam makanan secara *real-time* (Keramat *et al.*, 2011; Lineback *et al.*, 2012; Oracz *et al.*, 2011; Tekkeli *et al.*, 2012; Batra *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2015).

Di pihak lain metode cepat yang lebih sederhana dan *portable* seperti *computer vision*, ELISA, biosensor elektrokimia, biosensor fluoresen untuk deteksi AA dianggap lebih praktis dan menjadi perhatian para peneliti (Hu *et al.*, 2015). Biosensor elektrokimia, dengan sinyal listrik (seperti arus dan potensi) output, telah menunjukkan keunggulan seperti kecepatan, kesederhanaan, otomatisasi, dan sensitivitas, yang mengarah ke aplikasi luas dalam keamanan pangan (Hu *et al.*, 2015).

Dalam kebanyakan kasus, AA diusulkan untuk bergabung dengan hemoglobin (Hb)-redoks-aktif (Hb-Fe^{3+} ke Hb-Fe^{2+}) untuk membentuk *adduct*, yang memperbesar jarak antara pusat redoks Hb dan elektroda, menekan arus redoks saat ini (Friedman, 2003; Lineback *et al.*, 2012). Efisien konjugasi antara AA, Hb, dan respon redoks elektrokimia menjadikan metode cepat ini dapat digunakan sebagai sensor AA dengan sensitivitas tinggi, selektivitas tinggi, respon cepat, dan rentang linear yang luas (Stobiecka *et al.*, 2007). Sebagai contoh adalah penggunaan elektroda pasta karbon yang dimodifikasi Hb (Stobiecka *et al.*, 2007), elektroda *glassy carbon* dimodifikasi dengan *single-walled carbon nanotubes* (SWCNTs) dimodifikasi Hb (Krajewska *et al.*, 2008 dan Batra *et al.*, 2013), Hb dimethyldioctadecylammonium bromide (HG-DDAB)/platinum-emas-paladium tiga nanopartikel paduan logam (PtAuPd NPs)/chitosan-1-etil-3-methylimidazolium bis (trifluoromethylsulfonyl) imide (Ch-IL)/multiwalled karbon nanotube-IL (MWCNTs-IL)/elektroda karbon kaca (GCE) (Varmira *et al.*, 2018), elektroda ITO *glass* dimodifikasi nanopartikel emas-Hb (Garabagiu *et al.*, 2011), dan elektroda *boron doped diamond* termodifikasi Hb (Umam, 2016).

Transfer elektron dari protein ke permukaan elektroda dimodifikasi langsung dengan Hb, sangat lambat. Hal ini berhubungan dengan ukuran dan struktur tiga dimensional Hb. Struktur Hb tersebut menyebabkan tidak dapat diaksesnya pusat redoks pada protein (Stobiecka *et al.*, 2007 dan Batra *et al.*, 2013). Oleh karena itu, transfer elektron langsung antara Hb dengan elektroda sangat sulit (Scheller *et al.*, 2005). Intensifikasi tingkat transfer elektron antara Hb dengan permukaan elektroda dapat dicapai menggunakan elektromediator (Rusling *et al.*, 1993; Gu *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2005 dan Zhang *et al.*, 2005). Beberapa elektromediator diantaranya Ag, Au, Pt, Pd, Ir, Rh, Ag/Au, Pt/Ag, Pt/Ag (Guinea *et al.*, 2008).

Penggunaan elektroda *Boron Doped Diamond* (BDD) didasarkan pada sifatnya yang memiliki jendela potensial yang terlebar dibandingkan elektroda material lain (Kraft *et al.*, 2007; Luong *et al.*, 2009; Einaga., 2010), tingkat kekerasan yang tinggi, inert, konduktivitas thermal yang baik (Swain *et al.*, 2004), stabilitas kimia dan fisika tinggi (Tian *et al.*, 2006), *background* arus rendah. Aplikasi elektoda BDD dalam banyak bidang tidak hanya elektrokimia tapi juga dalam bidang seperti kimia anorganik, kimia analitik, kimia lingkungan, *biomedical* (Einaga., 2010).

BDD dengan hemoglobin tidak dapat dimodifikasi langsung karena BDD memiliki ketahanan terhadap proses pasivasi (Marken *et al.*, 2002 dan Haymond *et al.*, 2002) dan lemahnya adsorpsi gugus fungsi karbon oksigen polar pada permukaan BDD nonpolar (Xu *et al.*, 1998), meskipun BDD juga memiliki kemampuan merespon langsung oksidasi pada hemoglobin (Nekrassova *et al.*, 2004) namun diperlukan logam lain yang dapat berfungsi sebagai jembatan (elektromediator/elektrokatalisator) antara BDD dan Hb untuk mempercepat transfer elektron sehingga menghasilkan respon sinyal yang cepat (Dreyer *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010; Mai *et al.*, 2011; Garabagiu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012 dan Sun *et al.*, 2013).

Penelitian sebelumnya untuk biosensor AA dengan BDD termodifikasi Hb menggunakan elektrodeposisi Au diperoleh limit deteksi 5,1436 μM , namun kestabilan dan sensitivitas dari biosensor tersebut masih rendah (Umam, 2016). Elektrodeposisi partikel logam menggunakan metode elektrokimia sering tidak homogen dan memiliki stabilitas rendah pada permukaan elektroda diamond.

Disisi lain telah dilakukan penelitian yang berkaitan dengan peningkatan kestabilan nanopartikel Pt pada diamond dengan hasil yang diperoleh sangat baik (Gao *et al.*, 2013). Gao mempelajari stabilitas dan aktivitas elektrokimia nanopartikel Pt pada diamond. Modifikasi BDD dilakukan dengan tiga langkah metode deposisi yaitu proses *wet-chemical seeding*, *rapid thermal annealing* (RTA) dan *electrochemical overgrowth of seeds*. Pada proses *wet-chemical seeding* H_2PtCl_6 direaksikan dengan NaBH_4 sehingga Pt tertanam dipermukaan elektroda (Kim *et al.*, 2006; La-Torre-Riveros *et al.*, 2011 dan La-Torre-Riveros *et al.*, 2012). Pada proses RTA dilakukan proses pemanasan dengan atmosfer nitrogen untuk meningkatkan kekuatan adsorpsi sehingga stabilitas Pt pada permukaan

BDD meningkat. Dalam penelitian ini energi antarmuka substrat-partikel lebih kecil dari energi substrat dan energi partikel. Pada proses *electrochemical overgrowth of seeds* juga dilakukan *refreshed* dan *activity* Pt pada permukaan BDD melalui aktivasi elektrokimia dan *overgrowth* yang bertujuan untuk mengoksidasi dan mereduksi nanopartikel logam sehingga permukaan menjadi *refresh* akibat terbentuknya *passivation* pada permukaan Pt setelah proses RTA.

Berdasarkan penelitian tersebut maka akan dilakukan pembuatan biosensor AA dengan elektroda BDD dimodifikasi Hb menggunakan elektromediator Pt, yang sebelumnya akan ditingkatkan terlebih dahulu kestabilannya dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Gao 2013. Penelitian ini akan mempersiapkan elektroda Pt/BDD menggunakan metode deposisi yang terdiri dari 5 langkah yaitu proses *wet-chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi. Elektroda Pt/BDD kemudian dimodifikasi menggunakan Hb sebagai biosensor. Biosensor yang diperoleh akan digunakan dalam sampel makanan yaitu pada kopi Luwak Toraja yang berpotensi mengandung AA dan hasil pengukurannya akan dibandingkan menggunakan metode LCMS/MS.

1.2 Rumusan Masalah

Walaupun penelitian yang telah dilakukan oleh Gao pada tahun 2013 mengenai peningkatan kestabilan Pt pada permukaan BDD memberikan gambaran dan hasil yang baik, namun ada beberapa permasalahan atau pertanyaan yang timbul apabila elektroda Pt/BDD yang telah diperoleh, kemudian dimodifikasi Hb dan digunakan untuk mendeteksi AA pada sampel makan. Berdasarkan permasalahan tersebut diatas, maka rumusan masalah yang dapat disusun adalah sebagai berikut :

1. Apakah BDD termodifikasi Pt (Pt/BDD) yang stabil dapat diperoleh dengan preparasi menggunakan rangkaian teknik *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi ?
2. Apakah Pt/BDD yang dipreparasi dengan cara diatas dapat dimodifikasi dengan Hb dan dapat digunakan untuk mendeteksi akrilamida ?
3. Bagaimana performa biosensor akrilamida yang diperoleh dari rangkaian teknik diatas ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan tersebut di atas maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Preparasi Pt/BDD dengan rangkaian teknik *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi.
2. Memodifikasi Pt/BDD yang diperoleh dengan cara diatas dengan Hb dan mengaplikasikannya untuk deteksi akrilamida.
3. Menguji performa biosensor akrilamida (Hb/Pt/BDD) yang dipreparasi dengan cara diatas.

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan teori yang diacu tersebut diatas, diajukan beberapa hipotesis sebagai berikut :

1. Rangkaian teknik *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi dapat diaplikasikan untuk memperoleh Pt/BDD yang lebih stabil jika dimodifikasi dengan Hb.
2. Hb/Pt/BDD akan memberikan signal untuk deteksi akrilamida dengan signal lebih stabil dan lebih sensitif karena penyeragaman dan pendistribusian Pt pada permukaan BDD dengan teknik ini terjadi lebih baik.
3. Hb/Pt/BDD yang diperoleh dengan rangkaian teknik diatas menghasilkan biosensor akrilamida yang stabil dengan sensitivitas tinggi.

1.5 Manfaat Penelitian

a. Manfaat Teoritis

Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan mengenai biosensor akrilamida berbasis hemoglobin yang dapat menjadi perangkat sensor yang lebih praktis, mudah digunakan bagi semua kalangan dan selektif terhadap AA untuk pengawasan terhadap makanan yang mengandung akrilamida sehingga bahaya kanker dapat dikurangi bahkan dicegah.

b. Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi mengenai cara preparasi Pt-BDD yang stabil.
2. Memberikan informasi mengenai cara preparasi Hb-Pt-BDD yang stabil dengan sensitivitas tinggi sebagai sensor AA.
3. Memberikan informasi mengenai performa Hb-Pt-BDD pada sampel kopi yang mengandung AA.

1.6 Novelty atau Kebaruan Penelitian

Novelty atau kebaruan dari penelitian ini adalah :

Teknik preparasi Hb/Pt/BDD dengan menggunakan rangkaian teknik yaitu *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh*, dan aktivasi untuk preparasi Pt/BDD termodifikasi Hb untuk aplikasi sebagai biosensor AA **belum pernah diteliti**, teknik preparasi ini diharapkan dapat meningkatkan kestabilan dalam deteksi AA.

Pada penelitian S3 ini akan dilakukan:

1. Preparasi Pt/BDD dengan menggunakan rangkaian teknik *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi.
2. Hasil preparasi Pt/BDD dimodifikasi dengan Hb dan diaplikasikan untuk mendeteksi akrilamida.
3. Uji performa biosensor Hb/Pt/BDD yang diperoleh dengan rangkaian teknik diatas untuk deteksi sampel kopi yang mengandung AA.

1.7 *State of the art* penelitian

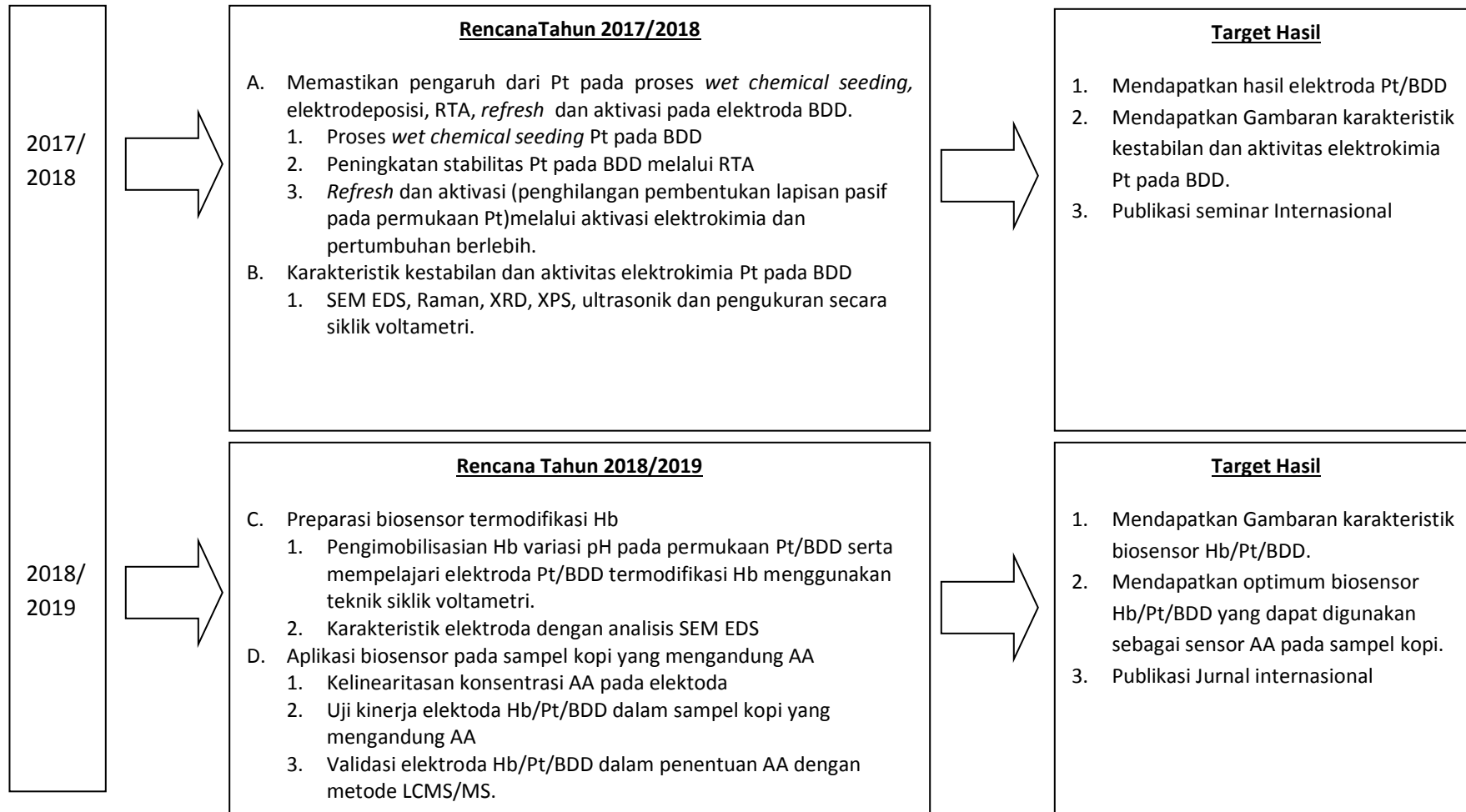
State of the art penelitian S3 kimia seperti terlihat pada Tabel berikut ini :

Beberapa capaian penelitian sebelumnya

Peneliti (Tahun)	Judul (Metode)	Deskripsi Penelitian
Nekrassova, O., Lawrence, N, S., and Campton, R, G (2004)	Direct oxidation of haemoglobin at bare boron-doped diamond electrodes	BDD dapat merespon langsung oksidasi pada hemoglobin dibandingkan dengan elektroda lain seperti emas, platinum, karbon kaca, pirolitik grafit.
Li, M., Zhao, G., Geng, R., and Hu, H (2008)	Facile electrocatalytic redox of hemoglobin by flower-like gold nanoparticles on boron-doped diamond surface	Pada penelitian ini terungkap bahwa nanopartikel emas yang melekat pada BDD dapat berfungsi sebagai jembatan transfer elektron antara Hb dan permukaan BDD.
Garabagiu, S., and Mihailescu, G (2011)	Simple hemoglobin-gold nanoparticles modifikasi electrode for the amperometric detection of acrylamide.	Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan menggunakan teknik dekomposisi sederhana nanopartikel emas terimobilisasi Hb dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi rendah akrilamida.
Gao, F., Yang, N., and Nebel, C, E (2013)	Highly stable platinum nanoparticles on diamond	Hasil eksperimen menunjukkan bahwa kestabilan nanopartikel Pt pada diamond sangat baik. Dan ada kemungkinan metode ini dapat diterapkan pada elektroda BDD menggunakan nanopartikel logam lainnya.
Umam, K (2016)	Preparasi boron doped diamond termodifikasi hemoglobin sebagai sensor akrilamida	Elektroda BDD termodifikasi hemoglobin dapat digunakan sebagai sensor senyawa akrilamida dengan nilai LOD 5.477 μM untuk elektroda.

ROADMAP PENELITIAN S3 KIMIA

Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin menggunakan *Boron Doped Diamond* termodifikasi Logam Pt

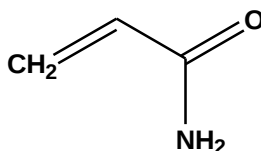


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Akrilamida

Akrilamida (AA, 2-propenamida, C_3H_5NO , etilen karboksiamida, *acrylic acid amide*, vinil amida, *propenoic acid amide*) CAS No. 79-06-01 merupakan kristal padat yang tidak berwarna, tidak berbau, memiliki berat molekul sebesar 71,08, titik leleh pada suhu 84,5 °C, titik didih 125 °C (25 mmHg), larut dalam air, aseton, etanol dan pelarut polar lainnya (McCollister *et al.*, 1964; Lingnert *et al.*, 2002, Hu *et al.*, 2015 dan Capuano *et al.*, 2016). AA telah digunakan sejak tahun 1950an dalam produksi poliakrilamida (Hogervorst *et al.*, 2010), saat ini AA diaplikasikan terutama pada elektroforesis dan kromatografi dalam penelitian laboratorium (Fredman, 2003).



Gambar 2. 1 Struktur akrilamida (Lingnert *et al.*, 2002)

Pada tahun 1994, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) mengelompokkan AA sebagai “*Group 2A*” yaitu senyawa yang berpotensi menyebabkan kanker pada manusia. AA bersifat neurotoxin, karsinogen dan *genotoxicity* yang dapat menyebabkan kanker dan tumor (Lyon *et al.*, 1994; Tareke *et al.*, 2002; Lingnert *et al.*, 2002; Zyzak *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2003; Ruden *et al.*, 2004; Harahap., 2006; Niaz *et al.*, 2008; Erkekoglu *et al.*, 2010; Hogervorst *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011; Pennisi *et al.*, 2013; Fazendeiro *et al.*, 2013 dan Riboldi *et al.*, 2014). AA diklasifikasikan sebagai Kategori 2 karsinogen dan Kategori 2 mutagen oleh Komisi Eropa (EC, 2002) serta substansi "perhatian sangat tinggi" oleh European Chemical Agency pada tahun 2010 (ECHA, 2010).

Pertemuan ke-72 Joint FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) telah secara sistematis meringkas dan memperbarui studi AA di seluruh dunia sejak pertemuan ke-64 (JECFA, 2005, 2011). Dokumen yang dihasilkan menunjukkan bahwa tumor multi-organ ditemukan pada hewan percobaan yang terpapar AA, meskipun tidak ada hubungan yang signifikan antara asupan diet AA namun peningkatan beberapa kanker telah ditetapkan dari penelitian epidemiologi (Friedman, Dulak, & Stedham, 1995; Johnson et al., 1986). Genotoksisitas AA dapat disajikan dalam dua cara. Pertama, AA dapat diubah menjadi glikidamid metabolitnya, yang 3 kali lebih tinggi dalam kemampuan berubah dibandingkan dengan AA dan dapat menginduksi titik mutasi dalam berbagai sistem (Fazendeiro, 2013). AA dapat bertindak sebagai akseptor Michael untuk membentuk adisi dengan tiol, hidroksil, dan gugus amino dalam DNA, yang mengarah pada kerusakan DNA (Doroshenko et al., 2009; Erkekoglu & Baydar, 2010; Hogervorst et al., 2010; Watzek et al., 2012; Zeiger et al., 2009). Pekerja yang mengalami paparan pekerjaan terhadap AA akan menderita kerusakan sistem saraf dan mengalami kegelisahan, karena efek neurotoksik AA bersifat kumulatif dan kronis (Huang et al., 2011; Pennisi et al., 2013).

Pada bulan April 2002, Badan Pangan Nasional Swedia dan peneliti dari Stockholm University melaporkan sejumlah besar AA ditemukan di beberapa makanan yang diproses secara termal. Sejak itu, AA telah menjadi perhatian dari FAO/WHO, JECFA, FDA, lembaga makanan nasional dan lembaga penelitian lainnya.

Tolerable daily intake (TDI) atau asupan harian AA yang diperbolehkan adalah 40 µg/kg (ppb) per hari untuk neurotoksisitas dan 2,6 µg/kg (ppb) per hari untuk kanker, bahkan menurut Environmental Health Hazard Assessment (OEAHHA), salah satu divisi EPA yang berlokasi di California, Amerika Serikat telah menetapkan bahwa 0,2 µg/Kg (ppb) hari akrilamida tidak bersifat karsinogenik. Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai dampak AA bagi kesehatan diantaranya kanker prostat (Larsson et al., 2009; Wilson et al., 2009; Wilson et al., 2012; Miller et al., 2013), kanker pankreas (Pelucchi et al., 2011; Obón-Santacana et al., 2013), kanker payudara (Olesen et al., 2008; Pedersen et al., 2010; Burley et al., 2010), kanker esofagus (Lin et al., 2011), kanker ovarium (Wilson et al., 2010), kanker otak (Wilson et al., 2009 dan Hogervorst et al., 2010).

Biasanya AA ditemukan dalam makanan yang diolah dengan suhu tinggi, seperti proses memasak dengan cara penggorengan, pemanggangan, pembakaran, pengovenan (Stadler *et al.*, 2002; Tareke *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2005; Wicklund *et al.*, 2006; De Vleeschouwer *et al.*, 2010 dan Halford *et al.*, 2012). AA terbentuk dari reaksi gula pereduksi (misalnya glukosa atau fruktosa) dengan asam amino asparagin melalui reaksi Maillard yang terjadi selama proses pemanasan makanan, diatas 120 °C (248 °F) (Mottram *et al.*, 2002; Stadler *et al.*, 2002; Stadler *et al.*, 2003; Claeys *et al.*, 2005 dan Lineback *et al.*, 2012). Berikut adalah daftar tingkatan akrilamida dalam makanan olahan:

Tabel 2. 1 Kandungan akrilamida dalam makanan olahan

Makanan	Akrilamida ($\mu\text{g/kg}=\text{ppb}$)
Almond panggang	260
Asparagus panggang	143
produk olahan seperti bagels, roti, cakes, kue kering	70-430
Beer, malt, <i>whey drink</i>	30-70
Biskuit, Krupuk	30-3200
Sereal	30-1346
Coklat bubuk	1590
Kopi bubuk	170-351
Kripik jagung	34-416
<i>Cripsbread</i>	800-1200
Produk ikan	30-39
Kue jahe	90-1660
Produk daging dan unggas	30-64
Sup bawang dan <i>dip mix</i>	1184
Kacang-kacangan dan <i>butter</i> kacang	64-457
Kacang tanah	140
Kentang rebus	48
Keripik kentang	170-3700
Kentang goreng	200-12000
Olahan kentang lainnya seperti makanan ringan	30-1915
Kedelai panggang	25
Biji bunga matahari panggang	66
Olahan <i>taco shells</i>	559

(sumber: Friedman *et al.*, 2003)

2.2 Metode umum deteksi akrilamida

Organisasi *food analysis performance assessment* (FAPAS) mengungkapkan Kromatografi cair (*liquid chromatography* (LC)) dan kromatografi cair kinerja tinggi (*high performance liquid chromatography* (HPLC)) berpasangan dengan spektrometri massa (MS) adalah metode yang digunakan untuk pemisahan dan *quantification* AA pada makanan karena sensitif dan selektif (Tekkeli *et al.*, 2012). Sementara untuk metode LC-MS/MS memiliki sensitivitas yang sangat baik dan range deteksi yang lebar (Chen *et al.*, 2008). Metode GC memiliki kemiripan dengan metode LC-MS/MS dalam mendeteksi AA, yang didasarkan pada tingkat kepolaran dan volatilitas yang rendah. *Derivatized* GC dipasangkan dengan spektroskopi massa (GC-MS) diketahui dapat mendeteksi AA sampai tingkat $<50 \mu\text{g kg}^{-1}$ pada makanan yang berbahan gandum dengan tingkat sensitivitas ($\text{LOD}=2 \mu\text{g kg}^{-1}$) (Pittet *et al.*, 2004).

Banyak penelitian dilakukan untuk mengembangkan metode deteksi senyawa AA dalam makanan, misalnya dengan menggunakan teknik kromatografi seperti GC-MS dengan atau tanpa brominasi (Castle *et al.*, 1991; Tareke *et al.*, 2000; Tareke *et al.*, 2002; Lingnert *et al.*, 2002; Nemoto *et al.*, 2002; Ahn *et al.*, 2002; Robarge *et al.*, 2003; Ono *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2003; Tateo *et al.*, 2003; Pittet *et al.*, 2003; Lagalante *et al.*, 2004; Pittet *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2010; Yamazaki *et al.*, 2012; Motaghi *et al.*, 2012 dan Notardonato *et al.*, 2013), GC-MS/MS (Ono *et al.*, 2003; Wiertz-Eggert-Jörissen, 2003; Pérez *et al.*, 2003 dan Hoenieke *et al.*, 2004), LC dan HPLC-MS (Thomas *et al.*, 2003; Hoenieke *et al.*, 2004 dan Stobiecka *et al.*, 2007), LC-MS (Zyzak *et al.*, 2003; Stadler *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2003 dan Jezussek *et al.*, 2003), LC-MS/MS (Tareke *et al.*, 2002; Rosen *et al.*, 2002; Lingnert *et al.*, 2002; Konings *et al.*, 2003; Becalski *et al.*, 2004; Taubert *et al.*, 2004; Tsutsumiuchi *et al.*, 2004; Granby *et al.*, 2004; Hoenicke *et al.*, 2004; Delatour *et al.*, 2004; Andrzejewski *et al.*, 2004; Wenzl *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2009; Bortolomeazzi *et al.*, 2012), LC-ESI-MS/MS (Riediker *et al.*, 2003; Roach *et al.*, 2003 dan Inoue *et al.*, 2003), UPLC dan UPLC-MS/MS (Zhang *et al.*, 2007 dan Zhang *et al.*, 2011).

Pertemuan ke 72 *join* FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) 2011 sebagian besar mengevaluasi aplikasi dari metode standar atau konvensional dalam deteksi AA, yang telah ditinjau memiliki kerumitan, memerlukan tenaga ahli, biaya yang

mahal, dan waktu yang lama (Keramat *et al.*, 2011; Lineback *et al.*, 2012; Oracz *et al.*, 2011; Tekkeli *et al.*, 2012; Batra *et al.*, 2013). Penelitian terbaru yang banyak dikembangkan mengenai metode deteksi cepat AA yaitu mengarah ke sensor karena dianggap lebih praktis dan cepat, seperti penggunaan elektroda pasta karbon yang dimodifikasi hemoglobin (Hb) (Stobiecka *et al.*, 2006), elektroda *glassy carbon* dimodifikasi dengan *single-walled carbon nanotubes* (SWCNTs) dan Hb (Krajewska *et al.*, 2008), elektroda ITO *glass* dimodifikasi nanopartikel emas-Hb (Garabagiu *et al.*, 2011), elektroda Hb/cMWCNT/CuNP/PANI/PG (Batra *et al.*, 2013), elektroda *boron doped diamond* (BDD) termodifikasi Hb (Umam, 2016).

Tidak seperti LC-MS/MS dan GC-MS, metode cepat didasarkan pada sifat biokimia dari AA, biomaterial berinteraksi tinggi dan spesifik dengan AA, atau berinteraksi dengan perubahan sifat fisiokimia dari makanan yang diproses secara termal terkait dengan AA. Metode standar dan cepat untuk mendeteksi AA dalam makanan diringkas dalam Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Aplikasi metode standar dan metode cepat untuk mendeteksi AA dalam makanan yang diproses secara termal.

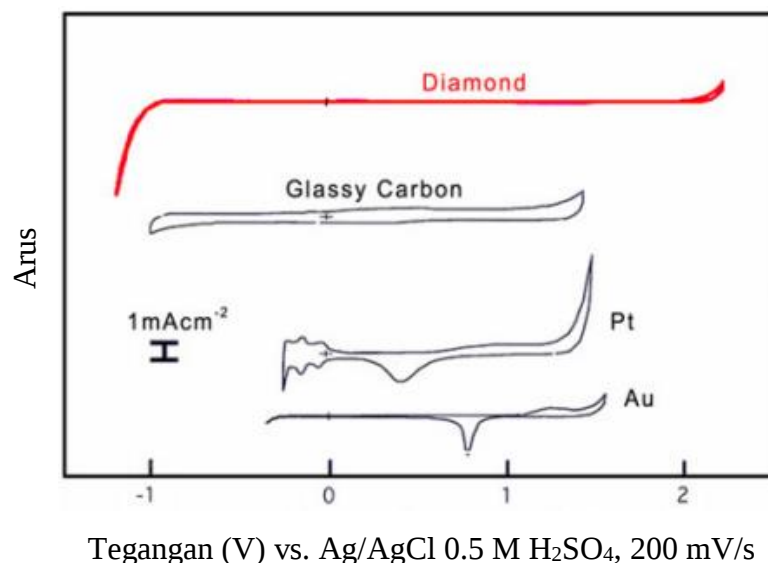
	Metode	Sampel	Rentang linear	LOD ($\mu\text{g/kg}$) atau ppb	LOQ ($\mu\text{g/kg}$) atau ppb	Recovery	RSD	Referensi
Metode standar	LC-MS/MS (HPLC,UPLC)	Keripik kentsng	1-200	1	3	81.6-99.0%	0.4-4.5%	(Zhang et al., 2007)
		Kopi	2-100	5	16	92-95%	<5%	(Bortolomeazzi et al., 2012)
		Makanan berbahan dasar sereal	1-200	6	18	90.6-98.5%	1.8%	(S, enyuva & Gökmen, 2006)
		Teh	1-20	1	5	74-79%	1.6-8.3%	(Liu, Zhao, Yuan, Chen, & Hu, 2008)
		Makanan bayi	0.1-200	1	3	87-96%	<65%	(Zhang et al., 2005)
	GC-MS	Keripik kentang	10-1000	5	-	81.9-95.7%	5.3-13.4%	(Yamazaki et al., 2012)
		Kopi	0-1500	5	10	84-97%	2-10%	(Soares, Alves, Casal, Oliveira, & Fernandes, 2010)
		Makanan berbahan dasar sereal	5-50000	2	36	91-99%	<4%	(De Vleeschouwer et al., 2007)
		Kentang goreng	30-10000	1	25	>96%	<2%	(Notardonato, Avino, Centola, Cinelli, & Russo, 2013)
		Mie instan	10-5000	5.1	13	87.3%	1.6%	(Yamazaki et al., 2012)
Metode cepat	Elektrokimia Biosensor	Keripik kentang	$9.2 \times 10^{-4} - 3.4 \times 10^3$	8.5×10^{-3}	-	-	-	(Stobiecka et al., 2007)
		Keripik kentang	0.35- 5.3×10^6	1.4×10^{-2}	-	95.4-97.56%	-	(Batra, Lata, Sharma et al., 2013)
		Tidak ada makanan yang terdeteksi	0.71-710	2.84	7.1	-	-	(Garabagiu & Mihailescu, 2011)
	ELISA	Keripik Pringles	51.76-3311.5	65.7	-	-	-	(Preston et al., 2008)

fluoresensi	Kentang tumbuk	50-1280	50	350	92.6-95.5%	-	(Fu et al., 2011)
	Kripik kentang, mie instan, dan kue kering	26.3-221.1	18.6	60.6	74.4-98.1%	-	(Quan et al., 2011)
	Kentang goreng, biskuit	10-100000	6	-	90-110%	6.3-9.9%	(Zhou et al., 2008)
	Kripik kentang, biskuit, dan kopi	0.25-24.15	0.036	-	73.7-107%	3.6-19.2%	(Wu et al., 2014)
	Keripik kentang	35-350000	35	-	-	-	(Hu et al., 2014)
	Kentang goreng, puff goreng, ayam goreng, roti, biskuit	50-20000	15	-	66.0-110.6%	-	(Liu et al., 2014)
		Koefisien korelasi		Akurasi Prediksi			
Computer vision	Keripik kentang	0.989		98% pada ambang 10 µg/kg (ppb)			(Gökmen et al., 2006)
	Kue kering	0.9461		100% pada ambang batas 150 µg/kg (ppb)			(Gökmen et al., 2008)

2.3 Boron doped diamond (BDD)

Elektroda karbon sp^2 seperti *glassy carbon* (GC), grafit pirolitik, karbon nanotube dan lainnya telah banyak digunakan dalam aplikasi elektrokimia seperti sensor, katalis pendukung *fuel cell*. Namun kini penggunaan elektroda karbon sp^3 seperti BDD telah menarik perhatian para peneliti dibidang elektrokimia. Material karbon seperti karbon nanotube, karbon hitam, GC, BDD, dan graphine baru-baru ini telah dicoba secara ekstensif sebagai pendukung untuk deposisi katalis logam yang homogen dan terkontrol ukurannya (seperti platinum, emas, paladium, tembaga, dan logam campuran) (Yu *et al*, 1998; Arunagiri *et al*, 2005; Kim *et al*, 2006; Jeon *et al*, 2007; Bajpai *et al*, 2011; Brulle *et al*, 2011 dan Lu *et al*, 2011).

BDD terbukti menjadi substrat ideal untuk deposisi katalis logam bila dibandingkan dengan material seperti GC, Pt, dan Au. Hal ini disebabkan oleh sifat BDD yang memiliki stabilitas kimia yang baik, jendela potensial elektrokimia yang lebar, latar belakang arus rendah (kapasitan arus rendah) seperti pada Gambar 2.2, dan over potensial tinggi untuk keberadaan oksigen dan hidrogen dalam lingkungan perairan (Einaga., 2010; Macpherson., 2015).



Gambar 2. 2 Sifat elektrokimia berbagai elektroda (Einaga, 2010)

Diamond merupakan bahan dengan hibridisasi sp^3 yang lengkap dari carbon menghasilkan ikatan tetrahedral yang luas diseluruh kisi, menyebabkan diamond memiliki sifat yang ekstrem (Balmer *et al*, 2009). Sifat yang paling menonjol yang dimiliki diamond adalah kekerasan, konduktivitas termal yang sangat tinggi, kemampuan resistivitas elektrik yang tinggi, *band gap* semikonduktor yang sangat lebar (5,47 eV pada 300 K) (Balmer *et al*, 2009). Walaupun diamond memiliki sifat yang luar biasa, namun kemampuan elektrokimia diamond masih rendah tidak seperti material sp^2 yang pada dasarnya sudah memiliki kemampuan elektrokimia yang baik. Kemampuan elektrokimia (sifat listrik) diamond dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi atau penambahan (*dopant* atau dopan) boron seperti yang terjadi pada modifikasi silikon.

Pemilihan penggunaan boron dikarenakan boron memiliki kemampuan dalam menggantikan posisi atom karbon yang dipindahkan dengan lebih efektif karena energi aktivasi yang dimiliki relatif kecil yaitu 0,37 eV, sehingga tingkat doping lebih dimungkinkan bila dibandingkan dengan nitrogen yang secara unsur periodik memiliki energi aktivasi yang lebih besar yaitu 1,7 eV. Oleh sebab itu, boron menjadi dopan yang lebih disukai untuk studi elektrokimia (Macpherson, 2015).

Elektroda BDD bila dibandingkan dengan elektoda lain seperti GC, Pt dan Au memiliki keunggulan seperti : (a) jendela pelarut yang lebar; (b) latar belakang arus yang rendah (kapasitan yang rendah); (c) gangguan yang rendah (kestabilan yang tinggi); (d) tidak mudah rusak pada suhu tinggi, tekanan dan lingkungan yang ekstrem; (e) biokompatibilitas (Pleskov, 2003; Fujishima *et al*, 2005; Luong *et al*, 2009; Einaga, 2010; Angus *et al*, 2011; Enric, 2011 dan Einaga *et al*, 2014).

2.3.1 Pertumbuhan BDD

Sejak pertengahan tahun 1950-an, BDD diproduksi secara sintesis menggunakan metode *high pressure high temperature* (HPHT) atau tekanan tinggi temperatur tinggi (Bundy *et al*, 1955). Kemajuan teknologi pada akhir 1980-an menghasilkan sintesis BDD dari karbon fase gas dengan menggunakan teknik deposisi uap kimia atau *chemical vapour deposition* (CVD) pada tekanan rendah (Kamo, 1992). Pada proses sintesis BDD menggunakan CVD bergantung pada karbon radikal dan konsentrasi hidrogen (H)

terdisosiasi (terpisah) yang relatif tinggi. Suhu tinggi diperlukan untuk pertumbuhan permukaan, biasanya lebih besar dari 700 °C, agar mendapatkan kinetika permukaan yang sesuai.

Produksi elektroda secara komersil dan laboratorium lebih banyak menggunakan metode CVD karena proses yang efisien dalam mengontrol penggabungan dopan dan area yang ditumbuhkan pada substrat lebih luas serta terstruktur. Pada proses CVD biasanya menggunakan plasma yang terbuat dari *hot filamen* (HF) atau gelombang mikro (MW). Penggunaan MW memiliki kemampuan pembentukan suhu plasma yang lebih tinggi dari pada HF, dimana suhu dibatasi oleh titik lebur filamen. Kemampuan MW-CVD dalam menghasilkan suhu yang lebih tinggi dari HF-CVD sehingga menghasilkan konsentrasi atom H yang lebih tinggi. Sebagian besar produsen elektroda BDD komersial mengadopsi pendekatan HF-CVD karena memiliki kemampuan untuk tumbuh di area permukaan yang luas. Namun dengan menggunakan MW-CVD kemampuan tumbuh lebih cepat dan kemurnian yang diperoleh lebih tinggi (Macpherson, 2015).

Metana sebagai sumber karbon dan boron sebagai dopan dalam bentuk gas seperti B_2H_6 , $B(OCH_3)_3$ dimasukkan kedalam ruang reaktor (*chamber*) CVD yang didalamnya telah ada gas H_2 (Marooka *et al*, 1999). Gas H_2 memiliki peranan penting karena plasma menghasilkan atom H sebagai ikatan akhir dipermukaan yang menjuntai (*dangling*) atau terminasi-H, mencegah rekonstruksi permukaan dan bereaksi dengan karbon sp dan sp^2 atau secara khusus mengetsa (menggores) permukaan dari pertumbuhan lapisan (Butler *et al.*, 2009). Parameter pertumbuhan yang digunakan sangat penting karena akan berperan dalam mengontrol sifat-sifat yang mirip dengan non-diamond-carbon (NDC) menjadi diamond (secara kualitatif dianggap sebagai rasio sp^2 menjadi sp^3) ketebalan, tekstur dan ukuran.

Penggunaan pertumbuhan substrat polikristalin menghasilkan lapisan diamond polikristalin, yang mengandung kristal diamond dari *facets* pertumbuhan berbeda, atau butiran. Substrat yang ditumbuhkan harus stabil dibawah kondisi pertumbuhan CVD dan memiliki koefisien ekspansi rendah. Substrat yang sesuai yaitu Si, Nb, Mb, Ti, Ta, dan W diperrlakukan dengan tepat seperti abrasi, *seeding* dengan nanopartikel diamond atau bias secara elektrik, untuk meningkatkan *density* inti dalam sintesis diamond (Williams *et al.*, 2011).

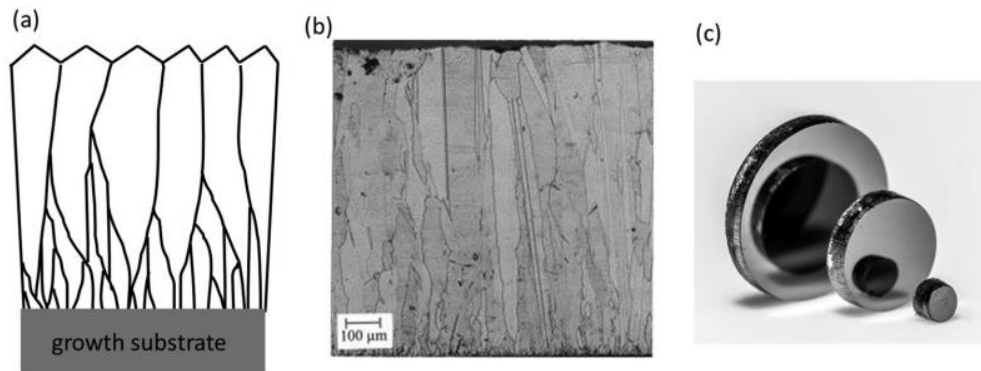
Ukuran butir yang dihasilkan tergantung pada kondisi pertumbuhan seperti waktu, suhu, tekanan, komposisi gas misalnya rasio hidrogen terhadap karbon dan boron serta penambahan gas mulia seperti argon (May *et al.*, 2008). Ini mengarah pada kategori BDD sebagai berikut:

1. ultra-nanokristalin (UCN) dengan ukuran butir <10 nm; (Williams *et al.*, 2011).
2. nanocrystalline (NC) dengan ukuran butir kisaran 10 nm – 1 μ m (Williams *et al.*, 2011) dan;
3. mikrokristalin (MC) dengan ukuran butir 1 μ m (Wilson *et al.*, 2006).

Orientasi kristalografi mempengaruhi serapan boron, dengan (111) > (110) > (100) (Janssen *et al.*, 1992), hal ini juga menjadi penting untuk mempertimbangkan permukaan polikristalin yang akan didopan secara heterogen.

Pembentukan NDC terutama terjadi pada batas butiran, meskipun pembentukan juga dimungkinkan terjadi pada proses pertumbuhan. NDC dapat diubah menjadi lebih bersifat elektrokimia seperti UNC dan NC BDD (Williams, 2011) dengan *density* butiran yang lebih tinggi daripada MC BDD, meskipun sebenarnya hampir mustahil menumbuhkan UNC yang bebas dari NDC walaupun konsentrasi dopan (boron) ditingkatkan masih sulit mencegah pembentukan NDC, bahkan dalam MC BDD. Namun, teknik pertumbuhan telah disempurnakan seperti pertumbuhan MC BDD yang telah diberi dopan maka dapat mengatasi terjadinya pembentukan NDC (Hutton *et al.*, 2013).

Kondisi pertumbuhan tetap, seiring bertambahnya waktu pertumbuhan, ukuran *facets* kristal meningkat dengan ketebalan lapisan seperti ditunjukkan pada Gambar. 2.3 (a, b). lapisan NDC yang lebih rendah dari NC BDD dapat diperoleh dengan menggunakan kondisi pertumbuhan kualitas tinggi MC BDD (rasio tinggi atom H terhadap radikal metil) tetapi diberhentikan sebelum butir menjadi terlalu besar (Williams *et al.*, 2011). Lapisan tipis UNC dan NC (mikron dan lebih kecil, terutama untuk UNC) dan untuk tujuan penanganan dibiarkan melekat pada pertumbuhan substrat. Lapisan MC lebih tebal dan ketika sangat tebal (ratusan mikron) dapat dihilangkan dari pertumbuhan substrat. Pada bentuk ini sering disebut sebagai *freestanding*.



Gambar 2. 3 (a) Skematis dan (b) scanning electron microscopy (SEM) Gambar sisi pada pertumbuhan MC BDD (c) Citra optikal dari freestanding MC BDD (hak cipta Gambar Jonathan C. Newland 2014).

Untuk CVD single crystal (sc) BDD digunakan sebagai substrat perumbuhan untuk mendorong pertumbuhan homo-epitaxial. Substrat jenis ini biasanya ditumbuhkan menggunakan teknik HPHT, dimana biji grafit dan kristal ditekan hingga puluhan ribu atmosfer (~ 5 GPa) dan dipanaskan hingga 1800 K, didalam pelarut logam (Bundy, 1963). Meskipun cara ini telah digunakan selama bertahun-tahun pada tingkat industri untuk sintesis sc diamond, namun BDD yang dihasilkan dalam range mikron hingga milimeter dengan dopan nitrogen. Pada CVD sintesis sc BDD, mekanisme pertumbuhan dapat dioptimalisasi untuk menghasilkan elektroda yang lebih dari metode sebelumnya dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi (Teraji *et al.*, 2002; Achard *et al.*, 2011). Namun, produksi sc BDD tidak sebanyak BDD polikristalin sebagaimana telah banyak dijelaskan dalam jurnal-jurnal sebelumnya, sampai sekarang sc BDD belum diproduksi secara komersial.

2.3.2 Sifat BDD

Dalam penelitian, BDD dapat diperoleh dari tiga sumber berbeda (1) Membuat sistem pertumbuhan sendiri; (2) sistem pertumbuhan komersil misalnya reaktor CVD dengan plasma HF atau MW; atau (3) membeli dari perusahaan yang memproduksi BDD.

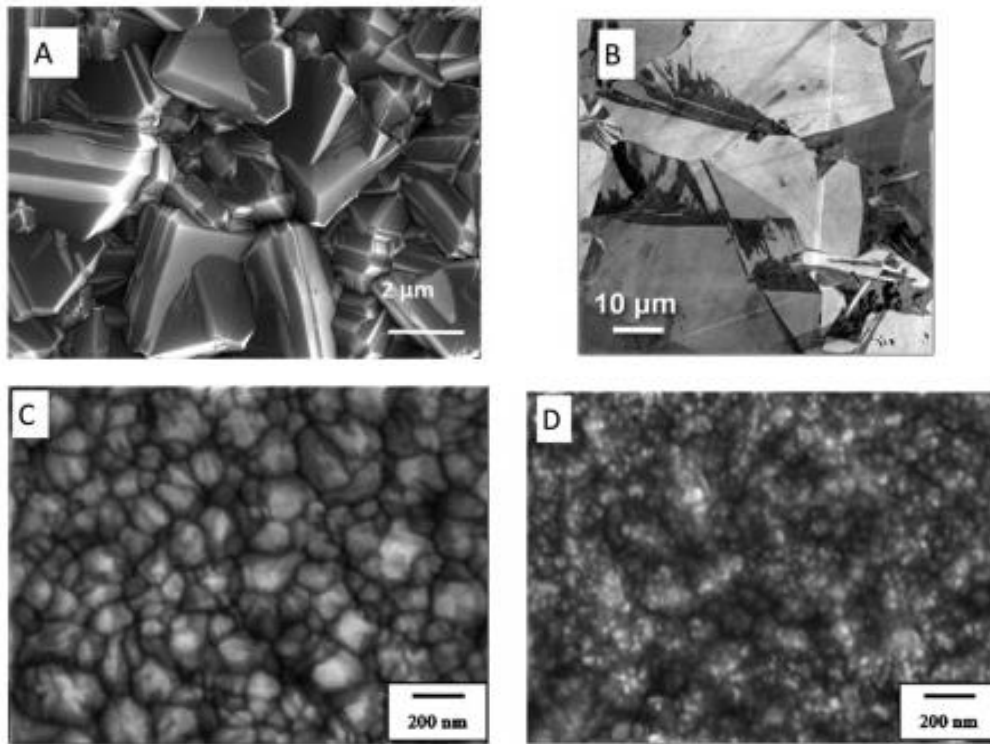
Beberapa hal penting yang perlu diperhatikan dan menjadi pertimbangan dalam memahami sifat elektrokimia yang dihasilkan dari elektroda BDD yaitu :

1. Morfologi permukaan

Visualisasi pemindaian permukaan menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM) akan membantu mengidentifikasi kategori polikristalin BDD yang digunakan misalnya UNC, NC atau MC, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.4 *atomic force microscopy* (AFM) atau interferometri sering digunakan bersama dengan SEM untuk menentukan ukuran butir dan menentukan kekasaran permukaan, yang sangat penting saat menentukan kapasitansi *double layer* (C_{dl}) dari material.

Untuk elektroda MC BDD, terutama yang telah dilapisi, hasil SEM memberikan informasi tentang perbedaan tingkat dopan dipermukaan secara kualitatif (Patten *et al.*, 2012). Penggunaan SEM dapat mencemari permukaan NDC maka permukaan elektroda harus dibersihkan setelah *imaging*. Secara umum, cairan pembersih menggunakan H_2SO_4 (98%) pekat dengan KNO_3 jenuh yang dipanaskan (Hutton *et al.*, 2009). Prosedur pembersihan ini bekerja dengan baik untuk BDD dengan lapisan yang tebal, tetapi apabila terlalu pekat digunakan pada BDD lapis tipis dapat menyebabkan diamond terpisah dari lapisan pendukungnya. Untuk membersihkan material BDD lapisan tipis disarankan menggunakan larutan asam dengan konsentrasi yang rendah (Granger *et al.*, 2000 dan Duo *et al.*, 2004).

Permukaan MC BDD secara garis besar lebih kasar dari NC dan UNC BDD. Lapisan yang lebih tebal $\sim 50 \mu m$ lebih mudah dipoles, sedangkan untuk elektroda NC dan UNC sulit dipoles/dilapisi karena karena memiliki kekasaran permukaan $\ll 1 \mu m$. BDD yang bertambah tebal (misalnya Ratusan μm) menghasilkan ukuran butir yang besar, selain itu material tersebut cukup kuat secara mekanik (Waldvogel *et al.*, 2011).



Gambar 2. 4 (A) SEM dari pertumbuhan MC BDD; (B) SEM dari permukaan MC BDD yang dipoles. Zona-zona yang lebih gelap berhubungan dengan daerah-daerah yang lebih banyak intensitas boron yang didoping pada permukaan (Patten *et al.*, 2012). (C) SEM dari lapisan BDD NC dan (D) SEM dari lapisan BDD UNC (Wang *et al.*, 2009).

2. Jumlah Boron dalam material

BDD bukan merupakan material elektroda konvensional. Diamond didefinisikan sebagai semikonduktor dengan *band gap* yang sangat lebar. Setiap kisi diamond mengandung $\sim 2 \times 10^{23}$ atom C/cm³. Penggunaan boron sebagai dopan mengakibatkan kisi BDD menjadi lubang (hole) aseptor type p. Penggunaan boron sebagai dopan yang cukup menyebabkan *density* aseptor menjadi tinggi sehingga fungsi gelombang secara signifikan tumpang tindih dari atom aseptor, memungkinkan lubang tanpa aktivasi pemanasan ke pita valensi (Balse *et al.*, 2009). Material ini dapat digambarkan sebagai semi-logam atau seperti logam tetapi dengan berkurangnya jumlah muatan atau *density of states* (DOS) (Patten *et al.*, 2012) bila dibandingkan dengan logam klasik.

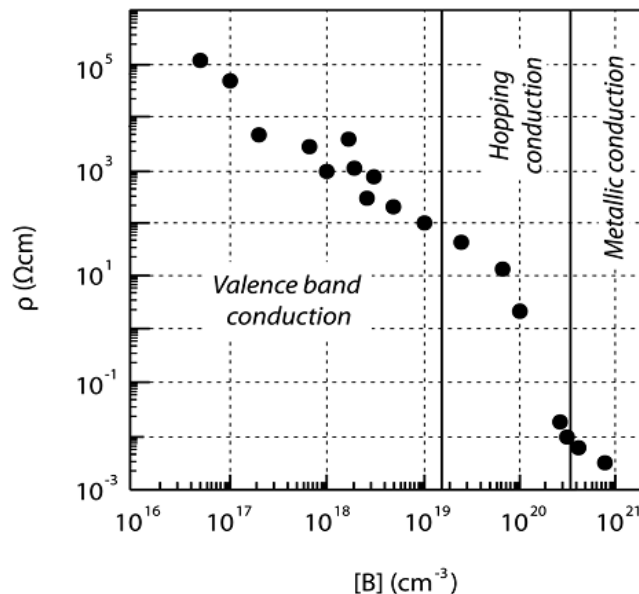
Aturan yang berlaku biasanya ~ 1 dalam 1000 atom C harus digantikan B untuk menunjukkan sifat doping degenerasi dan sifat semi-logam, misalnya *density* dopan lebih besar dari $\sim 10^{23}$ atom B cm^{-3} . *Density* dopan yang lebih rendah dari $\sim 10^{23}$ akan menunjukkan karakteristik *hopping transport* dan sifat semi-konduktor tipe-p pada *density* dopan lebih rendah dari $\sim 10^{19}$ atom B cm^{-3} . Kemampuan secara elektrokimia berkurang dengan berkurangnya *density* dopant (Lagrange *et al.*, 1998). Ini ditekankan pada potensial elektroda yang digunakan kurang positif dari potensial *flat band* (E_{FB}) BDD semi-konduktor. E_{FB} mengacu pada potensial yang digunakan dimana tidak ada *bending band* atau penipisan muatan (Gelderman *et al.*, 2007). Oleh karena itu, penting mengetahui *density* dopan boron dari material yang akan digunakan. Secara kualitatif, warna memberikan indikasi yang baik dengan diamond hitam yang menunjukkan kandungan boron “metalik”. Meskipun sebagai catatan penting, ketika diamond telah tumbuh dengan NDC tinggi juga terlihat hitam. Diamond biru secara kualitatif mengindikasikan BDD bersifat semi-konduktor.

Konsentrasi boron biasanya dinyatakan dalam tiga cara, baik dalam (a) ppm, yang berkaitan dengan konsentrasi boron dalam fase gas berkaitan dengan sumber karbon; (b) % boron untuk karbon dalam fasa gas atau (c) jumlah atom boron per cm^3 dalam fase padat. (a) dan (b) memberikan indikasi kualitatif apakah diamond mengandung cukup boron untuk dianggap seperti logam, tetapi tidak kuantitatif. Untuk memperoleh nilai kuantitatif yang dinyatakan dalam atom boron per cm^3 , perlu menggunakan teknik seperti *secondary ion mass spectrometry* (SIMS) yang sering digunakan, atau analisis reaksi nuklir boron. Penting juga untuk mempertimbangkan bagaimana area pengukuran kandungan boron dibandingkan dengan ukuran butir elektroda.

Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.5, resistivitas (ρ) dari BDD berhubungan dengan *density* dopan boron (Lagrange *et al.*, 1998). Untuk perbandingan dengan data dalam Gambar 2.5, Pt dan Au memiliki nilai ρ $1.06 \times 10^{-5} \Omega \text{ cm}$ dan $2.2 \times 10^{-6} \Omega \text{ cm}$ (pada suhu 20°C) (Giancoli *et al.*, 1995). ρ biasa diukur menggunakan empat titik. Ini juga dimungkinkan untuk membuat pengukuran resistivitas bergantung suhu, lebih tepatnya menginformasikan mekanisme transport listrik seperti logam, melompat, valensi konduksi band. Namun, karena pengukuran ρ tidak membedakan antara BDD dan NDC, adanya

NDC dapat menurunkan nilai ρ yang diukur menghasilkan konsentrasi boron yang lebih tinggi daripada yang sebenarnya.

BDD sebagai semi-konduktor, Plot Mott Schottky dicatat dalam larutan elektrolit, memungkinkan penentuan E_{FB} dan jumlah pembawa muatan *uncompensated* (Albery *et al.*, 1996; Fujishima *et al.*, 2005; dan Azevedo *et al.*, 2013). Reduksi dalam jumlah muatan bebas untuk ET dalam BDD dimungkinkan melalui penggantian aseptor boron dengan donor yang sesuai seperti nitrogen (Cherenko *et al.*, 1973) dan *trapping* muatan dengan adanya cacat dan pengotor dalam kisi diamond (Muret *et al.*, 2010). Ini berarti *density* dopan boron diukur dengan menggunakan teknik seperti SIMS mungkin tidak secara akurat menggambarkan jumlah muatan yang sebenarnya dari pembawa muatan yang tersedia untuk ET. Hal ini terutama berlaku untuk elektroda BDD dopan rendah dengan konsentrasi pengotor/cacat yang lebih tinggi.



Gambar 2. 5 Resistivitas suhu-kamar sebagai fungsi konsentrasi doping boron (Lagrange *et al.*, 1998).

3. Terminasi permukaan

Pemahaman mengenai terminasi permukaan elektroda BDD sangat penting untuk beberapa alasan : (1) fungsionalisasi permukaan elektroda dapat sangat mempengaruhi kinetika transfer elektron (ET) dari proses redoks *inner sphere* (Bard *et al.*, 2010). (2) Terminasi permukaan BDD mempengaruhi sifat pembasahan elektroda. (3) Polaritas ikatan permukaan menghasilkan interaksi elektrostatik yang dapat menaikkan atau menurunkan tingkat energi valensi (E_{VB}) dan pita konduksi (E_{CB}). Sebagai contoh terminasi hidrogen (H-) permukaan diamond ($-C^{\delta-}-H^{\delta+}$) menghasilkan peningkatan E_{VB} dan E_{CB} , dengan *latter sitting* diatas level vakum; afinitas elektron negatif. Ini menghasilkan fenomena yang menarik ketika BDD direndam dalam larutan yang harus dipertimbangkan ketika menafsirkan respons elektrokimia. Secara khusus, ET antara E_{VB} dan $H_3O_{(aq)}^+$ menjadi mungkin dan terbentuk lapisan permukaan akumulasi bermuatan positif. Proses doping permukaan ini menghasilkan konduktivitas permukaan yang dapat diukur (Kawarada *et al.*, 1996; Maier *et al* 2000 dan Ristein *et al.*, 2006).

Pertumbuhan BDD terminasi H dalam reaktor plasma CVD dilakukan dengan pendinginan yang tepat di bawah atmosfer hidrogen. Ini menghasilkan permukaan hidrofobik yang menampilkan sudut kontak sebesar 90° (diamond terisolasi) seperti pada Gambar 2.6 (Boukherroub *et al.*, 2005). Menariknya, ada bukti bahwa ketika kandungan BDD meningkat, sudut kontak hidrofobik berkurang (Azevedo *et al.*, 2013). Permukaan terminasi H stabil di udara selama beberapa bulan, namun perlahan akan teroksidasi seiring waktu, menjadi lebih hidrofilik (Salazar-Banda *et al.*, 2006 dan Vanhove *et al.*, 2007). Oksidasi permukaan juga dimungkinkan dengan cara elektrokimia, biasanya dengan polarisasi anodik (Hutton *et al.*, 2013). Permukaan terminasi O ($C^{\delta+}-O^{\delta-}$) memiliki polaritas ikatan yang berlawanan dengan terminasi H yang biasanya menghasilkan penurunan tingkat energi dan afinitas elektron positif.

Hal ini sangat penting untuk mengecek secara berkala terminasi permukaan untuk memastikan kondisi permukaan, khususnya jika elektroda terminasi H yang telah digunakan secara luas di jendela anodik selama analisis siklik voltametri (CV) atau chronoamperometri (Hutton *et al.*, 2013). Ini dapat dilakukan paling sederhana dengan menjalankan sudut kontak, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.6. Permukaan

teroksidasi menghasilkan sudut kontak air mulai dari $0,6^\circ$ sampai 65° tergantung pada metode terminasi O, kekasaran permukaan dan lain-lain (Yagi *et al.*, 1999). Untuk merubah terminasi H ke terminasi O berbagai teknik yang berbeda telah digunakan (Fujishima *et al.*, 2005) seperti pemanasan dalam asam (Liu *et al.*, 2007), *polishing* alumina (Hutton *et al.*, 2013), paparan plasma oksigen (Wang *et al.*, 2009 dan Notsu *et al.*, 2000), oksidasi fotokimia (Boukherroub *et al.*, 2005), reaksi dengan oksigen pada suhu tinggi (Ostrovskaya *et al.*, 2002), dan penyinaran polarisasi anodik (Notsu *et al.*, 2000; Goeting *et al.*, 2000; Duo *et al.*, 2004 dan Girard *et al.*, 2007).

Untuk informasi kimia yang lebih tepat tentang fungsionalisasi permukaan, teknik pengukuran seperti *X-ray photoelectron spectroscopy* (XPS) diperlukan (Goeting *et al.*, 2000 dan Wang *et al.*, 2009). Prosedur oksidasi yang berbeda akan menghasilkan fungsi kimia yang berbeda; sebuah fenomena juga dikendalikan oleh proporsi orientasi butir yang berbeda pada permukaan elektroda polikristalin. Sebagai contoh, penelitian pada diamond kristal tunggal terminasi oksigen menunjukkan bahwa kelompok C-OH paling banyak terdapat pada face (111). Namun, C-O-C dan $>C=O$ (lebih teroksidasi) group dominan pada face (100), dengan metode penentuan ratio kelompok yang berbeda pada permukaan (Thomas *et al.*, 1992). Kimia permukaan, akan sangat mempengaruhi karakteristik ET elektrokimia dari *inner sphere*. Jadi untuk interpretasi kinetika ET, penting untuk mengetahui kelompok kimia mana yang ada di permukaan dan seberapa stabil dalam jendela potensial ketika melakukan reaksi elektrokimia.



Gambar 2. 6 Pengukuran sudut kontak dilakukan pada permukaan BDD terminasi H dan terminasi O (Macpherson *et al.*, 2015).

BDD yang konduktif merupakan alternatif untuk elektroda karbon tradisional yang memberikan stabilitas kimia dan dimensi yang superior, arus latar belakang yang rendah, dan jendela stabilitas air yang sangat luas. Masukan dari para ilmuwan, ahli kimia dan fisikawan diperlukan untuk membantu pemahaman tentang cara bekerja dengan bahan ini dari sudut pandang elektrokimia dan meningkatkan kualitas elektroda yang penting, tergantung pada bagaimana BDD telah tumbuh dan kemudian dirawat, sebelum pengukuran elektrokimia, sifat material yang dihasilkan dapat bervariasi cukup signifikan dari satu elektroda ke elektroda berikutnya. Ini mungkin menjelaskan variabilitas yang dilihat oleh para peneliti yang berbeda, yang bekerja pada sistem eksperimen yang sama. Yang terpenting adalah tentang cara terbaik untuk mengkarakterisasi sifat material elektroda sebelum digunakan dan menguraikan interaksi antara densitas dopan boron, kandungan non-berlian-karbon, morfologi biji-bijian, kimia permukaan dan identitas pasangan redoks. Semua idealnya harus dipertimbangkan ketika menafsirkan data elektrokimia yang timbul dari elektroda berlian. Ini akan membantu peneliti dalam memilih bentuk BDD mana yang paling cocok untuk aplikasi penelitian tertentu.

Untuk elektroda MC BDD, terutama yang telah terlapisi terdapat perbedaan hasil SEM yang dapat digunakan untuk memberi informasi secara kualitatif pada perbedaan tingkat dopan di permukaan (Patten *et al.*, 2012). Penggunaan SEM dapat mencemari permukaan elektroda NDC, maka elektroda harus dibersihkan setelah karakterisasi menggunakan SEM. Biasanya, untuk membersihkan BDD digunakan pemanasan H_2SO_4 (98%) jenuh dengan KNO_3 (Hutton *et al.*, 2009). Prosedur ini bekerja dengan baik untuk BDD tebal, tetapi bisa terlalu agresif untuk lapisan BDD tipis yang masih melekat pada substrat pertumbuhan yang menyebabkan BDD terpisah dari pendukungnya. Perawatan elektrokimia dalam konsentrasi asam yang lebih rendah lebih disarankan (Granger *et al.*, 2000 dan Duo *et al.*, 2004).

BDD bukan material elektroda konvensional. BDD menurut definisi adalah band gap semikonduktor yang sangat lebar, mengandung $\sim 2 \times 10^{23}$ C atom per cm^3 dalam kisi BDD. Doping dengan boron memperkenalkan *acceptors* tipe p (lubang) ke dalam kisi. Doping boron yang sesuai, seperti densitas *acceptor* yang tinggi menunjukkan *overlap* fungsi gelombang dari atom *acceptor*, memungkinkan propagasi lubang tanpa aktivasi

termal ke pita valensi (Blasé *et al.*, 2009). BDD dapat digambarkan sebagai semi-metalik atau "seperti-logam" tetapi dengan pengurangan jumlah muatan atau densitas *states* (DOS) dibandingkan dengan logam klasik (Patten *et al.*, 2012).

Biasanya ~ 1 dalam 1000 atom C harus diganti oleh B untuk menunjukkan doping yang berdegenerasi dan memiliki sifat semi-logam, yaitu densitas dopan lebih besar dari atom B $\sim 10^{20} \text{ cm}^{-3}$. Untuk densitas dopan kurang dari ini bahan akan menunjukkan lompatan karakteristik transportasi dan kemudian tipe-p memiliki sifat semi-konduktif pada densitas dopan atom B 10^{19} cm^{-3} dan lebih rendah. Mengisi ketersediaan operator untuk elektrokimia menurun karena kepadatan dopan menurun (Lagrange *et al.*, 1998). Hal ini ditekankan pada potensial elektroda yang diterapkan kurang positif dari potensial band *flat* (E_{FB}) dari semi-konduktor BDD. E_{FB} mengacu pada potensi yang diterapkan di mana tidak ada *bending* pita atau penipisan muatan (Gelderman *et al.*, 2007). Oleh karena itu, penting untuk mengetahui kerapatan dopan boron dari bahan yang akan dikerjakan. Secara kualitatif, warna memberi indikasi yang baik dengan berlian hitam yang menunjukkan tingginya “metalik” kandungan boron. Sebagai catatan, ketika isolasi BDD tumbuh dengan kandungan NDC yang tinggi, yang disebabkan dari butiran kecil dan pertumbuhan cepat, terlihat hitam. BDD biru secara kualitatif menandakan BDD semi-konduktif.

Konsentrasi boron biasanya dinyatakan dalam tiga cara, baik dalam (i) ppm, yang berhubungan dengan konsentrasi boron dalam fasa gas sehubungan dengan sumber karbon; (ii) % boron terhadap karbon dalam fasa gas atau (ii) jumlah atom boron per cm^3 dalam fasa padat. (I) dan (ii) memberikan indikasi kualitatif, apakah BDD mengandung cukup boron agar menjadi seperti logam, tetapi tidak kuantitatif. Untuk mendapatkan nilai kuantitatif dinyatakan dalam atom boron per cm^3 dengan menggunakan teknik seperti *secondary ion mass spectrometry* (SIMS) yang secara umum telah digunakan, atau analisis reaksi *nuclear* boron. Penting juga untuk mempertimbangkan bagaimana area pengukuran konten boron dibandingkan dengan ukuran butir elektroda.

4. Adanya NDC

Semakin banyak NDC dalam matriks BDD, semakin inert elektrokatalitik elektroda. Secara elektrokimia, ini biasanya berarti jendela pelarut berkurang, meningkatnya latar

belakang dan kapasitif arus (Hutton *et al.*, 2013 dan Bennett *et al.*, 2004) dan (penurunan batas deteksi) dan permukaan yang berpotensi lebih rentan terhadap pengotoran (Patel *et al.*, 2013). Kehadiran NDC juga dapat mengubah cara elektroda berinteraksi terhadap sistem redoks yang berbeda, terutama yang sensitif terhadap permukaan. Oleh karena itu penting untuk mengetahui apakah elektroda mengandung NDC. Sebagai contoh pengaruh adanya NDC terhadap pengukuran dalam penelitian dalam satu studi telah ditunjukkan elektroda dengan tingkat yang lebih tinggi dari sp^2 mendukung konversi elektrokimia, daripada pembakaran, dari model polutan (Medeiros *et al.*, 2014) sementara yang lain telah menunjukkan peningkatan hasil sp^2 dalam kinetika ET lebih mudah untuk pasangan redoks bola dalam tertentu (Bennett *et al.*, 2004). Cara termudah untuk memeriksa NDC secara kualitatif adalah menggunakan Raman mikroskopi. Teknik ini juga dapat memberikan penilaian kualitatif berkaitan dengan kandungan boron.

2.4 Modifikasi *Boron doped diamond* (BDD)

Karbon material seperti karbon nanotube, carbon hitam, *glassy carbon*, BDD, dan graphene telah dicoba secara luas sebagai pendukung untuk deposisi penyeragaman (homogen) dan kontrol ukuran katalis logam seperti platinum, gold, palladium, copper, dan logam campuran (Brulle *et al.*, 2011; Bajpai *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 1998; Lu *et al.*, 2011; Arunagiri *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; dan Jeon *et al.*, 2007).

Diantara material tersebut diatas, BDD terbukti menjadi substrat ideal untuk deposisi katalis logam disebabkan oleh stabilitas kimia yang sangat baik, jendela potensial elektrokimia lebar, kapasitan arus rendah, overpotensial tinggi untuk keberadaan oksigen dan hidrogen dalam lingkungan perairan, tingkat kekerasan yang tinggi, inert, konduktivitas thermal yang luar biasa dan aplikasi elektroda BDD dalam banyak bidang tidak hanya elektrokimia tapi juga dalam bidang seperti kimia anorganik, kimia analitik, kimia lingkungan, *biomedical* dan seterusnya (Swain *et al.*, 2004; Tian *et al.*, 2006; Kraft *et al.*, 2007; Luong *et al.*, 2009; Einaga., 2010; Macpherson., 2014).

Sistem elektroda BDD-katalis logam menggabungkan elektronik dan sifat mekanik BDD dengan sifat unggul katalis logam (Kraft *et al.*, 2007). Sebagai contoh BDD-nanopartikel Pt (Pt-NP/BDD) sistem katalik ini telah menarik perhatian luas untuk oksidasi

katalik dari bahan bakar cair (misal metanol, etanol) dan oksidasi dari karbon monoksida sebagaimana untuk reduksi katalitik yang lain seperti keberadaan hidrogen (Wang *et al*, 2003; Maillard *et al*, 2005; Kim *et al*, 2006; Brulle *et al*, 2011; Lu *et al*, 2011 dan La-Torre-Riveros *et al*, 2012).

Modifikasi permukaan BDD dapat dilakukan dengan menggunakan perlakuan plasma (Fürner *et al.*, 1998), reaksi kimia contohnya *grafting* asam pyrenebutyric melalui esterifikasi 2,4-dinitrophenylhydrazine, 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES), modifikasi quinone, dan ikatan kovalen dari gugus 4-nitrophenylon melalui reduksi elektrokimia dari 4-nitrobenzenediazonium tetrafluoroborate. Modifikasi BDD melalui deposisi lapisan, modifikasi fotokimia, implantasi ion dan elektrodeposisi (Panizza *et al.*, 2005 dan Luong *et al.*, 2009).

BDD sendiri telah banyak dimodifikasi baik menggunakan logam maupun senyawa organik. Penelitian modifikasi BDD yang telah dilakukan diantaranya yaitu modifikasi BDD menggunakan nanopartikel emas sebagai sensor neuraminidase (Wahyuni *et al.*, 2015), sebagai sensor gas arsen (Ivandini *et al.*, 2010), aplikasinya sebagai *immuno chromatographic strip tests* (Ivandini *et al.*, 2014). Modifikasi BDD sebagai Photoelektron-Fenton dengan Cu sebagai co-katalis dan iradiasi UV A untuk proses pengolahan air limbah (Panizza *et al.*, 2008), modifikasi BDD dengan menggunakan nanopartikel perak dan Hb sebagai sensor H₂O₂ (Jiang *et al.*, 2015), modifikasi BDD asam 4-pentenoat untuk penentuan respon elektrokimia dopamine sehingga gangguan asam askorbat dapat diatasi (Kondo *et al.*, 2009), penentuan herbisida (paraquat) menggunakan BDD (Tyszczyk-Rotko *et al.*, 2014), Deteksi Fluoride menggunakan BDD melalui pembentukan kompleks [FeF₆]³⁻ dan [CeF₆]²⁻ (Culková *et al.*, 2014), Oksidasi elektrokimia langsung dari protein pada konduktif BDD (Chiku *et al.*, 2008).

2.5 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin (Hb) adalah protein heme yang dapat menyimpan dan mengangkut oksigen dalam darah. Hb mengandung empat subunit polipeptida (dua subunit α dan dua subunit β), masing-masing memiliki satu heme bantalan besi sebagai pusat transfer elektron seperti pada Gambar 2.7. Meskipun Hb tidak memainkan peran sebagai pembawa elektron

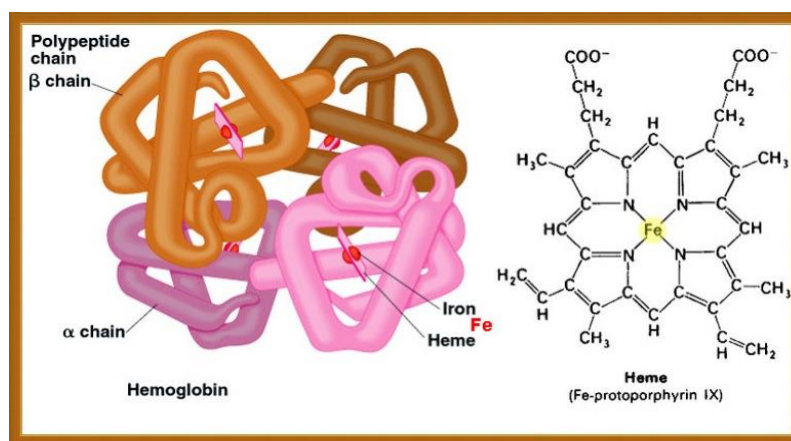
dalam sistem biologis, Hb telah terbukti memiliki aktivitas katalitik seperti enzim (Wide et al., 1973 dan Fan et al., 2001). Sifat yang dimiliki Hb tersebut dapat digunakan sebagai molekul model ideal untuk studi transfer elektron enzim heme karena ketersediaannya secara komersial, biaya yang terjangkau dan struktur terdokumentasi, namun Hb memiliki kemampuan transfer elektron sangat lambat pada elektroda konvensional karena adsorpsi protein dan passivasi dari permukaan elektroda.

Meningkatnya penelitian terkait metode cepat dan tepat untuk penentuan akrilamida telah mendorong pengembangan metode alternatif untuk skrining senyawa akrilamida yang memiliki sifat neurotoksin dan karsinogen. Hanya beberapa contoh menggunakan berbagai teknik untuk mendeteksi senyawa akrilamida ini. Biosensor berpotensi untuk mendeteksi biomolekul dengan kesederhanaan, kecepatan, dan sensitivitas tinggi. Diketahui bahwa akrilamida dapat membentuk adduct dengan hemoglobin (Hb) (Tareke et al., 2002; Ruden et al., 2004 dan Stobiecka et al., 2007). Gagasan di balik sensor yang diusulkan didasarkan pada reaksi Hb dengan akrilamida, yang mengarah pada penciptaan suatu adduct Hb-akrilamida yang dapat mengubah elektroaktivitas Hb. Sebagai hasilnya, dengan peningkatan konsentrasi adduct Hb-akrilamida pada permukaan elektroda, mampu menurunkan puncak arus Hb sebelum berinteraksi dengan senyawa akrilamida. Penurunan arus dapat diperlakukan sebagai sinyal analitik dan dasar untuk biosensor yang sangat selektif dan sensitif untuk penentuan akrilamida. Hb (MW = 64,500) adalah kumpulan dari empat subunit protein globular yang terikat secara non-kovalen satu sama lain. Interaksi antara subunit ini menghasilkan sifat alosterik protein ini. Masing-masing dari empat subunit terdiri dari rantai protein yang erat terkait dengan kelompok heme nonprotein, yang terletak di celah dekat permukaan molekul. Keempat kelompok prosthetic besi-heme bertanggung jawab untuk *electroactivity* Hb menjalani perubahan reversibel dari Fe (III) ke Fe (II).

Hb rentan terhadap modifikasi reversibel dan ireversibel, enam posisi dari besi dapat secara spontan ditempati oleh ligan kecil seperti oksigen, CO, atau CN⁻. Asam amino N-terminal dari rantai- β bereaksi spontan dengan glukosa melalui basis Schiff yang tidak stabil untuk membentuk ketoimin fruktosa. Residu sistein dari rantai- β sangat reaktif dan bereaksi dengan -NO dan reagen pemblokiran -SH lainnya (Scheller et al., 2005).

Akrilamida dan senyawa vinil terkonjugasi terkait reaksi adisi nukleofilik tipe-amino dari gugus amino ($-\text{NH}_2$) dan sulfhidril ($-\text{SH}$) asam amino, peptida, dan protein untuk ikatan rangkapnya. Penelitian telah menunjukkan bahwa adduct akrilamida-Hb terbentuk sebagai hasil dari reaksi antara kelompok- NH_2 dari N-terminal valin dalam Hb dan akrilamida (Tareke et al., 2002 dan Ruden et al., 2004). Oleh karena itu, Hb dapat berfungsi sebagai biomarker yang berguna untuk mendeteksi akrilamida. Adsorpsi biomolekul tersebut pada permukaan nanopartikel dapat mempertahankan bioaktivitas biomolekul karena biokompatibilitas nanopartikel (Luo et al., 2006).

Hb adalah sejenis protein heme yang mengandung empat rantai polipeptida, yang masing-masing mempunyai satu elektroaktif besi heme-Fe (III) sebagai group prostetik (Stobiecka et al., 2007). Hb terdapat dalam darah dan berfungsi sebagai pembawa oksigen yang berperan penting dalam aktifitas kehidupan. Pengamatan dari heterogeneous proses transfer elektron antara permukaan elektroda dan Hb sangat penting sebagai dasar sebagai pengembangan lebih lanjut bioreaktor dan biosensor (Li et al, 2008). Perubahan reversible dari Hb-Fe(III) menjadi Hb-Fe(II) yang menyebabkan Hb memiliki sifat elektroaktif (Schelleret et al., 2005 dan Chan et al., 2000).



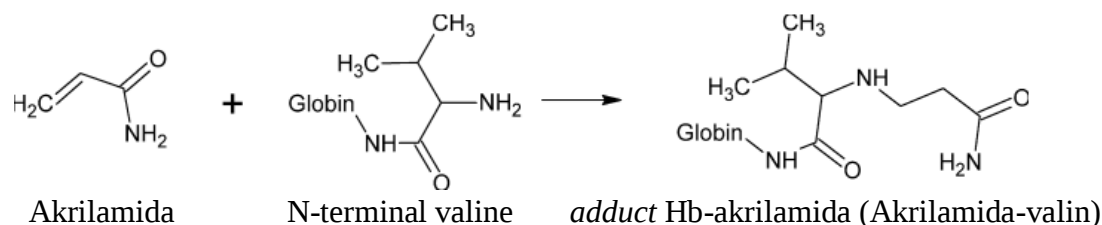
Gambar 2. 7 Struktur kuartener hemoglobin yang tersusun dari 4 polipeptida dengan 2 sub-unit berbeda α dan β

(<http://www.bio.miami.edu/~cmallery/150/chemistry/hemoglobin.jpg>).

Transfer elektron dari protein kepermukaan elektroda dimodifikasi langsung dengan Hb sangat lambat. Ini berkaitan dengan besarnya struktur tiga dimensi Hb. Struktur tersebut menyebabkan tidak dapat diaksesnya pusat redoks yang terletak dibagian dalam protein. Oleh karena itu transfer elektron langsung antara Hb dan elektroda sangat sulit (Scheller *et al.*, 2005). Kecepatan transfer elektron antara Hb dan permukaan elektroda dapat dicapai dengan menggunakan elektromediator (Rusling *et al.*, 1993; Gu *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2005 dan Zhang *et al.*, 2005). Elektrokimia Hb tergantung bagaimana proses imobilisasi. Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan *materials* yang dapat digunakan untuk imobilisasi diantaranya yaitu *poly-3-hydroxybutyrate membrane* (Ma *et al.*, 2005), nanopartikel emas yang ditempelkan pada elektroda *glassy karbon* (Zhang *et al.*, 2005), nanopartikel zirkonium dioksida (Liu *et al.*, 2004), lapisan hidrogel *agarose* (Liu *et al.*, 2004), dan elektroda pasta karbon (Wang *et al.*, 2004).

2.6 Bioensor akrilamida dan interaksinya dengan hemoglobin

Biosensor AA bertujuan untuk mendeteksi senyawa AA dengan cara memonitor arus yang dihasilkan dari reaksi Hb dengan AA, sehingga terbentuk adisi Hb-akrilamida yang dapat merubah elektroaktivitas Hb. Dimana semakin tinggi konsentrasi adisi Hb-AA, semakin menurunkan puncak arus *cyclic voltammogram* (CV). Terjadinya proses penurunan arus ini diartikan sebagai sinyal analitikal dan menjadi dasar yang sangat selektif dan sensitif pada suatu biosensor AA amperometri (Batra *et al.*, 2016). Adisi terbentuk sebagai hasil dari reaksi antara kelompok α -NH₂ dari N-terminal valin pada Hb dengan AA, diukur sebagai [N-(2-carbamoylethyl)-L-valin] seperti pada Gambar 2.8 (Friedman, 2003).



Gambar 2. 8 Reaksi *adduct* Hb-akrilamida (Garabagiu *et al.*, 2011).

Secara umum, tujuannya adalah menggabungkan AA dengan Hb aktif- redoks (Hb-Fe(III) menjadi Fe(II)) sehingga membentuk adisi, yang memperbesar jarak antara pusat redoks Hb dan elektroda, sehingga menekan arus redoks (Freedman *et al.*, 2003 dan Lineback *et al.*, 2012). Efisiensi konjugasi antara AA, Hb dan respon redoks elektrokimia menjadikan metode dengan sensitivitas tinggi, selektivitas tinggi, respon cepat dan range linier lebar (Stobiecka *et al.*, 2007).

Biosensor AA sendiri terdiri dari dua sistem yaitu Hb sebagai sistem biologi dan sistem elektroda. Dimana banyak penelitian yang telah dilakukan terpusat pada elektroda yang akan dimodifikasi Hb. Berikut adalah beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk deteksi AA yaitu modifikasi elektroda amperometri menggunakan nanopartikel emas dan hemoglobin dengan deteksi limit 4×10^{-8} M (Garabagiu *et al.*, 2011), penggunaan elektroda *glassy* karbon dimodifikasi dengan *single walled carbon nanotubes* (SWCNTs)/Hb untuk deteksi AA dalam keripik kentang 10^{-9} M (Krajewska *et al.*, 2008), imobilisasi Hb pada *multiwalled* karbon nanotube/ tembaga nanopartikel/ lapisan polianilin hibrida dengan deteksi limit 0,2 nM (Batra *et al.*, 2013), penggunaan elektroda pasta karbon dimodifikasi Hb dengan deteksi limit $1,2 \times 10^{-10}$ M (Stobiecka *et al.*, 2006), imobilisasi Hb pada *multiwalled* carbon nanotubes (cMWCNT) dan nanopartikel besi oksida ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) dielektrodeposisi pada elektroda Au melalui lapisan kitosan (CHIT) dengan limit deteksi 0,02 nM (Batra *et al.*, 2013).

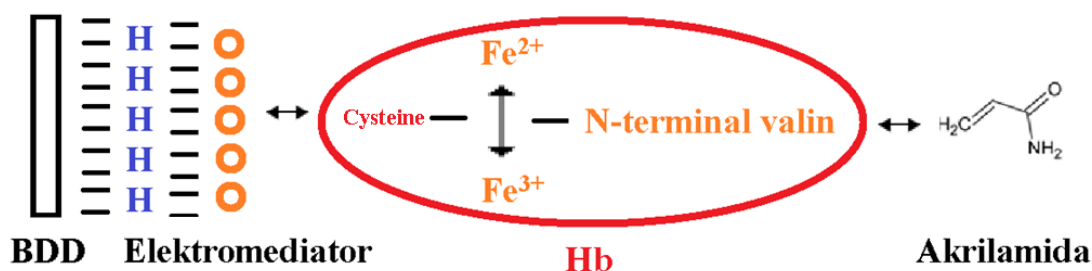
2.7 Peningkatan stabilitas nanopartikel logam pada permukaan BDD.

Nanomaterial, khususnya karbon material dan nanopartikel logam seperti Au, Ag, dan Pt dan diketahui memiliki aplikasi yang sangat luas sebagai modifikasi elektroda sesuai ciri khas dari nanopartikel logam itu sendiri. Nanopartikel logam dapat digunakan sebagai mediator antara Hb dan elektroda untuk mempercepat transfer elektron sesuai konduktifitas elektrik unggul yang dimiliki nanopartikel logam, mengarah ke respon sinyal yang cepat (Dreye *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010; Mai *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012 dan Sun *et al.*, 2013).

Dari sekian banyak penelitian yang telah dilakukan permasalahan yang dihadapi cenderung sama yaitu pada efisiensi imobilisasi Hb pada elektroda, termasuk loading dan

aktifitas Hb dan pengaruh transfer elektron membutuhkan perbaikan sehingga sensitifitas dan kesetabilan yang dihasilkan dari biosensor AA tinggi (Hu *et al.*, 2015). Pada sensor AA menggunakan Hb, ada dua hal penting yang perlu diperhatikan, yaitu imobilisasi Hb yang efisien dan transfer elektron pada permukaan elektroda kerja. Hal tersebut dikarenakan, pusat redoks Hb terletak didalam rantai polipeptida, sehingga mencegah transfer elektron (Sun *et al.*, 2013). Sementara itu, Hb diimobilisasi seharusnya disediakan dalam jumlah yang lebih besar sebagai sites adduct AA sehingga meningkatkan pembacaan sinyal. Karena itu, bahan dan metode baru yang dapat meningkatkan imobilisasi dan transfer elektron Hb sangat dibutuhkan.

Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan terlebih dahulu peningkatan kestabilan dari elektoda yang nantinya akan diimobilisasi Hb seperti skema pada Gambar 2.9.

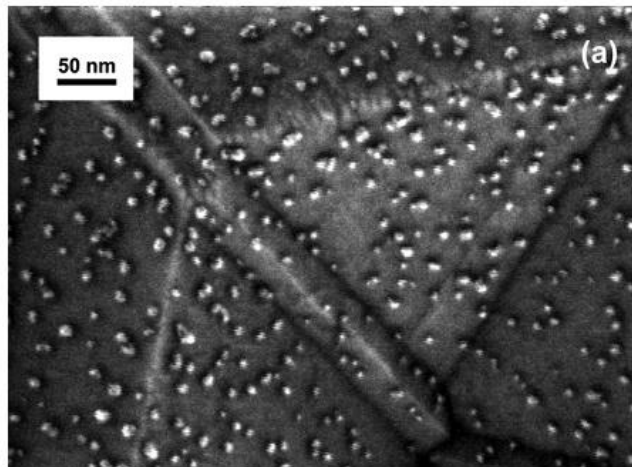


Gambar 2. 9 Skema reaksi yang terlibat dalam pembentukan elektroda Hb/Pt/BDD

Deposisi partikel platina (Pt) menggunakan metode elektrokimia sering tidak homogen dan memiliki stabilitas rendah pada permukaan elektroda BDD. Masalah ini terpecahkan dalam penelitian sebelumnya dengan menerapkan dua langkah deposisi (Gao *et al.*, 2013). Langkah pertama sintesis *wet chemically seeding* nanopartikel Pt, penyebaran butiran ini homogen pada permukaan BDD dengan ukuran diameter sekitar 15 nm dan Deposisi elektrokimia pada potensial konstan dilakukan ketika butiran Pt tumbuh dengan cepat.

Pada penelitian sebelumnya ukuran nanopartikel Pt dikontrol dengan *consumsed charger* selama proses deposisi elektrokimia. Homogenitas, variasi ukuran, aktivitas dan

stabilitas nanopartikel Pt pada permukaan BDD ini diamati dengan SEM seperti pada Gambar 2.10. Simulasi elektrokimia pertumbuhan cepat penanaman Pt sama seperti yang dilakukan deposisi elektrokimia nanopartikel Pt pada permukaan BDD, mengungkapkan proses nukleasi yang berbeda. Metode yang diusulkan oleh Gao *et al*, 2013 memberikan harapan untuk deposisi katalis (elektromediator) jenis lain pada elektroda yang berbeda.



Gambar 2. 10 Contoh hasil SEM penyebaran partikel Pt pada elektroda BDD dengan metode Gao (Gao et al., 2013)

Untuk rancangan sistem katalik Pt-NP/BDD, metode deposisi elektrokimia sering digunakan (Brulle et al, 2011; Lu et al, 2011; Wang et al, 2003; Hu et al, 2009; Hu et al, 2010; Aricò et al, 1995). Reduksi elektrokimia dari prekursor Pt (seperti K_2PtCl_6) dalam larutan dideposisi pada permukaan BDD. Tingkat deposisi dan jumlah partikel Pt meningkat sampai potensial yang diterapkan untuk reduksi dan *consumed charger* selama proses deposisi. Partikel Pt dengan perbedaan morfologi (ukuran, densitas, keseragaman) dapat dideposisi. Namun interaksi antara partikel Pt dan permukaan BDD cukup lemah (Bennett et al, 2005 dan Hu et al, 2010), diperoleh stabilitas yang rendah dari partikel Pt pada permukaan BDD.

Aliran air yang kuat atau pencucian partikel Pt terd deposisi sampel dalam sebuah *ultrasonic bath* dengan mudah menghilangkan hampir semua partikel Pt dari permukaan BDD. Bahkan, penyebaran partikel Pt pada permukaan BDD tidak homogen, hal ini

disebabkan dari sifat elektronik yang tidak seragam dari elektroda BDD (Kriele et al, 2011).

Untuk mengatasi perbedaan elektronik pada permukaan BDD, Hutton et al, 2009 menerapkan *suitable high driving potential* selama proses elektrodposisi dan berhasil memperoleh distribusi yang mendekati/hampir homogen dari partikel pada *lever monometer*. Namun, deposisi tidak dapat dikontrol karena proses deposisi ini sangat cepat dalam waktu deposisi singkat. Gao et al, 2013 menggunakan cara alternatif yang sering digunakan untuk deposit katalis logam pada substrat yaitu dengan pendekatan sintesis *wet chemical seeding*, sebagai contoh, penerapan deposit partikel Pt pada poros matriks BDD (Kim et al, 2006; La-Torre-Riveros et al, 2011 dan La-Torre-Riveros et al, 2012). Metode ini melibatkan pengikatan atau pembenihan dari prekursor logam untuk permukaan elektroda BDD dengan cara adsorpsi fisik atau ikatan kimia, dan ketika reduksi kimia dari prekursor logam masuk ke dalam logam dengan reduktan (NaBH_4) terpecah dalam larutan, sehingga partikel dapat terdistribusi secara homogen pada permukaan matriks.

2.8 Kopi

Tingginya tingkat konsumsi kopi dibelahan dunia, menjadikan kopi sebagai salah satu sumber paparan harian akrilamida. Baru-baru ini, badan pengawasan makanan Eropa (EFSA) menyatakan bahwa kopi yang dipanggang dan makanan berbahan dasar kentang menjadi salah satu sumber utama pemapar akrilamida dalam tubuh manusia (Khan et al., 2018; Yashin et al., 2017; Guenther et al., 2007; Andrzejewski et al., 2004). Kandungan akrilamida dalam kopi sekitar (3–68 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) atau (ppb)), sedangkan Tolerable daily intake (TDI) atau asupan harian AA yang diperbolehkan adalah 40 $\mu\text{g/kg}$ (ppb) per hari untuk neurotoksisitas dan 2,6 $\mu\text{g/kg}$ (ppb) per hari untuk kanker, bahkan menurut Environmental Health Hazard Assesment (OEAHHA), salah satu divisi EPA yang berlokasi di California, Amerika Serikat telah menetapkan bahwa 0,2 $\mu\text{g/Kg}$ (ppb) hari akrilamida tidak bersifat karsinogenik (Khan et al., 2018; Yashin et al., 2017; Guenther et al., 2007; Andrzejewski et al., 2004).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai dampak AA bagi kesehatan diantaranya kanker prostat (Larrson et al., 2009; Wilson et al., 2009; Wilson et al., 2012;

Miller et al., 2013), kanker pankreas (Pelucchi et al., 2011; Obón-Santacana et al., 2013), kanker payudara (Olesen et al., 2008; Pedersen et al., 2010; Burley et al., 2010), kanker esofagus (Lin et al., 2011), kanker ovarium (Wilson et al., 2010), kanker otak (Wilson et al., 2009 dan Hogervorst et al., 2010). Karena alasan tersebut maka, pada penelitian ini digunakan sampel Kopi Luwak Toraja sebagai sampel yang akan dideteksi kandungan senyawa akrilamida.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gelas kimia (ukuran 5, 10, 50, 100 mL), labu ukur (ukuran 5, 10 mL), botol timbang, corong, pipet tetes, pipet ukur (ukuran 1, 5, 10 mL), gelas ukur (ukuran 5, 10, 25 mL), botol semprot, corong pisah, batang pengaduk, spatula, sel elektrokimia menggunakan Potensiostat EDAQ (laboratorium utama Bioelectrochemistry Universitas Indonesia) rangkaian terdiri dari Hb/Pt/BDD sebagai elektroda kerja, elektroda Ag/AgCl dalam KCl jenuh sebagai elektroda pembanding, platina spiral sebagai elektroda pendukung, pH meter. Peralatan karakteristik digunakan *ultrasonic probe* (VCX 130, *vibra cell*), *scanning electron microscope* dengan *energy dispersive X-ray spectroscopy* (SEM-EDX, EVO MA 10 Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jerman), *scanning electron microscope* dengan *energy dispersive spectroscopy* (SEM-EDS, JEOL JCM-6000), *X-ray photoelectron spectra* (XPS, JEOL JPS-9010TR), *X-Ray diffraction* (XRD, Bruker D8 Discover), dan Spektrum Raman direkam dengan Acton SP2500 (*Princeton Instruments*) dengan eksitasi pada 532 nm dari dioda laser hijau pada suhu ruang.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : BDD diperoleh dari Keio University Japan dengan spesifikasi template wafer silikon (1 0 0) dengan ketebalan silika BDD + 1mm / 1000 μm , kandungan boron / karbon 0,1%. $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dibeli dari bahan kimia WAKO Jepang. Human Hb H7379 dan akrilamida dibeli dari Sigma-Aldrich, H_2SO_4 , NaBH_4 , NaOH , H_2PtCl_6 , Buffer Asetat pH 4.8, 2-propanol, dan Aquabides.

3.2 Prosedur kerja

Dalam penelitian ini akan dilakukan beberapa prosedur kerja utama diantaranya yaitu :

1. Mempelajari karakteristik elektroda Pt/BDD sebelum dan setelah *electrochemical overgrowth of seeds*.
2. Mempelajari karakteristik elektroda Pt/BDD termodifikasi Hb

3. Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar.
4. Mengaplikasikan biosensor tersebut untuk deteksi sampel kopi yang mengandung akrilamida.

3.3 BDD

BDD diperoleh dari *Keio University* Japan dengan spesifikasi template *silicon wafer* (1 0 0) dengan ketebalan BDD + silica 1mm/1000 μm , 0,1 % kandungan boron/karbon. Sebelum digunakan BDD dicuci terlebih dahulu dengan cara disonikasi dengan 2-propanol selama 5 menit, kemudian dikeringkan lalu disonikasi lagi menggunakan aquabides selama 5 menit (Hoffmann *et al.*, 2010).

3.4 Proses preparasi Pt/BDD

Mula – mula 10 μL 1 M NaBH_4 dalam larutan 0,1 M NaOH ditetaskan diatas permukaan BDD agar NaBH_4 terserap, kemudian 40 μL larutan 1 mM H_2PtCl_6 ditetaskan diatas permukaan elektroda BDD yang telah diberi larutan NaBH_4 . Biarkan selama 24 jam kemudian dibersihkan dengan air dan dikeringkan dengan N_2 . Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali, sehingga menghasilkan partikel Pt yang sangat besar dengan cakupan luas permukaan yang tinggi. Proses ini disebut sebagai *wet chemical seeding*.

BDD yang telah ditanam (*seeding*) dengan Pt pada tahap *wet chemical seeding* kemudian dielektrodeposisi dengan 5 mL larutan 1 mM H_2PtCl_6 . Potensial yang digunakan -0,2 V (Gao *et al.*, 2013), sehingga diperoleh elektroda Pt/BDD.

Elektroda Pt/BDD kemudian di *rapid thermal annealing* (RTA) pada 700 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit dalam atmosfer N_2 . Pt/BDD yang telah diRTA kemudian *direfresh* dengan cara di CV dengan *range* -0,5 V dan 1,5 V, *scan rate* 200 mV/s untuk 100 siklus dalam larutan 0,1 M H_2SO_4 . Setelah itu, elektroda Pt/BDD yang telah di *refresh* kemudian diaktivasi dengan 5 mL larutan 1 mM H_2PtCl_6 pada potensial -0,2 V.

3.5 Karakteristik kestabilan dan aktivitas elektrokimia Pt pada BDD

3.5.1 Karakterisasi dengan menggunakan siklik voltametri

Pengukuran elektrokimia dilakukan dengan sel elektrokimia menggunakan Potensiostat EDAQ (laboratorium utama Bioelectrochemistry Universitas *Indonesia*) dan potentiostat (PGSTAT302N, Instrumen AUTOLAB). Sistem tiga elektroda digunakan dengan rangkaian terdiri dari BDD, Pt/BDD, Hb/Pt/BDD, Hb/Pt, dan Hb/BDD sebagai elektoda kerja, elektoda Ag/AgCl dalam KCl jenuh sebagai elektoda pembanding, platina spiral sebagai elektoda pendukung.

3.5.2 Karakterisasi dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Energy Dispersive X-Ray* (EDX)

Karakterisasi dengan SEM EDX dilakukan dengan alat EVO MA 10 Carl Zeiss Microscopy GmbH, German dan (SEM-EDS, JEOL JCM-6000). Elektroda BDD, Pt/BDD, Hb/Pt/BDD, Hb/Pt/BDD *wet chemical seeding*, Hb/Pt, dan Hb/BDD dikarakterisasi menggunakan SEM dengan cara merekatkan elektroda pada *carbontape* lalu dimasukkan kedalam bilik SEM untuk kemudian dikarakterisasi ukuran dan ketebalan kristal pada pembesaran 5000 dan 10000 kali pada percepatan tegangan 30 kV.

3.5.3 Karakterisasi dengan *X-Ray Photoelectron Spectra* (XPS)

Karakterisasi dengan XPS, JEOL JPS-9010TR dilakukan dengan cara memasukkan elektroda BDD dan Pt/BDD kedalam bilik XPS dengan merekatkannya pada sample holder dengan *carbon tape* untuk kemudian dikarakterisasi kandungan atom carbon dalam elektroda BDD dan rasio atom O terhadap C (O/C) dengan Al K α sebagai sumber eksitasi dan sudut deteksi 15 °C.

3.6 Preparasi elektroda Pt/Hb

Preparasi diawali pencucian elektroda BDD dengan cara disonikasi menggunakan isopropanol dan aquabides masing-masing selama 5 menit. Elektroda Pt disonikasi menggunakan isopropanol untuk menghilangkan pengotor nonpolar dan digunakan aquabides untuk menghilangkan pengotor yang polar. Elektroda yang telah disonikasi

kemudian ditetaskan dengan Hb yang dilarutkan dalam ABS 0.2 M pH 4,8 dengan variasi konsentrasi (0.05, 0.1 0.15, 0.02, 0.25, 0.3) mM di atas permukaan elektroda Pt. Elektroda Pt/Hb kemudian didiamkan selama 24 jam pada lemari pendingin. Tujuan perlakuan tersebut agar Hb menempel pada permukaan elektroda Pt serta dikondisikan pada suhu tersebut agar selama proses penempelan Hb tidak rusak dan tetap stabil.

Elektroda Pt/Hb kemudian dikarakterisasi menggunakan teknik siklik voltametri dengan membandingkan antara elektoda Pt dengan elektroda Pt/Hb sebagai elektroda kerja pada range potensial -500 sampai dengan 1500 mV/s dengan *scanrate* 100 mV/s. Pengukuran dilakukan dalam 0.2 M ABS pH 4.8. Gambar 4.11 menunjukkan hasil voltammogram dari elektroda Pt/Hb.

3.7 Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD

Elektroda yang telah dipreparasi pada bagian 3.4, selanjutnya ditetesi dengan menggunakan larutan hemoglobin yang terlarut dalam ABS pH 4.8 dengan konsentrasi sebesar 0.15 mM. Selanjutnya elektroda ditunggu hingga kering dan disimpan pada tempat yang kering dengan suhu 4 °C. Penetasan hemoglobin dilakukan sebanyak 1 kali.

Kemudian dilakukan *cyclic voltammetry* pada rentang potensial -0.2 V sampai 1.5 V dengan *scan rate* 100 mV/s menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD terhadap Ag/AgCl. Larutan elektrolit yang digunakan adalah 5 mL ABS 0.2 M pada pH 4.8.

3.8 Uji Kinerja Elektroda Hb/Pt/BDD pada Akrilamida Standar

Pengukuran elektrokimia dilakukan pada elektroda BDD, Pt/BDD, Hb/Pt/BDD, (Hb/Pt/BDD *wet chemical seeding*), Hb/Pt, dan Hb/BDD terhadap Ag/AgCl. Larutan elektrolit yang digunakan adalah 5 mL akrilamida berbagai konsentrasi (0.01; 0.02; 0.03; 0.04; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08; 0.09 dan 0.1) nM yang dilarutkan dalam 0.2 M ABS pH 4.8.

3.9 Aplikasi Elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi

Sampel kopi bubuk Luwak Toraja sebanyak 1 gr dilarutkan dalam 10 ml air mendidih. Setelah itu, dipisahkan menggunakan saringan, kemudian 1 ml filtrat kopi

diencerkan sampai 50 ml menggunakan larutan ABS. Larutan sampel kopi tersebut dapat digunakan untuk penentuan CV.

3.10 Perbandingan dengan metode lain (LCMS/MS)

Metode yang digunakan dalam penelitian ini dibandingkan dengan metode LCMS/MS tujuannya untuk mengetahui efisiensi penentuan AA dari kopi (Andrzejewski *et al.*, 2004; Delatour *et al.*, 2004; Granby and Fagt., 2004; Senyuva and Gökmen 2005; Aguas *et al.*, 2006). LCMS/MS yang digunakan yaitu LC (Shimadzu), MS (AB SCIEX), pompa (LC-20AD), Autosampler (SIL-20A HT), oven kolom (CTO-20AC), detector (MS/MS AB SCIEX 3200 Q TRAP), Fasa gerak digunakan asetonitril 70 % (B) dan air 30 % (A), kolom (PHENOMENEX AQUA 5u C18 125A (50 x 2 mm 5 micron). laju alir 0,4 mL min⁻¹, dan temperatur kolom dijaga konstan pada suhu 40 °C. analisis dilakukan dengan waktu retensi AA 2 menit.

Sampel kopi bubuk Luwak Toraja sebanyak 1 gr dilarutkan dalam 10 ml air mendidih. Setelah dingin, dipisahkan menggunakan saringan, kemudian 1 ml filtrat kopi diencerkan sampai 50 ml menggunakan larutan 0.1% asam format. Larutan sampel kopi tersebut kemudian dapat digunakan untuk penentuan AA menggunakan LCMS/MS.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Proses preparasi elektroda Pt/BDD

4.1.1 Proses elektrokimia *wet chemical seeding* Pt pada elektroda BDD

Pada proses elektrokimia *wet chemical seeding* Pt pada elektroda BDD, digunakan larutan NaBH_4 yang dilarutkan dalam NaOH . Penggunaan NaOH 0.1 M dalam pembuatan larutan 1 M NaBH_4 adalah agar NaBH_4 dapat lebih distabilkan dengan air karena berada dalam kondisi basa walaupun dengan konsentrasi yang rendah. Selain itu, larutan NaBH_4 dapat disimpan hingga 10 hari. Bila dibandingkan dengan NaBH_4 yang dilarutkan dengan aquabides secara langsung, selain tidak stabil akan menghasilkan reaksi eksoterm dan menghasilkan reaksi samping gas hidrogen yang sangat mudah terbakar (The Merck Index).

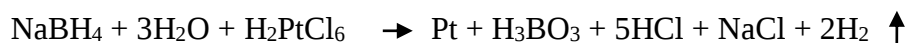
Larutan Pt 40 μL ditanam pada permukaan BDD yang telah ditetesi 10 μL larutan 1 M NaBH_4 dalam 0.1 M NaOH , setelah kering kemudian dicuci menggunakan aquabides dan dikeringkan dengan gas N_2 . Hal tersebut bertujuan untuk mengurangi kelebihan NaBH_4 yang telah ditetaskan diatas permukaan BDD (Gao *et al.*,2013). Pemilihan penggunaan reduktor NaBH_4 dalam proses penanaman Pt pada BDD berkaitan dengan sifat dari permukaan BDD itu sendiri. Dimana Permukaan elektroda BDD yang terterminasi-H menghasilkan sebuah muatan positif permukaan dipol C-H (Hoffman *et al*, 2010). Sedangkan pada NaBH_4 , fungsi utama NaBH_4 sebagai adsorpsi non polar adalah BH_4^- . Berikut adalah setengah reaksi dari NaBH_4 :



(CRC Handbook of chemistry and physica).

Berdasarkan sifat inilah, diharapkan gaya tarik dihasilkan antara BH_4^- pada NaBH_4 dengan H^+ pada permukaan BDD akan meningkatkan adsorpsi NaBH_4 pada permukaan BDD (Hoffmann *et al.*,2010).

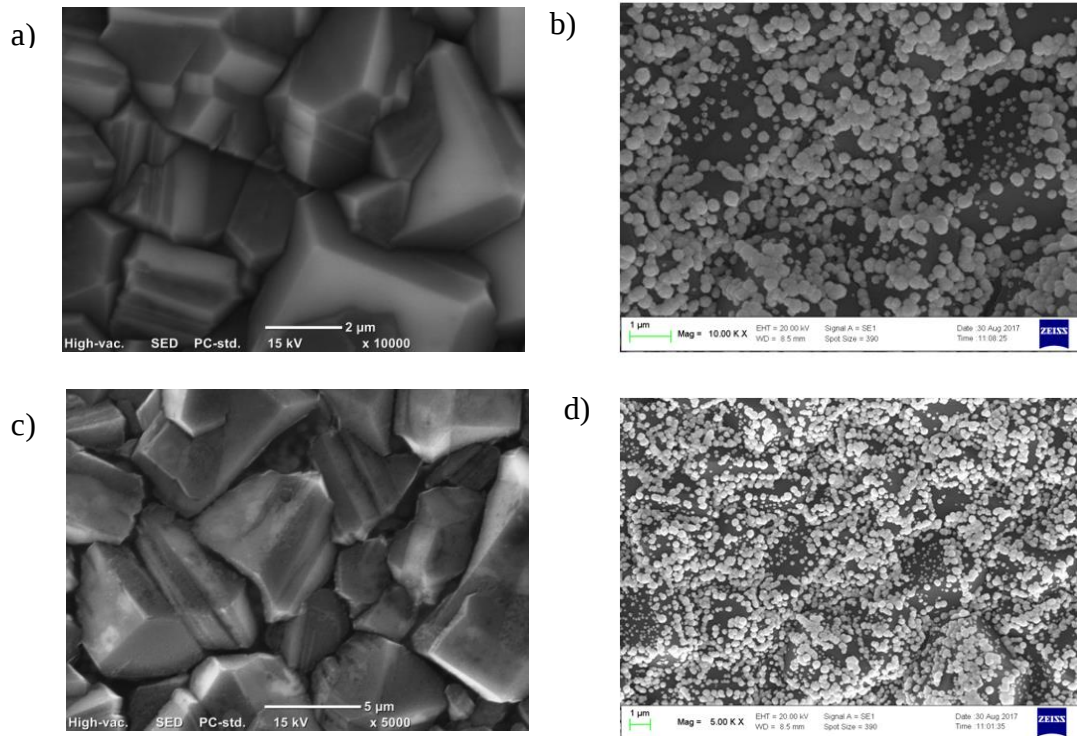
BDD yang telah tertanam Pt pada proses *wet chemical seeding* kemudian dielektrodeposisi dengan potensial -0.2 V selama (1, 2, 3, 4, 5) menit secara bertahap menggunakan 5 mL larutan 1 mM H_2PtCl_6 . Proses *wet chemical seeding* ini melibatkan pengikatan atau pembenihan dari prekursor logam Pt pada permukaan elektroda BDD dengan cara adsorpsi fisik atau ikatan kimia. Ketika reduksi kimia, prekursor logam Pt dengan reduktan (NaBH_4) terpecah. Dengan adanya elektrodeposisi Pt didistribusi secara homogen pada permukaan matriks. Penelitian ini menggabungkan proses *wet-chemical seeding* (penanaman) dengan metode elektrodeposisi, untuk menyeragamkan lapisan Pt pada permukaan BDD dengan ukuran dan kepadatan yang dapat dikontrol. Pembenihan Pt diperoleh dari adsorpsi reagen NaBH_4 yang bereaksi dengan Pt. Berikut adalah reaksi kimia antara NaBH_4 dengan H_2PtCl_6 :



(Kim *et al*, 2006; La-Torre-Riveros *et al*, 2011 dan La-Torre-Riveros *et al*, 2012).

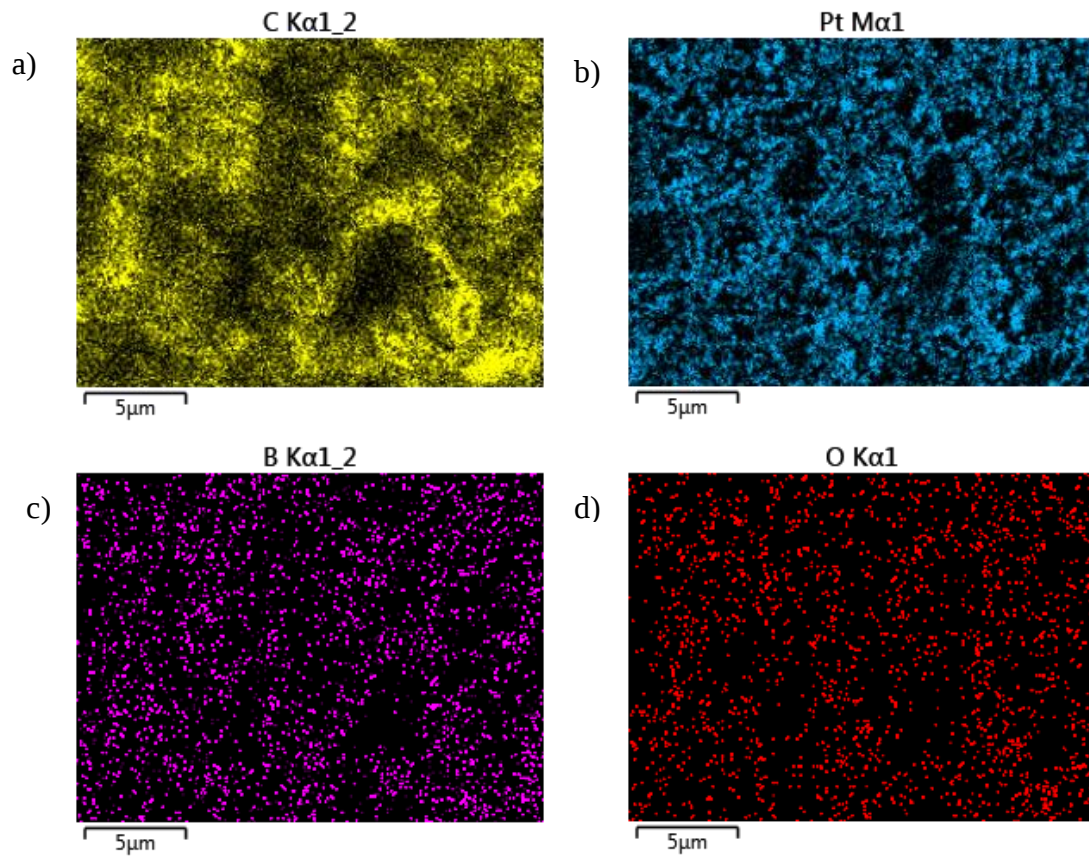
Pt/BDD yang telah mengalami proses penanaman dan elektrodeposisi kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM dengan perbesaran 10000 kali untuk mengetahui bagaimana Gambaran persebaran dari logam Pt diatas permukaan BDD. Gambar 4.1 merupakan tampilan dari hasil karakterisasi SEM.

Seperti terlihat pada Gambar 4.1. Hasil SEM menunjukkan Pt telah berhasil ditanam pada permukaan elektroda BDD. Selain itu pada hasil SEM dapat dilihat Pt terdistribusi secara homogen pada permukaan BDD dan ukuran Pt cenderung seragam. Hasil SEM diperkuat dengan karakterisasi menggunakan EDX untuk menunjukkan komposisi unsur-unsur yang terdapat di permukaan elektroda Pt/BDD. Gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan hasil *mapping* karakterisasi EDX pada elektoda Pt/BDD.

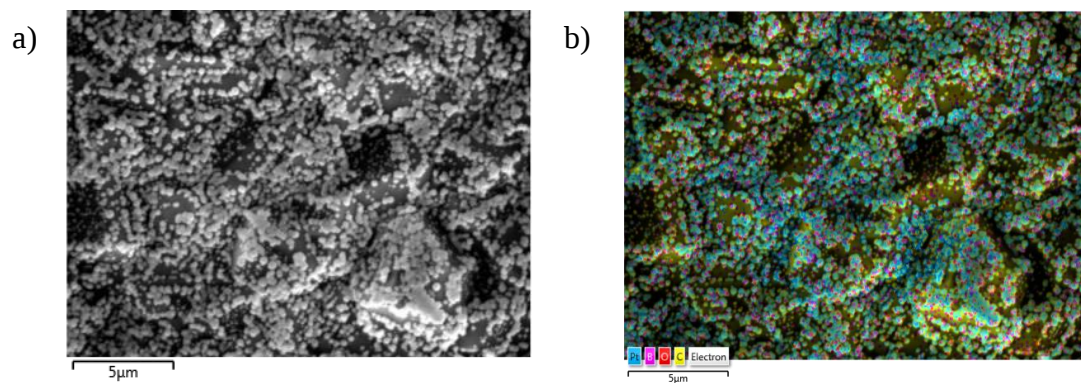


Gambar 4. 1 SEM (a,c) Bare BDD (b,d) Pt/BDD dengan perbesaran (10.000 dan 5000) X.

Karakterisasi menggunakan EDX menunjukkan komposisi unsur-unsur yang terdapat di permukaan elektroda Pt/BDD. Pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa terdapat unsur karbon 79,78 %, boron 5,12 % dan oksigen 0.62 %. Unsur-unsur tersebut merupakan komponen utama dari proses pembentukan BDD. Dimana karbon 79.78 % merupakan unsur utama dari pembentukan diamond yang tumbuh pada permukaan silikon. Oksigen 0.62 % diperoleh dari senyawa SiO_2 dalam pembentukan diamond. Boron 5.12 % diperoleh dari proses *dopping* permukaan diamond. Logam Pt sekitar 14,49 % yang diperoleh dari proses *wet chemical seeding* dan *electrochemical overgrowth of seeds*. Data tersebut juga membuktikan bahwa elektroda BDD telah terlapisi dengan Pt.



Gambar 4. 2 Mapping Pt/BDD terdiri dari unsur (a) Karbon (b) Platina (c) Boron (d) Oksigen



Gambar 4. 3 Elektroda Pt/BDD (a) SEM Pt/BDD (b) EDX Pt/BDD berlapis

Tabel 4. 1 Komposisi unsur Pt/BDD EDX

Element	Line Type	Apparent Concentration	K Ratio	Wt%	Wt% Sigma	Standard Label	Factory Standard	Standard Calibration Date
B	K Series	6.08	0.02444	5.12	0.23	BN	Yes	
C	K Series	28.35	0.28346	79.78	0.24	C Vit	Yes	
O	K Series	0.20	0.00067	0.62	0.08	SiO ₂	Yes	
Pt	M Series	11.37	0.11366	14.49	0.13	Pt	Yes	
Total :				100.00				

Pada Gambar 4.3 (b) menunjuk hasil *mapping* elektroda Pt/BDD, tujuannya untuk melihat letak dari unsur-unsur yang terdapat di permukaan elektroda Pt/BDD. Unsur karbon ditandai dengan warna kuning yang merupakan komponen utama dalam elektroda Pt/BDD, sedangkan unsur Pt yang ditandai dengan warna biru terlihat menyebar dengan rata diseluruh permukaan elektroda BDD. Unsur boron ditandai dengan warna ungu menunjukkan bahwa diamond *terdoped* oleh boron dan unsur oksigen ditandai dengan warna merah, oksigen pada elektroda BDD berasal dari SiO₂ pada proses pembuatan BDD.

4.1.2 Proses *electrochemical overgrowth of seeds Pt* pada elektroda BDD.

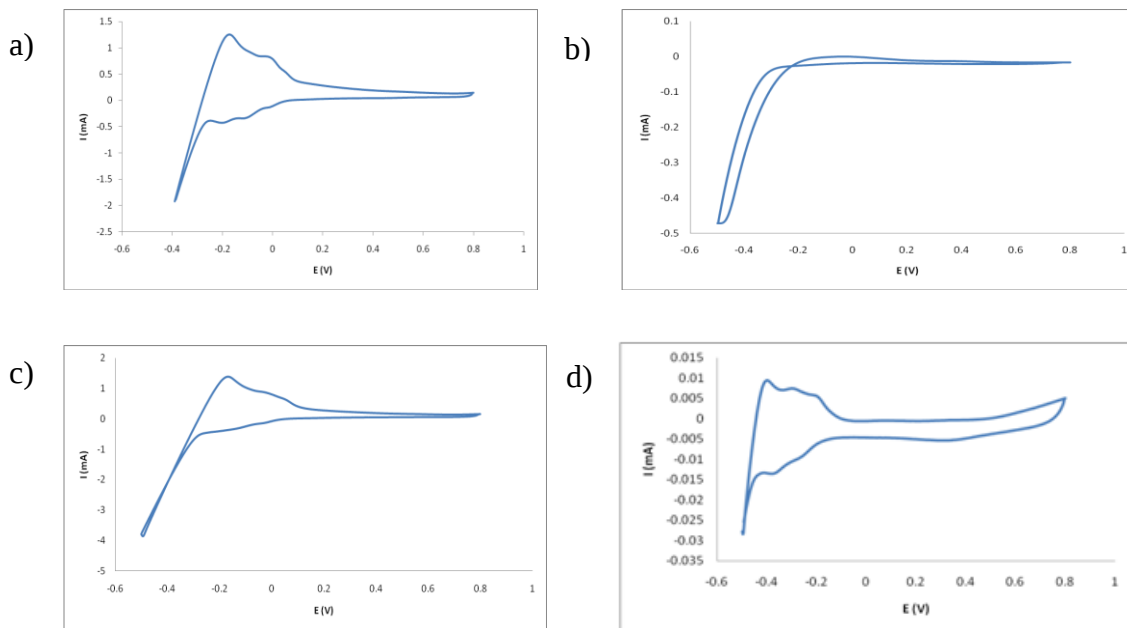
Pt yang telah ditanam pada elektroda BDD dan dielektrodeposisi diatas (sebelum di RTA) kemudian dipanaskan atau di RTA pada suhu 700 °C selama 5 menit dengan atmosfer N₂. Gas N₂ dialiri mulai dari kenaikan suhu (0 °C sampai tercapai suhu 700 °C) serta penurunan suhu sehingga sudah tidak panas lagi, dengan laju alir 150 cc. Tujuan dilakukannya pemanasan pada Pt/BDD adalah agar stabilitas Pt yang ada dipermukaan elektroda BDD meningkat. Selain itu, tujuan pengkondisian atmosfer N₂ diharapkan pada proses pemanasan dengan suhu tinggi yang dilakukan, tidak terbentuk oksida pada permukaan Pt/BDD yang dapat mengganggu proses pembuatan Pt/BDD. Proses RTA juga membantu untuk pembentukkan lapisan struktur *epitaxial lattice* antara permukaan BDD dengan Pt bagian bawah. Proses RTA ini dapat memperbaiki lapisan Pt pada BDD, dan pertumbuhan dengan suhu yang tinggi akan meningkatkan kualitas lapisan. Proses ini juga digunakan untuk memperbaiki morfologi permukaan dan struktur kristal internal dari

lapisan yang tumbuh, sehingga lapisan Pt yang ditanam pada permukaan BDD menjadi lebih tipis dan datar, serta lebih halus dan menutupi permukaan BDD dengan lebih merata.

Penggunaan suhu 700 °C dikarenakan lapisan *epitaxial lattice* lebih suka tumbuh pada BDD yang memiliki energi permukaan lebih tinggi dan pembentukan lapisan *passivation* yang aktif secara elektronik seperti menghasilkan ikatan dangling yang lebih banyak (Xu *et al.*, 2009). Semakin banyak ikatan dangling, maka semakin mudah bagi Pt untuk melekat pada permukaan BDD. BDD dengan energi permukaan rendah lebih stabil karena jumlah ikatan dangling (ikatan struktur cacat berupa tangan-tangan kosong) yang lebih rendah, yang membuatnya lebih sulit bagi Pt untuk melekat. Pada awal pertumbuhan lapisan *epitaxial lattice* terbentuk pulau-pulau akibat dari ketidakcocokan kisi antara Pt dengan BDD. Secara umum ketegangan kisi, energi permukaan dan antarmuka dari sistem memainkan peranan penting dalam pembentukan lapisan *epitaxial lattice* lapis demi lapis atau pembentukan pulau secara langsung.

Meskipun pada proses RTA menyediakan kemudahan dan efektif dalam meningkatkan kestabilan Pt pada permukaan BDD, namun pembentukan permukaan pasif (*passivation*) dari Pt setelah perlakuan temperatur tinggi nampak menjadi suatu masalah. Oleh karena itu, perbaikan elektrokimia pada permukaan elektroda BDD yang terlapisi Pt dilakukan dengan cara *refreshed activity* dimana elektroda Pt/BDD yang telah di RTA di CV secara berulang sebanyak 100 kali dalam larutan 0,1 M H₂SO₄ dengan *scanrate* 200 mV/s dan kemudian dilakukan pertumbuhan Pt lebih lanjut dengan cara elektrodposisi kembali. Pada Gambar 4.4 dapat dilihat voltammogram elektroda Pt/BDD sebelum dan setelah RTA.

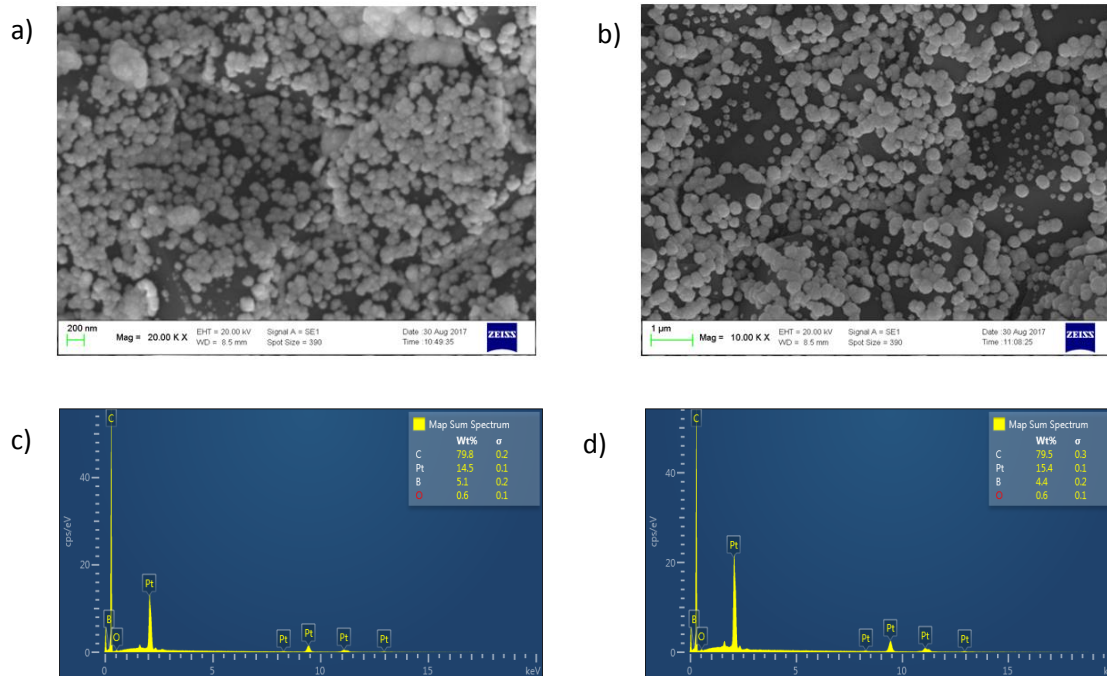
Sebelum RTA, dua pasang puncak terlihat jelas adsorpsi/desorpsi hidrogen, menunjukkan elektrokimia Pt aktif. Setelah RTA puncak ini menghilang dan hanya arus background BDD saja, hal ini menunjukkan kehilangan reaktivitas dari partikel Pt terhadap adsorpsi/desorpsi hidrogen. Kemungkinan hal ini disebabkan karena terbentuknya lapisan *passivation* karena karbon larut dalam Pt pada temperatur tinggi dan mengendap pada permukaan Pt selama *cooling down* (Hamilton *et al.*, 1978).



Gambar 4. 4 Voltammogram Pt/BDD (a) wetchemical seeding dan elektrodeposisi (b) RTA (c) refresh (d) aktivasi dalam 0.1 M H₂SO₄ scanrate 100 mV/s

Untuk memperoleh Pt aktif, pengaktifan kembali dilakukan untuk *Refreshed activity* Pt pada permukaan BDD dengan cara *mencycling* permukaan Pt/BDD dalam larutan 0.1 M H₂SO₄ dengan *scan rate* 200 mV/s 100 kali. Tujuannya yaitu untuk mengoksidasi dan mereduksi berulang kali permukaan Pt sehingga permukaan Pt/BDD menjadi *refresh* kembali (Yamamoto *et al*, 1979). Setelah diperoleh Pt pada permukaan elektroda BDD yang *refresh*, kemudian dilanjutkan dengan aktivasi menggunakan tegangan deposisi -0.2 V selama 15 menit secara bertahap. Tujuannya yaitu untuk menumbuhkan Pt pada permukaan BDD. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.4 (c), puncak adsorpsi/desorpsi muncul lagi setelah *dicycling*. Namun dibandingkan dengan Pt/BDD sebelum diRTA skala arus menurun. Ini mungkin disebabkan karena penghilangan lapisan karbon (lapisan *passivation*) yang menutupi permukaan nanopartikel Pt yang tidak sempurna yang terbentuk akibat proses RTA, sehingga mengarah kesemakin kecilnya area elektrokimia Pt

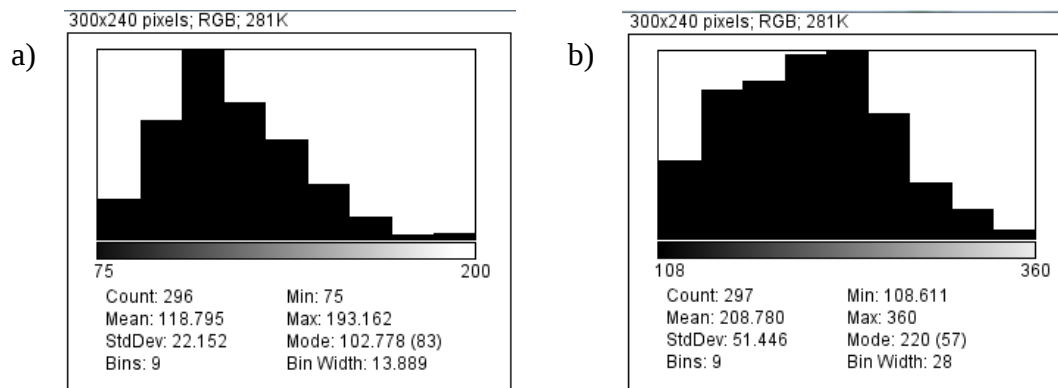
aktif. Selain itu proses pertumbuhan lebih lanjut dapat dilihat perbedaannya pada Gambar 4.5 dari hasil SEM elektroda Pt/BDD sebelum dan setelah RTA.



Gambar 4. 5 SEM-EDX Pt/BDD (a,c) sebelum RTA (b,d) setelah RTA

Hasil SEM menunjukkan dengan perbesaran yang sama yaitu perbesaran 10000 kali, dapat dilihat bahwa Pt yang ada dipermukaan BDD setelah dilakukan proses RTA dan pertumbuhan lebih lanjut dari Gambar SEM Pt terlihat lebih besar bila dibandingkan dengan Gambar SEM sebelum proses RTA.

Untuk lebih memperkuat data SEM mengenai distribusi Pt yang homogen serta telah terjadi pertumbuhan lebih lanjut maka dilakukan perhitungan pengukuran Pt pada permukaan elektroda BDD dari hasil SEM menggunakan image j walaupun tidak begitu akurat. Hasil pengukuran aplikasi image j diperoleh dalam bentuk histogram pada Gambar 4.6 dibawah ini.



Gambar 4. 6 Histogram Pt/BDD (a) sebelum RTA (b) setelah RTA

Dari data histogram Pt/BDD pada Gambar 4.6 (a) sebelum RTA ukuran rata-rata Pt adalah 118,7 nm sedangkan setelah RTA pada Gambar (b) diperoleh ukuran rata-rata Pt pada permukaan elektroda BDD adalah 208,7 nm. Ini membuktikan bahwa Pt pada permukaan elektroda telah mengalami pertumbuhan lanjut dengan ukuran 208,7 nm. Selain itu, hasil SEM-EDX ini juga menunjukkan bahwa Pt telah berhasil dimodifikasi pada permukaan BDD dengan kondisi preparasi yang dirangkum pada Tabel 4.2.

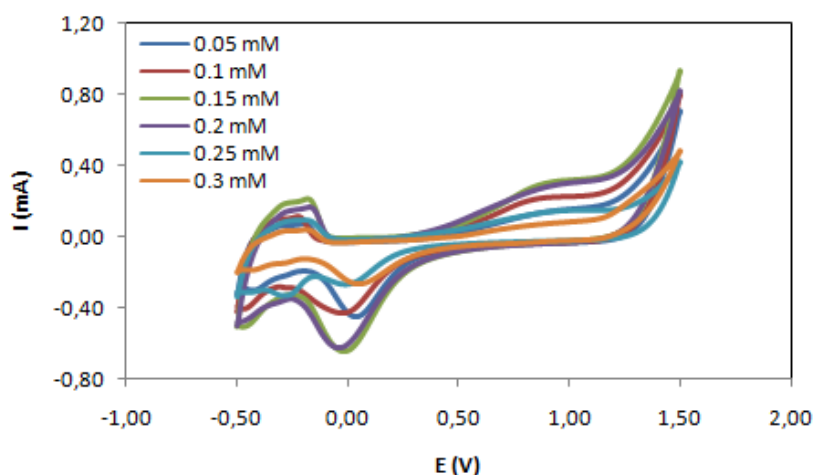
Tabel 4. 2 Kondisi preparasi elektroda Pt/BDD

Parameter	Nilai	
	Pt/BDD metode Gao	Pt/BDD
Konsentrasi Pt	1 mM	1 mM
Scan rate	100 mV/s	100 mV/s
Voltase deposisi	-0,2 V	-0,2 V
Volume larutan Pt	-	40 μ L
Volume NaBH ₄	-	10 μ L
Waktu elektrodposisi	-	15 menit

4.2 Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD

Pt/BDD dengan tingkat stabilitas yang tinggi dan Pt terdistribusi secara homogen yang telah diperoleh, kemudian dilakukan preparasi dengan pelapisan larutan Hb *human lyophilized powder* pada permukaan elektroda Pt/BDD. Hb/Pt/BDD dipreparasi dengan cara

membuat variasi konsentrasi Hb yang akan ditempelkan pada elektroda Pt/BDD. variasi yang digunakan yaitu (0.005; 0.01; 0.15; 0.02; 0.25 dan 0.03) mM. Tujuannya untuk memperoleh konsentrasi Hb yang optimum pada elektroda Pt/BDD ini. Hasil voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD ditunjukkan pada Gambar 4.7 sebagai berikut :



Gambar 4. 7 Voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS pH 4,8 scanrate 100 mV/s

Gambar 4.7 menunjukkan pada konsentrasi (0.05, 0.01, 0.15) mM mengalami peningkatan. Namun pada konsentrasi 0.02 mM puncak arus oksidasi mulai turun bahkan pada konsentrasi 0.03 mM puncak arus oksidasi turun. Hal ini terjadi karena permukaan elektroaktif Pt tertutupi oleh Hb dengan konsentrasi yang lebih pekat, sehingga menurunkan puncak arus oksidasi dari Pt itu sendiri. Konsentrasi optimum Hb pada elektroda Hb/Pt/BDD adalah 0.15 mM. Kondisi tersebut ditentukan berdasarkan bentuk dari voltammogram elektroda Pt/BDD yang dimodifikasi Hb mengalami kenaikan puncak oksidasi arus tanpa menghilangkan sifat karakteristik voltammogram dari elektroda Pt/BDD. Modifikasi elektroda Pt/BDD menggunakan Hb dikarenakan Hb dapat membentuk ikatan adisi dengan akrilamida sehingga dapat digunakan sebagai sensor akrilamida. Akrilamida dengan hemoglobin membentuk reaksi adisi karena adanya interaksi antara gugus amino valin N-terminal dari struktur hemoglobin dengan molekul akrilamida (Friedman *et al.*, 2003 dan Krajewska *et al.*,

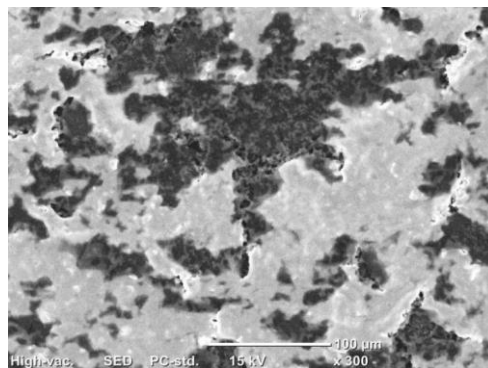
2008). Kondisi optimasi Hb pada permukaan elektroda Pt/BDD dirangkum pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil optimasi Hb pada elektroda Pt/BDD

Parameter	Nilai
pH	4,8
Konsentrasi optimum	0,15 mM
Konsentrasi ABS	0.2 M
Volume Hb	15 μ L
Waktu interaksi	24 jam
Suhu penyimpanan	4 $^{\circ}$ C

4.2.1 Karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD menggunakan SEM

Elektroda Hb/Pt/BDD optimum kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM. Hasil SEM elektroda Hb/Pt/BDD ditunjukkan pada Gambar 4.8 dibawah :



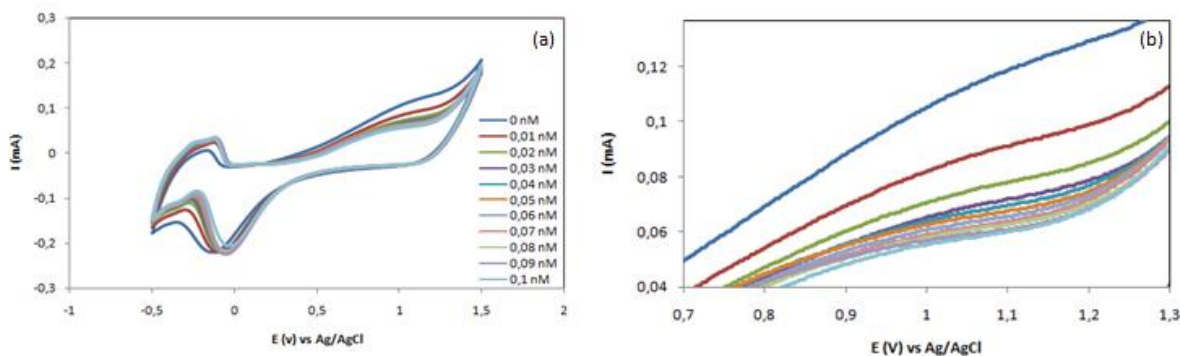
Gambar 4. 8 SEM elektroda Hb/Pt/BDD

Dari Gambar 4.8 hasil karakterisasi elektroda SEM Hb/Pt/BDD, dapat dilihat bahwa morfologi dari permukaan elektroda yang telah dipreparasi Hb ditandai fenomena fluoresensi yang bertanggung jawab atas kemungkinan keberadaan Hb pada permukaan elektroda Pt/BDD. Fenomena fluoresensi ini akibat adanya unsur besi yang ada didalam Hb (Mahato *et al.*, 2011; Baum *et al.*, 2012 dan Karsson *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil SEM dapat diketahui bahwa elektroda Pt/BDD berhasil dimodifikasi menggunakan Hb.

Ini membuktikan partikel Pt menahan struktur secara alami dari Hb, yang mana sesuai dengan literatur (Gu *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2004 dan Wang *et al.*, 2007) bahwa partikel inert bertindak sebagai mediator untuk meningkatkan proses transfer elektron. Ikatan antara partikel Pt dan Hb karena cystein dan lysin dari struktur protein berinteraksi dengan partikel Pt melalui gugus amino dan thiol dari asam amino (Yang *et al.*, 2008 dan Garabagiu *et al.*, 2010).

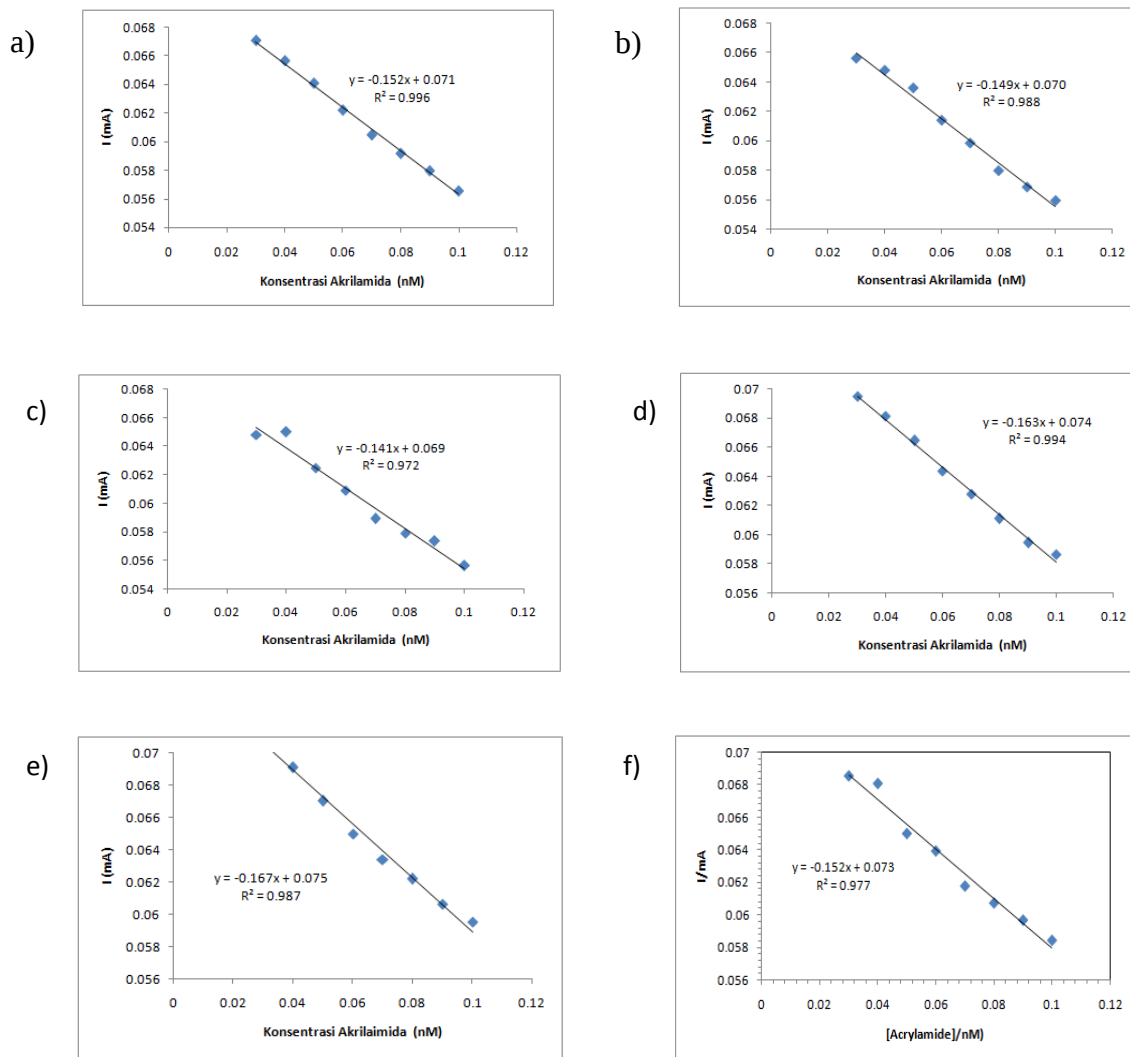
4.2.2 Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada akrilamida standar

Elektroda Hb/Pt/BDD selanjutnya di uji kinerjanya terhadap sampel akrilamida standar dengan berbagai variasi konsentrasi dengan menggunakan teknik siklik voltametri. Pengukuran dilakukan dari rentang potensial -0.5 samapi 1.5 V menggunakan elektrolit 0.2 M ABS yang mengandung akrilamida dengan variasi (0.01; 0.02; 0.03; 0.04; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08; 0.09; dan 0.1) nM.



Gambar 4. 9 (a) dan (b) voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar yang ditunjukkan pada Gambar 4.9 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi akrilamida semakin menurunkan puncak arus oksidasi. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi antara gugus amino N-terminal valin pada Hb dengan senyawa akrilamida membentuk *adduct* yang mempengaruhi penurunan puncak oksidasi Fe dalam Hb. (Friedman *et al.*, 2003 dan Krajewska *et al.*, 2008).



Gambar 4. 10 Grafik linearitas repeatability kinerja elektroda Hb/Pt/BDD yang pertama (A) (a,b,c) dan elektroda Hb/Pt/BDD ke-2 (B) (c,d,f) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar ditunjukkan pada Gambar 4.10 (a,b, dan c) dalam bentuk grafik linearitas. Hasil pengukuran senyawa akrilamida standar pada berbagai variasi konsentrasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD (A) yang pertama dengan nilai linearitas R^2 0.996. Elektroda Hb/Pt/BDD (A) kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke

dua dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas R^2 sebesar 0.988. Elektroda Hb/Pt/BDD (A) kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke tiga dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas sebesar R^2 0.972. Dari hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD (A) diperoleh LOD sebesar 0.021909 nM dengan standar deviasi 0.00111.

Sebagai konfirmasi hasil, elektroda Hb/Pt/BDD disiapkan lagi dengan cara yang sama (Hb/Pt/BDD (B)). Elektroda Hb/Pt/BDD (B) diuji kinerjanya pada sampel akrilamida standar dengan variasi konsentrasi yang sama seperti diatas. Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD (B) ditunjukkan pada Gambar 4.10 (d,e, dan f) berupa grafik linearitas. Pada hasil pengukuran yang pertama pada Gambar 4.10 (d) diperoleh nilai linearitas R^2 sebesar 0.994. Pada hasil pengukuran yang ke dua pada Gambar 4.10 (e) diperoleh nilai linearitas R^2 sebesar 0.987. Pada hasil pengukuran yang ke tiga pada Gambar 4.10 (f) diperoleh nilai linearitas R^2 sebesar 0.977. Dari hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD (B) diperoleh LOD sebesar 0.024794 dengan standar deviasi 0.001347.

Pada Gambar 4.10 ternyata diperoleh nilai linearitas R^2 mendekati satu, LOD yang sangat rendah, dan standar deviasi yang kecil. Pada Gambar 4.9 terjadi penurunan puncak arus oksidasi pada voltammogram dikarenakan terbentuknya adisi Hb-Akrilamida yang menyebabkan berubahnya elektroaktivitas Hb. Dengan kata lain semakin tinggi adisi Hb-akrilamida yang terbentuk pada permukaan elektroda Hb/Pt/BDD semakin menurunkan puncak arus siklik voltammogram (CV).

Elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida menggunakan CV. Siklik voltammogram yang ditampilkan pada Gambar 4.9 tampak mengalami perubahan intensitas arus dengan adanya konsentrasi rendah akrilamida. Perubahan ini karena ikatan antara akrilamida dan Hb yang terdeposit diatas permukaan elektroda BDD, dimana penurunan tingkat transfer elektron antara elektrolit dan elektroda termodifikasi. Hal ini dikarenakan pembentukan adisi Hb-akrilamida sehingga sifat elektroaktif Hb berubah dan hasilnya menurunkan puncak potensial CV. Hasil tersebut menunjukkan bahwa elektroda siap untuk di aplikasikan pada sampel akrilamida dalam makanan. Tabel 4.1 dibawah ini merupakan rangkuman dari hasil optimasi akrilamida standar

pada elektroda Hb/Pt/BDD. Pada Tabel 4.4 menunjukkan perbandingan elektroda Hb/Pt/BDD dengan elektroda lain untuk sensor akrilamida.

Tabel 4. 4 Hasil optimasi akrilamida standar pada elektroda Hb/Pt/BDD

Parameter	Nilai
pH	4.8
Waktu interaksi	33 detik
Nilai linearitas (R^2)	0,996
LOD	0.021 nM
Puncak arus oksidasi	+ 0.109
Puncak potensial oksidasi	+ 1.024

Tabel 4. 5 Perbandingan elektroda Hb/Pt/BDD dengan elektroda lain

Elektroda	LOD
	nM
Hb/Pt/BDD	0.021
GCE/SWCNT/Hb ¹⁾	1
ITO <i>glass</i> /GNP/Hb ²⁾	100
PG/PANI/CuNP/cMWCNT/Hb ³⁾	200
BDD/Au/Hb ⁴⁾	5143,6

(¹⁾Krajewska *et al.*, 2008, (²⁾ Garabagiu *et al.*, 2011, (³⁾Batra *et al.*, 2013, (⁴⁾Umam *et al.*, 2016)

Untuk sementara ini kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar memiliki nilai LOD yang paling rendah dengan kata lain batas deteksi pada akrilamida standar mencapai konsentrasi nano molar sehingga lebih sensitif bila dibandingkan dengan elektroda lain. Akan tetapi kinerja elektroda Hb/Pt/BDD ini belum diujikan pada sampel makanan yang mengandung akrilamida.

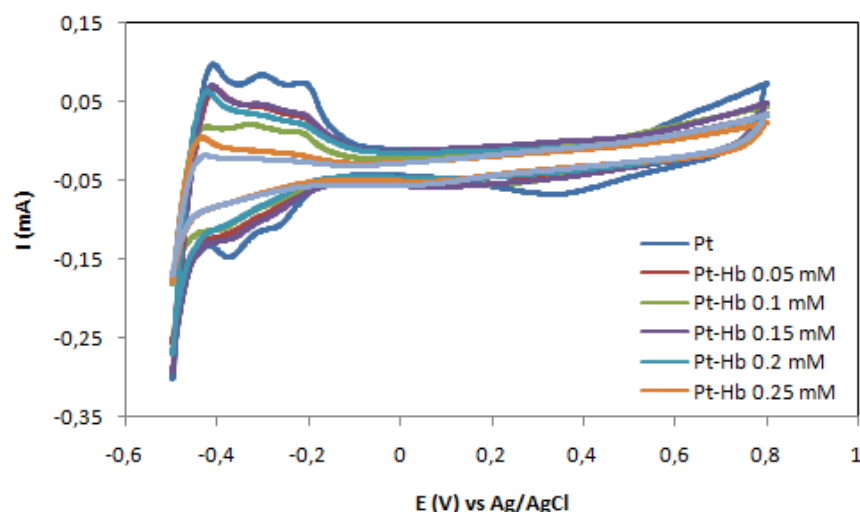
4.3 Elektroda platina termodifikasi Hb (Pt/Hb)

4.3.1 Preparasi elektroda Pt/Hb

Preparasi diawali dengan pencucian elektroda dengan cara disonikasi menggunakan isopropanol dan aquabides masing-masing selama 5 menit. Elektroda Pt disonikasi menggunakan isopropanol untuk menghilangkan pengotor nonpolar dan digunakan

aquabides untuk menghilangkan pengotor yang polar. Elektroda yang telah disonikasi kemudian ditetaskan dengan Hb yang dilarutkan dalam ABS 0.2 M pH 4,8 dengan variasi konsentrasi (0.05, 0.1 0.15, 0.02, 0.25, 0.3) mM di atas permukaan elektroda Pt. Elektroda Pt/Hb kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 4 °C. Tujuan perlakuan tersebut agar Hb menempel pada permukaan elektroda Pt serta dikondisikan pada suhu tersebut agar selama proses penempelan Hb tidak rusak dan tetap stabil.

Elektroda Pt/Hb kemudian dikarakterisasi menggunakan teknik siklik voltametri dengan membandingkan antara elektoda Pt dengan elektroda Pt/Hb sebagai elektroda kerja pada range potensial -500 sampai dengan 800 mV/s dengan *scanrate* 100 mV/s. Pengukuran dilakukan dalam 0.2 M ABS pH 4.8. Gambar 4.11 menunjukkan hasil voltammogram dari elektroda Pt/Hb.

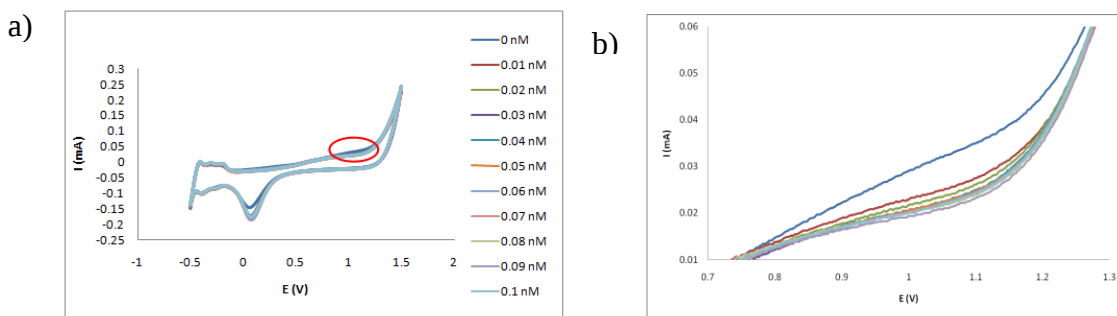


Gambar 4. 11 Voltammogram elektroda Pt dengan variasi konsentrasi Hb dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s

Pada Gambar 4.11 diperoleh kondisi konsentrasi Hb optimum adalah 0.15 mM. Kondisi tersebut ditentukan berdasarkan bentuk dari voltammogram elektroda Pt yang dimodifikasi Hb mengalami kenaikan puncak oksidasi arus tanpa menghilangkan sifat karakteristik voltammogram dari elektroda Pt. Elektoda Pt/Hb pada kondisi optimum yaitu 0.15 mM ini kemudian digunakan untuk mengukur variasi konsentrasi akrilamida standar.

4.3.2 Uji kinerja elektroda Pt/Hb pada sampel akrilamida standar

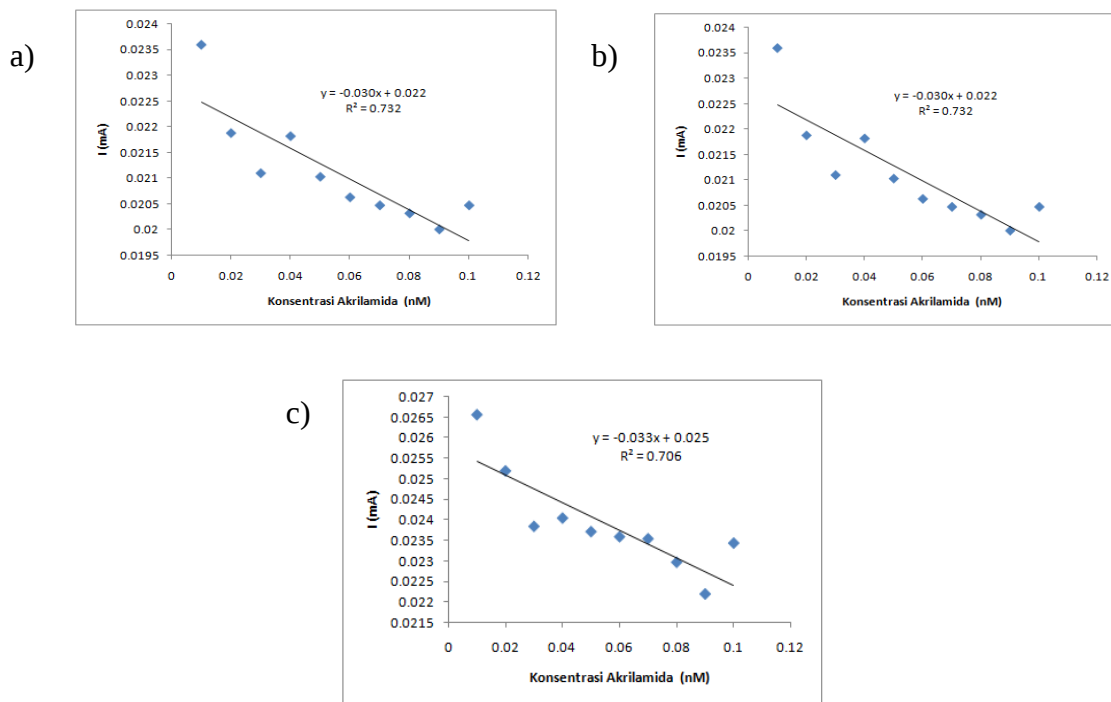
Elektroda Pt/Hb di uji kinerjanya terhadap sampel akrilamida standar dengan berbagai variasi konsentrasi dengan menggunakan teknik siklik voltametri untuk dibandingkan dengan elektroda Hb/Pt/BDD. Pengukuran dilakukan dari rentang potensial -0.5 samapi 1.5 V menggunakan elektrolit 0.2 M ABS yang mengandung akrilamida dengan variasi (0.01; 0.02; 0.03; 0.04; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08; 0.09; dan 0.1) nM.



Gambar 4. 12 Voltammogram elektroda Pt/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s (a) CVs Pt/Hb (b) perbesaran CVs Pt/Hb

Hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb pada sampel akrilamida standar yang ditunjukkan pada Gambar 4.12 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi akrilamida semakin menurunkan puncak arus oksidasi. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi antara gugus amino N-termianl valin dari struktur Hb dengan senyawa akrilamida (Friedman *et al.*, 2003 dan Krajewska *et al.*, 2008).

Penurunan puncak arus oksidasi pada voltammogram Gambar 4.12 dikarenakan terbentuknya adisi Hb-Akrilamida yang menyebabkan berubahnya elektroaktivitas Hb. Dengan kata lain semakin tinggi adisi Hb-akrilamida yang terbentuk pada permukaan elektroda Hb/Pt/BDD semakin menurunkan puncak arus siklik voltammogram (CV).



Gambar 4. 13 Grafik linearitas kinerja elektroda Pt/Hb yang pertama (a,b,c) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M scanrate 100mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb pada sampel akrilamida standar ditunjukkan pada Gambar 4.13 (a,b, dan c) dalam bentuk grafik linearitas. Hasil pengukuran senyawa akrilamida standar pada berbagai variasi konsentrasi menggunakan elektroda Pt/Hb yang pertama dengan nilai linearitas R^2 0.732. Elektroda Pt/Hb kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke dua dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas R^2 sebesar 0.706. Elektroda Pt/Hb kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke tiga dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas sebesar R^2 0.442. Dari hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb mengalami penurunan kelinearitasan yang sangat signifikan. Hal tersebut kemungkinan akibat Hb pada elektroda Pt tidak stabil, sehingga

ditiap pengukuran elektroda yang terlapis dengan Hb kemudian sedikit-demi sedikit terlepas dari permukaan elektroda Pt. kemungkinan kedua adalah elektroda Pt/Hb tidak dapat mendeteksi sampel akrilamida standar pada konsentrasi nano molar.

4.4 Proses preparasi elektroda Pt/BDD (pengulangan preparasi)

Pada penelitian ini jenis elektroda BDD yang digunakan adalah BDD dengan permukaan terminasi H. Pemahaman mengenai pemilihan BDD yang akan digunakan sebagai sensor menjadi penting karena berkaitan dengan :

1. Fungsionalisasi permukaan elektroda dapat mempengaruhi kinetika transfer elektron (ET) dari proses redoks *inner sphere*.
2. Polaritas hasil ikatan permukaan dalam interaksi elektrostatik dapat menaikkan atau menurunkan tingkat energi valensi (EVB) dan pita konduksi (ECB).
3. BDD dengan permukaan terminasi yang berbeda dapat menyediakan lapisan dipol berbeda pada permukaan. Permukaan BDD terminasi-H menyediakan lapisan dipol positif, ini berkaitan dengan proses *wet chemical seeding* nanopartikel Pt.

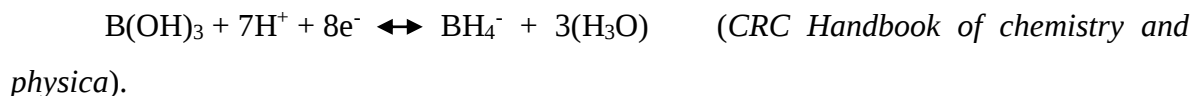
Selain itu penggunaan NaBH_4 sebagai reduktor dalam penelitian ini berhubungan dengan kekuatan adsorpsi NaBH_4 pada permukaan BDD terminasi-H. Penggunaan BDD yang menghasilkan permukaan dipol positif dikaitkan dengan NaBH_4 yang berperan sebagai reduktor, dimana fungsi utama adalah BH_4^- (dipol negatif). Dengan mempertimbangkan sifat ini maka dalam penelitian ini terjadi gaya tarik yang dapat meningkatkan adsorpsi dari NaBH_4 , sehingga modifikasi Pt/BDD dipilih dengan menggunakan NaBH_4 sebagai reduktor, ditambah dengan proses RTA terbukti dapat meningkatkan kestabilan partikel Pt yang terdeposit pada permukaan BDD. Hal tersebut dibuktikan dari hasil data karakterisasi yang diperoleh dalam penelitian ini seperti SEM-EDX, SEM-EDS, CV, XPS, Raman dan XRD,

4.4.1 Proses *wet chemical seeding* Pt pada elektroda BDD

Pada proses *wet chemical seeding* (penanaman) Pt pada elektroda BDD digunakan NaBH_4 yang dilarutkan dalam larutan NaOH. Penggunaan larutan NaOH 0.1 M dalam pembuatan larutan 1 M NaBH_4 bertujuan agar NaBH_4 dapat lebih distabilkan dengan air

karena berada dalam kondisi basa walaupun pada konsentrasi yang rendah. Selain itu, larutan NaBH_4 yang dilarutkan dalam larutan NaOH dapat disimpan hingga 10 hari. Bila dibandingkan dengan NaBH_4 yang dilarutkan dengan aquabides secara langsung, NaBH_4 dalam aquabides tidak stabil akan menghasilkan reaksi eksoterm dan menghasilkan reaksi samping gas hidrogen yang sangat mudah terbakar (The Merck Index).

Larutan Pt 40 μL ditanam pada permukaan BDD yang telah ditetesi 10 μL larutan 1 M NaBH_4 dalam 0.1 M NaOH , setelah kering kemudian dicuci menggunakan aquabides dan dikeringkan dengan gas N_2 . Hal tersebut bertujuan untuk mengurangi kelebihan NaBH_4 yang telah ditetaskan diatas permukaan BDD (Gao *et al.*,2013). Pemilihan penggunaan reduktor NaBH_4 dalam proses penanaman Pt pada BDD berkaitan dengan sifat dari permukaan BDD itu sendiri. Dimana Permukaan elektroda BDD yang terterminasi-H menghasilkan sebuah muatan positif permukaan dipol C-H (Hoffman *et al*, 2010). Disisi lain, fungsi utama NaBH_4 sebagai adsorpsi non polar adalah BH_4^- . Berikut adalah setengah reaksi dari NaBH_4 :

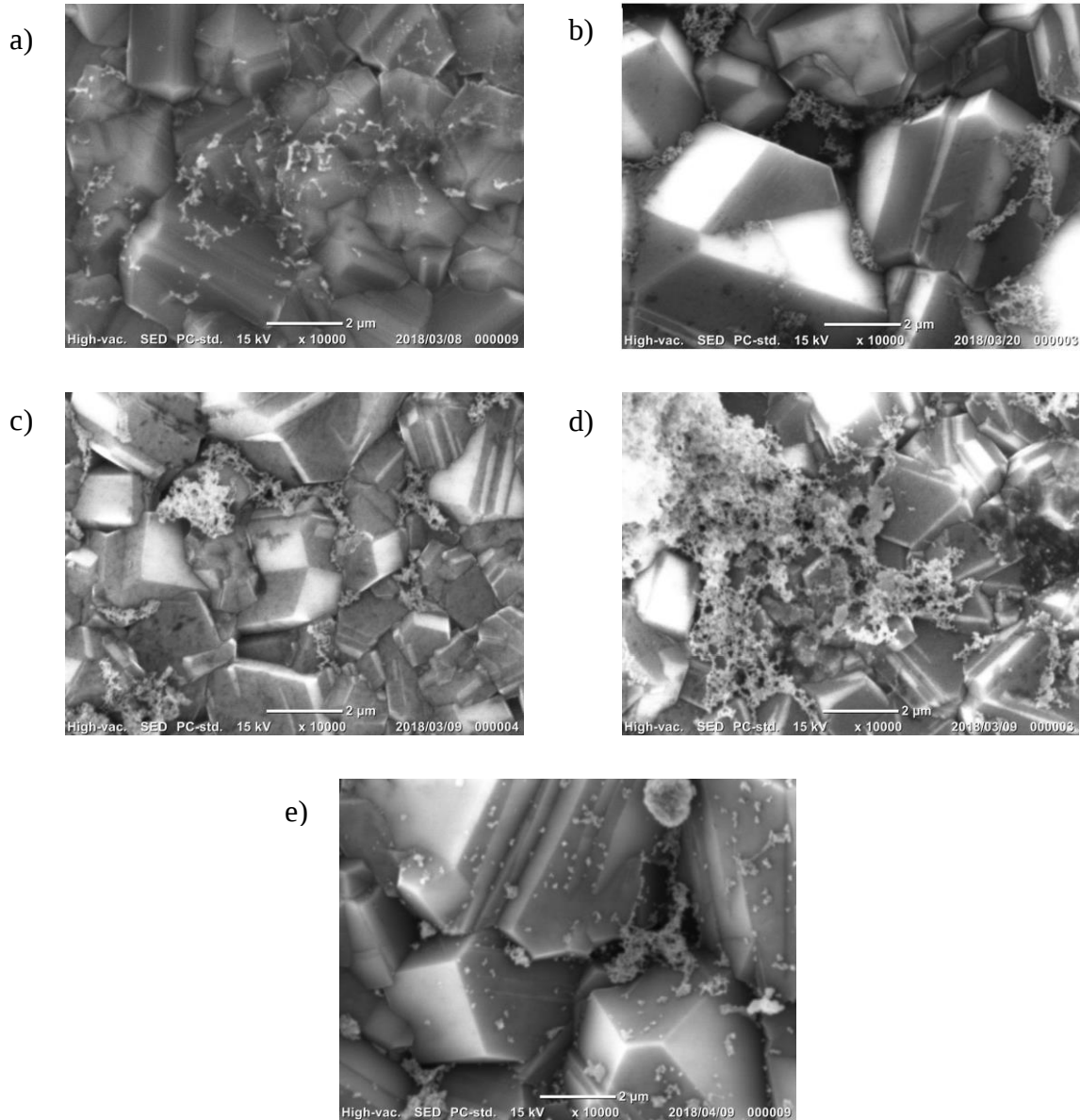


Berdasarkan sifat inilah, diharapkan gaya tarik dihasilkan dan akan meningkatkan adsorpsi NaBH_4 pada permukaan BDD yang cenderung bermuatan positif (Hoffmann *et al.*,2010).

Hasil karakterisasi SEM dengan berbagai variasi konsentrasi logam Pt pada Gambar 4.14 cenderung sama. Dimana masing-masing Gambar SEM menunjukkan kemiripan mengagregat, cenderung menggumpul disatu titik, tidak menyebar. Hal tersebut dikarenakan reduktor kuat (NaBH_4) bereaksi dengan larutan logam Pt secara cepat, sehingga tidak dapat dikontrol.

Proses ini melibatkan pengikatan atau pembenihan dari prekursor logam Pt terhadap permukaan elektroda dengan cara adsorpsi fisik atau ikatan kimia, dan ketika reduksi kimia dari prekursor logam Pt masuk kedalam logam Pt dengan reduktan NaBH_4 maka terpecah dalam larutan. Namun BH_4^- dari NaBH_4 yang terserap pada permukaan elektroda tidak dapat berdifusi jauh (menyebar). Hal tersebut terjadi karena nanopartikel Pt yang dihasilkan dari interaksi dengan NaBH_4 diikuti oleh ledakan atau perusakan atau pemecahan inti

secara cepat sehingga tidak dapat menyebar jauh, hal tersebut berdasarkan pada teori nukleasi klasik (CNT) (LaMer *et al* 1950).

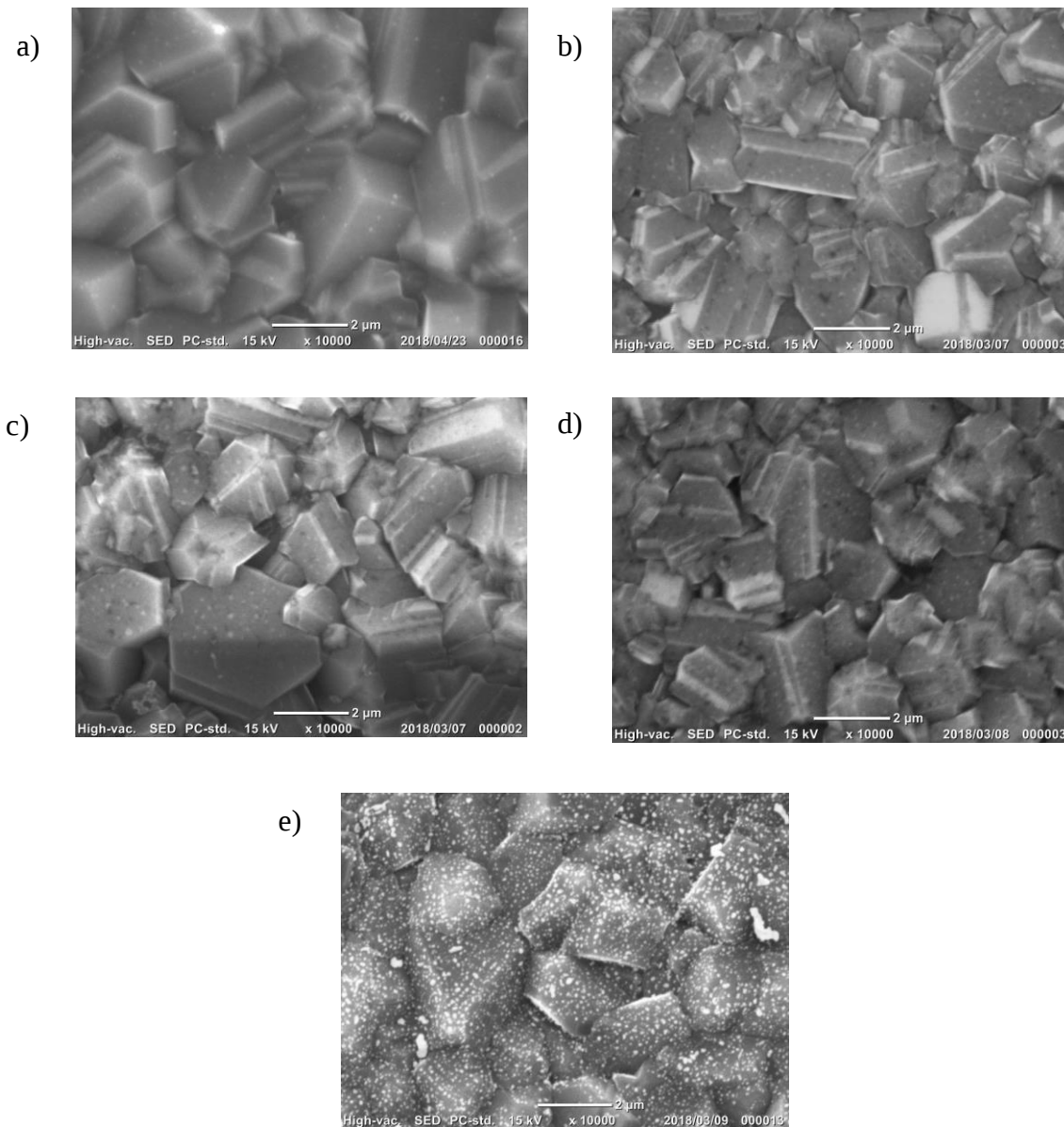


Gambar 4. 14 SEM Pt/BDD pada proses wet chemical seeding dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt (a) 0.01 mM (b) 0.05 mM (c) 0.1 mM (d) 0.5 mM (e) 1 mM

Walaupun hasil dari tahapan *wet chemical seeding* mengagregat, tahapan ini tetap dilakukan. Polikristalin pada permukaan elektroda BDD memiliki sifat elektronik yang berbeda-beda atau tidak homogen. Oleh karena itu, dilakukan tahapan *wet chemical seeding* dengan tujuan untuk memperoleh distribusi penyebaran Pt yang lebih luas dan homogen pada permukaan BDD.

4.4.2 Proses elektrodposisi Pt pada elektroda BDD

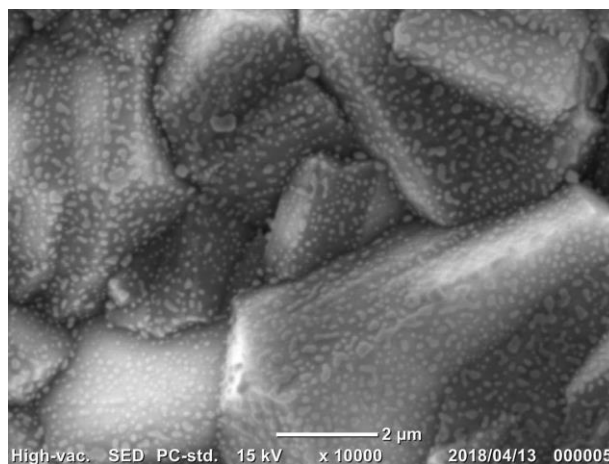
Pada proses *wet chemical seeding* deposisi tidak dapat dikontrol karena proses tersebut berlangsung sangat cepat dalam waktu deposisi yang singkat. Hasil *wet chemical seeding* masih berupa agregat pada permukaan BDD tidak homogen walaupun secara keseluruhan membentuk agregat namun dalam tahap tersebut keseragaman nanopartikel pada permukaan elektroda BDD juga diperoleh. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka dilakukan proses elektrodposisi yaitu dengan cara Pt yang telah diditanam pada permukaan BDD, kemudian dielektrodposisi menggunakan larutan Pt. Potensial yang digunakan -0.2 V dengan waktu bertahap (1,2,3,4,5) menit. Potensial -0,2 V dipilih sebagai potensial untuk elektrodposisi setelah mempertimbangkan hasil CV proses *wet chemical seeding* dalam larutan 0.1 M H₂SO₄. Proses elektrodposisi dilakukan dengan tujuan agar ukuran partikel dapat ditingkatkan serta distribusi nanopartikel Pt menjadi homogen pada permukaan BDD dengan ukuran yang lebih seragam tanpa menghancurkan keseragaman yang diperoleh pada tahap *wet chemical seeding* (Riveros *et al.*, 2012). Selain penyebaran nanopartikel Pt menjadi lebih homogen proses ini juga menghasilkan perbesaran nanopartikel Pt tanpa gumpalan deposit logam pt pada bulk substrat yaitu BDD. Dengan cara penggabungan proses ini sebenarnya density pembentukan inti kristal Pt ditingkatkan pada permukaan elektroda. Hal tersebut didukung dari pengukuran *image j* pada proses elektrodposisi pada Gambar 4.6 (a). Selain itu untuk lebih membuktikan bahwa proses elektrodposisi mampu merubah agglomerasi yang dihasilkan dalam proses *wet chemical seeding* maka dilakukan beberapa percobaan dengan konsentrasi berbeda. Gambar 4.15 menunjukkan bahwa partikel Pt tersebar dipermukaan elektroda BDD dengan luas permukaan penyebaran partikel Pt yang lebih luas dan homogen pada tahap elektrodposisi.



Gambar 4. 15 SEM Pt/BDD pada proses electrodeposisi dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt a) 0.01 mM b) 0.05 mM c) 0.1 mM d) 0.5 mM dan e) 1 mM

4.4.3 Proses *Rapid Thermal annealing* (RTA) Pt pada elektroda BDD

Deposisi Pt pada permukaan elektroda dengan penggabungan dua proses diatas yaitu (*wet chemical seeding*) Pt yang telah ditanam pada elektoda BDD dan electrodeposisi (sebelum di RTA) tidak stabil, mudah lepas (hilang) dengan aliran air yang deras atau proses pencucian dalam bak ultrasonik. Oleh karena itu, dilakukan proses pemanasan atau di RTA pada suhu 700 °C selama 5 menit dengan atmosfer N₂. Gas N₂ dialiri mulai dari kenaikan suhu dan penurunan suhu sehingga sudah tidak panas lagi, dengan laju alir 150 cc. Tujuan pemanas pada Pt/BDD adalah agar stabilitas Pt yang ada dipermukaan elektroda BDD meningkat. Selain itu, tujuan pengkondisian atmosfer N₂ diharapkan pada proses pemanasan dengan suhu tinggi yang dilakukan, tidak terbentuk oksida logam pada permukaan Pt/BDD yang dapat mengganggu proses pembuatan Pt/BDD. Proses RTA juga membantu untuk pembentukan struktur *epitaxial lattice* (tumbuh dikisi yang sama) antara permukaan BDD dengan Pt bagian bawah. Proses RTA ini dapat memperbaiki lapisan Pt pada BDD, dan pertumbuhan dengan suhu yang tinggi akan meningkatkan kualitas lapisan. Proses ini juga digunakan untuk memperbaiki morfologi permukaan dan struktur kristal internal dari lapisan yang tumbuh, sehingga lapisan Pt yang ditanam pada permukaan BDD menjadi lebih tipis dan datar, serta lebih halus dan menutupi permukaan BDD dengan lebih merata.



Gambar 4. 16 SEM elektroda Pt/BDD pada proses RTA dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt

Penggunaan suhu 700 °C dikarenakan lapisan *epitaxial lattice* lebih suka tumbuh pada BDD yang memiliki energi permukaan lebih tinggi dan pembentukan lapisan *passivation* yang aktif secara elektronik seperti menghasilkan ikatan dangling yang lebih banyak (Xu *et al.*, 2009). Semakin banyak ikatan dangling, maka semakin mudah bagi Pt untuk melekat pada permukaan BDD. BDD dengan energi permukaan rendah lebih stabil karena jumlah ikatan dangling (ikatan yang menjuntai atau cacat struktural berupa tangan-tangan kosong) yang lebih rendah, yang membuatnya lebih sulit bagi Pt untuk melekat. Pada awal pertumbuhan lapisan *epitaxial lattice* terbentuk pulau-pulau akibat dari ketidakcocokan kisi antara Pt dengan BDD. Secara umum ketegangan kisi, energi permukaan dan antarmuka dari sistem memainkan peranan penting dalam pembentukan lapisan *epitaxial lattice* lapis demi lapis atau pembentukan pulau (kisi) secara langsung.

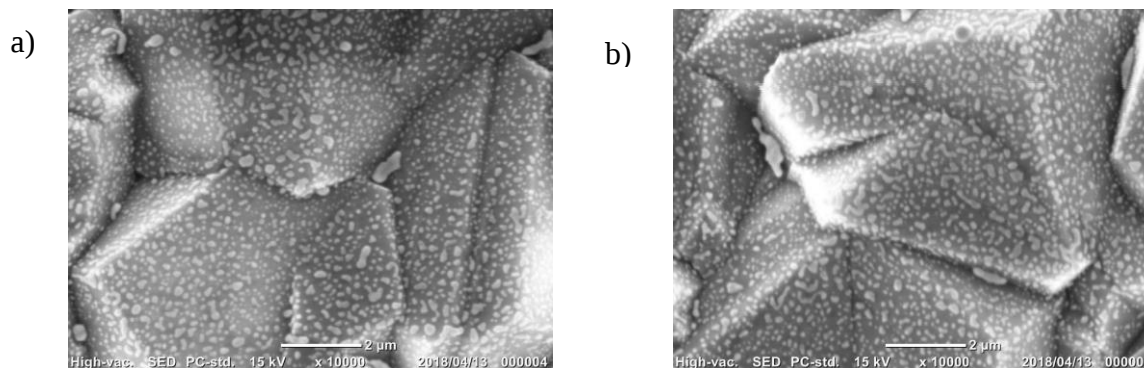
Namun pada proses ini karbon larut dalam platinum pada temperatur tinggi dan mengendap pada permukaan logam selama *cooling down* (Hamilton *et al.*, 1978). Sehingga permukaan elektroda BDD yang terdeposit Pt menjadi tidak aktif (terbentuk lapisan *passivation*) setelah perlakuan temperatur tinggi atau dengan kata lain Pt tumbuh dikisi yang sama dengan karbon sehingga mengakibatkan Pt/BDD menjadi tidak aktif.

4.4.4 Proses *Refresh* Pt pada elektroda BDD

Meskipun pada proses RTA menyediakan kemudahan dan efektif dalam stabilisasi Pt pada permukaan BDD, namun pembentukan permukaan pasif (*passivation*) dari Pt setelah perlakuan temperatur tinggi menjadi suatu masalah. Oleh karena itu, perbaikan elektrokimia pada permukaan elektroda BDD yang terlapsi Pt dilakukan dengan cara *refreshed* dimana elektroda Pt/BDD yang telah di RTA di CV secara berulang sebanyak 100 kali dalam larutan 0,1 M H₂SO₄ dengan *scanrate* 200 mV/s. Tujuannya yaitu untuk mengoksidasi dan reduksi berulang kali permukaan nanopartikel Pt pada elektroda BDD lalu permukaan menjadi *refresh*.

Namun pada proses ini, penghilangan lapisan pasif atau *refresh* tidak sempurna atau masih ada bagian permukaan elektroda yang pasif yang mengarah ke semakin kecilnya area elektrokimia Pt aktif. Hal tersebut ditunjukkan dari hasil voltamogram proses *refresh* pada Gambar 4.18 (e) bila dibandingkan dengan Gambar 4.18 (b dan c), dimana puncak

adsorpsi/desorpsi muncul kembali setelah di CV berulang kali namun tidak sebesar sebelum di RTA.



Gambar 4. 17 SEM Pt/BDD pada proses refresh dengan berbagai variasi konsentrasi larutan Pt

4.4.5 Proses Active Pt pada elektroda BDD

Untuk memperoleh Pt aktif yang baru dengan luas area yang besar, pengaktifan kembali dilakukan pada permukaan BDD terdeposit Pt melalui proses *active* (aktivasi). Proses aktivasi dilakukan dengan cara elektrodposisi kembali pada potensial -0.2 V selama 15 menit secara bertahap yaitu (1,2,3,4 dan 5) menit. Tujuannya yaitu untuk menumbuhkan Pt pada permukaan BDD yang telah terdeposit Pt dan dihasilkan perbaikan elektrokimia nanopartikel Pt. Dengan kata lain, proses ini dilakukan karena memberikan kemudahan dan efisiensi cara penyegaran kembali permukaan Pt setelah proses RTA. Hasil dari proses deposisi partikel Pt pada permukaan elektroda BDD dengan teknik baru ini memiliki stabilitas adsorpsi yang tinggi dan lebih menjanjikan dalam aplikasi menggunakan hemoglobin sebagai sensor akrilamida dalam waktu yang lama. Dibuktikan dari hasil karakterisasi Hb/Pt/BDD menggunakan SEM-EDS pada saat penggunaan berulang kali dan pencucian berulang kali hasil hasil karakterisasi Hb/Pt/BDD menggunakan SEM-EDS menunjukkan Pt pada permukaan BDD masih tetap ada di permukaan BDD.

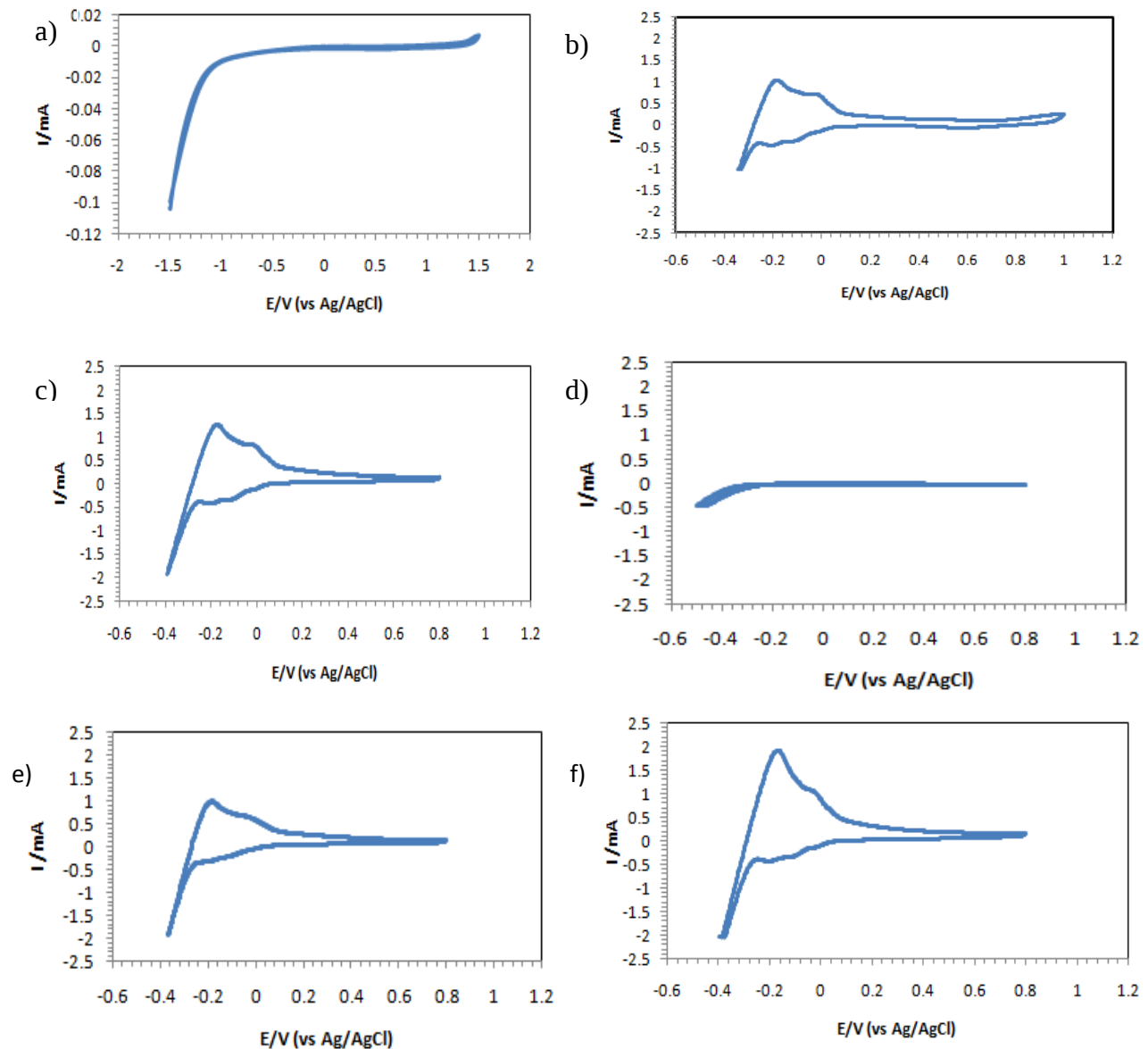
4.4.6 Karakterisasi elektroda Pt/BDD menggunakan siklik voltametri

Karakterisasi siklik voltametri dilakukan untuk mengetahui proses yang terjadi pada setiap tahap deposit nanopartikel Pt pada permukaan elektroda BDD. Pada Gambar 4.18 (a) hasil voltamogram menunjukkan bahwa sebelum dimodifikasi menggunakan logam Pt, *bare* BDD tidak memiliki puncak arus. Hasil voltamogram tersebut terlihat bahwa jendela pelarut sempit yang menyatakan bahwa BDD tersebut merupakan BDD dengan terminasi-H dengan tidak adanya puncak arus dapat disimpulkan bahwa elektroda BDD masih dalam bentuk SP³ (Macpherson, 2015). Pernyataan tersebut juga diperkuat dengan data hasil karakterisasi raman pada Gambar 4.21. Selain itu, hal tersebut sesuai dengan sumber-sumber penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa BDD terminasi H memiliki arus latar belakang yang rendah (Macpherson, 2015 and Einaga, 2010).

Pada Gambar 4.18 (b dan c) hasil voltamogram proses *wetchemical seeding* dan elektrokimia dapat dilihat dua pasang puncak terlihat jelas adsorpsi/desorpsi hidrogen, menunjukkan elektrokimia Pt aktif. Namun pada Gambar 4.18 (d) hasil voltamogram pada proses RTA puncak arus nanopartikel Pt ini menghilang dan hanya *background* arus BDD saja, hal ini menunjukkan partikel Pt kehilangan reaktivitas terhadap adsorpsi/desorpsi hidrogen. Kemungkinan hal ini disebabkan karena terbentuknya lapisan *passivation* karena karbon larut dalam Pt pada temperatur tinggi dan mengendap pada permukaan Pt selama *cooling down* (Hamilton *et al*, 1978).

Untuk memperoleh Pt aktif, pengaktifan kembali dilakukan *refresh* Pt pada permukaan BDD dengan cara siklik berulang kali permukaan Pt/BDD dalam larutan 0.1 M H₂SO₄ dengan *scan rate* 200 mV/s 100 kali. Tujuannya yaitu untuk mengoksidasi dan mereduksi berulang kali permukaan Pt sehingga permukaan Pt/BDD menjadi *refresh* kembali (Yamamoto *et al*, 1979). Setelah diperoleh Pt menunjukkan puncak oksidasi dan reduksi pada permukaan elektroda BDD yang *refresh* seperti pada Gambar 4.18 (e), kemudian dilanjutkan dengan proses aktivasi menggunakan tegangan deposisi -0.2 V selama 15 menit secara bertahap. Tujuannya yaitu untuk menumbuhkan Pt pada permukaan BDD. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.18 (c), puncak adsorpsi/desorpsi muncul lagi setelah proses *refresh*. Namun dibandingkan dengan Pt/BDD sebelum diRTA puncak arus menurun. Hal ini disebabkan pada tahap *refresh* proses penghilangan lapisan karbon (lapisan *passivation*) yang menutupi permukaan nanopartikel Pt tidak sempurna, sehingga

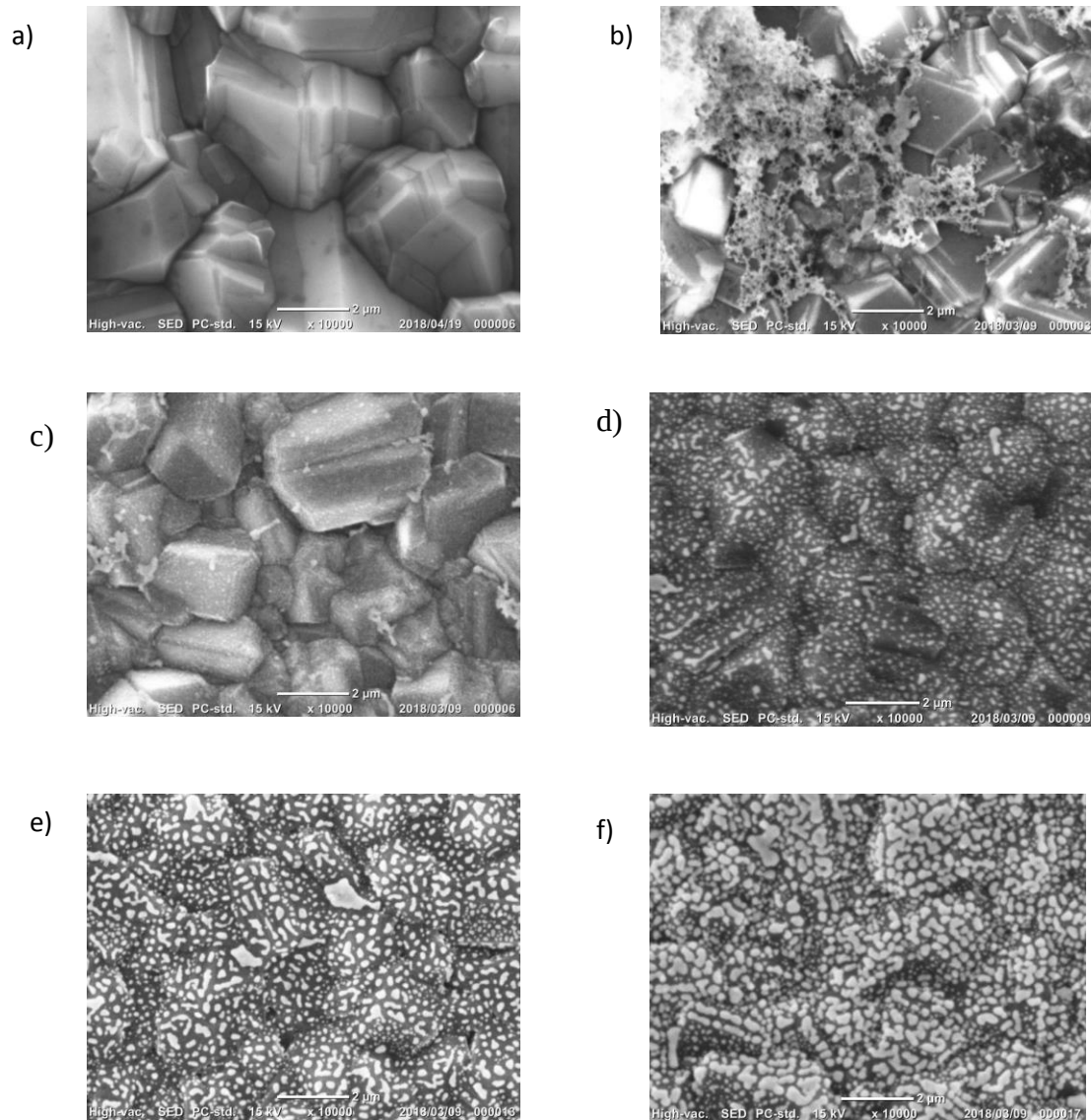
mengarah kesemakin kecilnya area elektrokimia Pt aktif. Selain itu proses pertumbuhan lebih lanjut dapat dilihat perbedaannya pada Gambar 4.5 dari hasil SEM elektroda Pt/BDD sebelum dan setelah RTA.



Gambar 4. 18 Voltammogram Pt/BDD (a) *bare BDD* (b) *wet chemical seeding* (c) elektrodeposisi (d) RTA (e) *refresh* (f) aktivasi dalam 0.1 M H₂SO₄ scanrate 100 mV/s

4.4.7 Karakterisasi elektroda Pt/BDD menggunakan SEM

Karakterisasi SEM dilakukan untuk mengetahui apa yang terjadi pada setiap tahap proses deposisi nanopartikel Pt pada permukaan elektroda BDD.



Gambar 4. 19 SEM (a) *Bare BDD* (b) *Pt/BDD wet chemical seeding* (c) *elektrodposisi* (d) *RTA* (e) *refresh* (f) *aktivasi* dengan perbesaran 10.000 X

Visualisasi permukaan pada saat ini paling baik diperoleh dengan menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM) dan membantu mengidentifikasi kategori polikristalin BDD yang digunakan seperti ditunjukkan pada Gambar 4.19 (a) hasil karakterisasi SEM BDD yang digunakan seperti ditunjukkan pada Gambar 4.19 (a) hasil karakterisasi SEM BDD yang belum dimodifikasi nanopartikel Pt menunjukkan bahwa BDD yang digunakan merupakan BDD mikro kristalin dengan ukuran butiran $> 1 \mu\text{m}$ (Macpherson *et al*, 2015). Gambar 4.19 (b) merupakan hasil karakterisasi SEM BDD dimodifikasi nanopartikel Pt pada proses *wet chemical seeding*. Pada Gambar 4.19 (b) SEM terlihat membentuk aglomerasi. Hal tersebut disebabkan nanopartikel Pt yang dihasilkan dari reaksi cepat antara larutan Pt dengan larutan NaBH_4 . Dimana terjadi ledakan atau kerusakan atau pemecahan inti yang tidak dapat dikontrol. Dalam kasus *wet chemical seeding* karena gaya dorong yang kuat dari reaksi antara NaBH_4 dan larutan H_2PtCl_6 , BH_4^- yang terserap tidak dapat berdifusi jauh (menyebar) dari permukaan elektroda BDD sehingga membentuk aglomerasi.

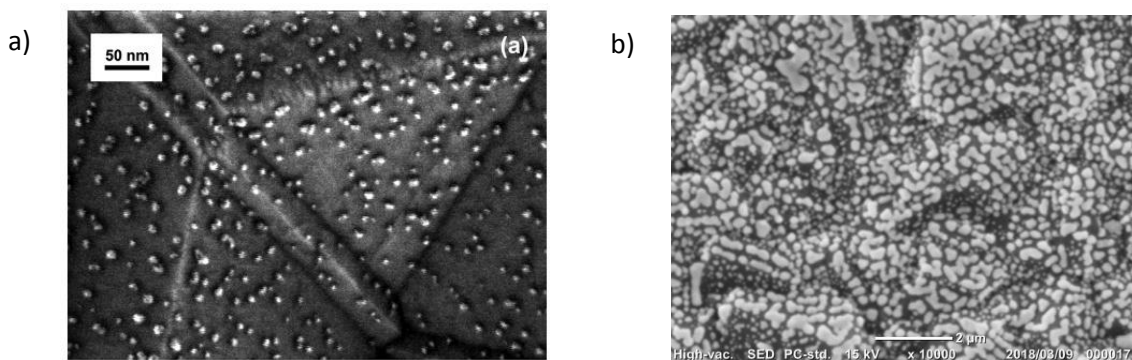
Gambar 4.19 (c) memperlihatkan hasil SEM Pt/BDD pada proses deposisi. Pada Gambar 4.19 (c) SEM diperoleh hasil yang sangat berbeda dengan Gambar 4.19 (b). Hal tersebut dikarenakan penyebaran partikel Pt pada elektroda BDD jauh lebih luas akibat dari penggunaan metode amperometri, dengan cara ini densitas pembentukan inti kristal dari larutan jenuh sebenarnya ditingkatkan pada permukaan elektroda yang menyebabkan penyebaran nanopartikel Pt menjadi lebih homogen.

Gambar 4.19 (d) Pt/BDD pada proses RTA dan Gambar 4.19 (e) Pt/BDD pada proses *refresh* memperlihatkan hasil SEM Pt/BDD yang tidak jauh berbeda. Bila dibandingkan dengan Gambar 4.19 (c), terlihat butiran Pt pada permukaan BDD lebih besar atau dapat dikatakan terjadi pertumbuhan partikel Pt. Hal tersebut terjadi akibat proses RTA menggunakan pemanasan pada temperatur tinggi yaitu 700°C . Nanopartikel Pt pada permukaan elektroda BDD mengalami *melting* namun tidak membentuk oksida logam karena proses pemanasannya dilakukan pada atmosfer nitrogen dibuktikan pula dari hasil XPS pada Gambar 4.23.

Gambar 4.19 (f) Pt/BDD pada proses aktivasi memperlihatkan hasil karakterisasi SEM dengan butiran Pt pada permukaan elektroda BDD lebih besar lagi (*overgrowth*) bila dibandingkan dengan Gambar 4.19 (c) dan Gambar 4.19 (d). Hal tersebut terjadi akibat

dilakukan proses deposisi kembali dengan larutan Pt, dimana partikel Pt yang dideposisikan akan terdeposisi pada partikel yang telah tertanam pada permukaan BDD sebelumnya. Sehingga akan diperoleh partikel Pt yang lebih *fresh* (baru), namun memiliki kestabilan yang tinggi pada permukaan BDD. Kestabilan yang tinggi dalam elektroda Pt/BDD sangat dibutuhkan dalam penelitian ini, karena partikel Pt berperan sebagai elektromediator. Elektroda Pt/BDD akan dimodifikasi menggunakan Hb sebagai sensor akrilamida.

Walaupun proses modifikasi elektroda Pt/BDD menggunakan langkah yang sama dengan metode yang digunakan oleh Gao *et al*, 2013, namun ada beberapa kondisi yang berbeda yang disesuaikan dengan keadaan dalam penelitian ini sehingga data yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki keunikan tersendiri seperti pada Gambar 4.20. Perbedaan kondisi preparasi elektroda Pt/BDD dalam penelitian ini dengan metode yang digunakan oleh Gao dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut ini :



Gambar 4. 20 SEM (a) Pt/BDD hasil penelitian Gao (b) Pt/BDD dalam penelitian ini

Gambar 4.20 menunjukkan perbedaan hasil karakterisasi SEM elektroda Pt/BDD dalam penelitian Gao dengan penelitian ini. Terlihat butiran nanopartikel Pt yang dihasilkan dari penelitian Gao lebih kecil sedangkan hasil SEM Pt/BDD dalam penelitian ini lebih besar bahkan terlihat tidak seperti butiran. Walaupun konsentrasi Pt yang digunakan sama yaitu 1 mM namun hasil SEM menunjukkan Gambaran yang berbeda. Dapat dinyatakan bahwa dengan kondisi yang digunakan dalam penelitian ini konsentrasi 1 mM dianggap terlalu besar untuk mencapai hasil seperti SEM dalam penelitian Gao. Kondisi yang diperoleh dalam penelitian ini menimbulkan peluang penggunaan konsentrasi Pt yang lebih

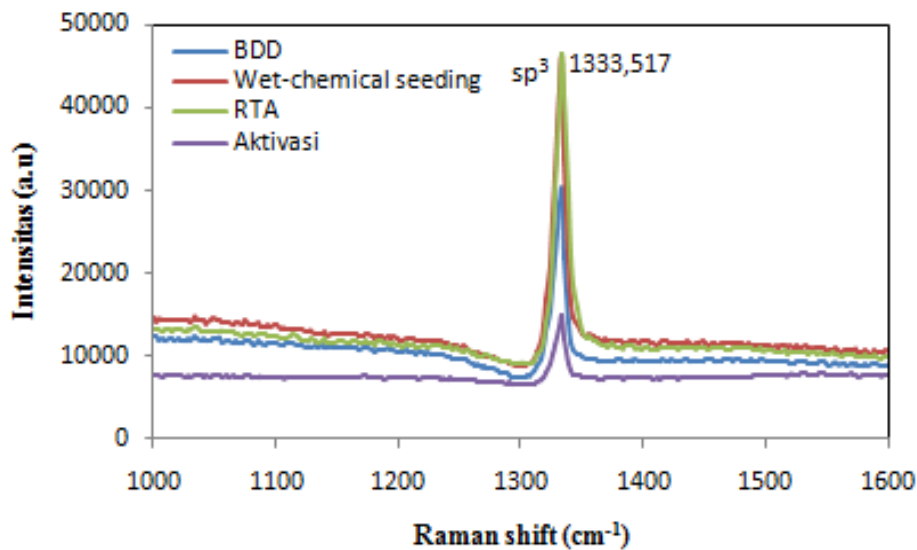
kecil lagi sehingga akan lebih hemat dalam penggunaan logam Pt sebagai modifikasi elektroda BDD.

4.4.8 Karakterisasi elektroda Pt/BDD menggunakan Raman

Elektroda BDD yang digunakan dalam penelitian menggunakan gas H_2 yang memiliki peranan penting karena plasma yang dihasilkan atom-atom H dapat mengakhiri ikatan yang menggantung, mencegah rekonstruksi permukaan, dan bereaksi dengan karbon sp dan sp^2 sehingga pertumbuhan lapisan dapat dicegah. Parameter pertumbuhan yang digunakan sangat penting, karena akan mempengaruhi sifat BDD secara kualitatif dianggap sebagai rasio sp^2 ke sp^3 , ketebalan lapisan, tekstur, dan ukuran butir permukaan BDD. BDD dalam penelitian termasuk jenis mikrokristalin karena memiliki ukuran butiran $> 1 \mu m$ dan rasio sp^3 .

Dalam penelitian ini beberapa proses dilakukan dalam memodifikasi BDD dengan nanopartikel Pt yaitu proses *wet chemical seeding*, elektrodposisi, RTA, *refresh* dan aktivasi. Perlakuan pemanasan menggunakan suhu tinggi yaitu $700^\circ C$ dikhawatir akan merubah sifat sp^3 BDD. Oleh karena itu, karakterisasi raman dilakukan untuk membuktikan pengaruh penggunaan suhu terhadap sifat sp^3 BDD. Proses yang dikarakterisasi menggunakan raman yaitu sebelum Pt/BDD yang belum dipanaskan dalam penelitian ini digunakan sampel Pt/BDD pada proses *wet chemical seeding*. Sampel Pt/BDD berikutnya pada proses RTA, kemudian sampel Pt/BDD setelah dipanaskan yaitu pada proses aktivasi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tiap proses terhadap rasio sp^3 dalam elektroda BDD.

Pada Gambar 4.21 di peroleh hasil karakterisasi raman pada elektroda Pt/BDD terhadap pengaruh pemanasan. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa proses pemanasan atau RTA yang dilakukan pada proses modifikasi BDD menggunakan nanopartikel Pt tidak mengubah struktur sp^3 dari BDD itu sendiri.



Gambar 4. 21 Spektrum raman proses modifikasi BDD menggunakan nanopartikel Pt

Gambar 4.21 menunjukkan hasil karakterisasi raman pada elektroda BDD yang belum dimodifikasi nanopartikel Pt ditandai dengan garis berwarna biru dan terdapat puncak disekitar 1333.517 cm^{-1} . Puncak pada kisaran tersebut merupakan puncak sp^3 . Hal ini sesuai dengan literatur, bahwa BDD mengandung karbon sp^3 (ikatan s) yang dalam spektrum raman menghasilkan satu pusat zona puncak *phonon optical diamond* disebut sebagai puncak sp^3 1332 cm^{-1} (Macpherson, 2015). Lebar garis merupakan penentuan secara kualitatif dari kualitas lapisan kristal BDD. Pada proses *wet chemical seeding* (WTC) yang ditandai dengan garis berwarna merah, terdapat puncak yang sama juga muncul disekitar 1333.517 cm^{-1} . Begitu pula pada proses RTA dengan pemanasan menggunakan suhu 700°C dengan dialiri gas nitrogen yang ditandai dengan garis berwarna hijau dan proses *active* yang ditandai dengan garis berwarna ungu dari spektrum raman menghasilkan satu pusat puncak disekitar 1333.517 cm^{-1} yang menandakan puncak sp^3 . Data tersebut memberikan informasi bahwa modifikasi menggunakan metode baru ini tidak merubah sp^3 pada BDD. Bentuk sp^3 merupakan bentuk yang diharapkan terdapat pada BDD dan apabila dimodifikasi diharapkan bentuk sp^3 tidak berubah. Dari data diatas dapat

disimpulkan bahwa proses modifikasi Pt/BDD yang digunakan dalam penelitian ini tidak merubah sp^3 pada BDD.

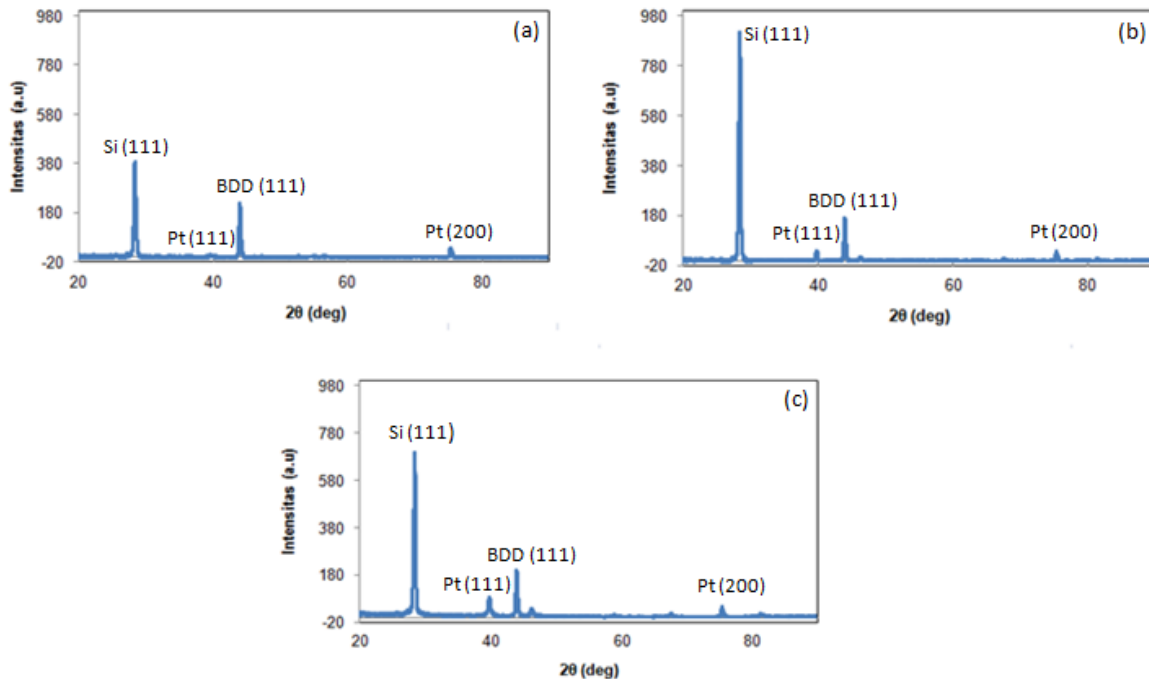
4.4.9 Karakterisasi elektroda Pt/BDD menggunakan XRD

Elektroda Pt/BDD dikarakterisasi menggunakan XRD dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh tiap proses terhadap bentuk kristal Pt pada permukaan elektroda selama proses pembuatan elektroda Pt/BDD. Gambar 4.22 (a) menunjukkan pola XRD elektroda Pt/BDD pada tahap *wet chemical seeding*, puncak difraksi pada $28,08^\circ$ menunjukkan permukaan Si. Adanya puncak sempit di plot XRD pada 2θ dari $43,23^\circ$, sesuai dengan lapisan berlian yang mengindikasikan fase BDD (1 1 1) (Tong *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2015). Ketika Pt/BDD pada tahap *overgrowth of seed* diproses lebih lanjut dengan proses RTA pada Gambar 4.22 (b) menghasilkan penurunan puncak difraksi karakteristik BDD dan Pt secara berurutan pada $44,6^\circ$ dan $73,9^\circ$. Hal tersebut terjadi akibat permukaan Pt/BDD membentuk lapisan *pasivation* selama proses pemanasan dimana karbon larut dalam platinum pada temperatur tinggi dan mengendap pada permukaan logam selama *cooling down*.

Hasil karakterisasi XRD pada proses *active* pada Gambar 4.22 (c), menghasilkan kenaikan puncak difraksi karakteristik BDD dan Pt secara berurutan pada $43,91^\circ$ dan $73,96^\circ$, namun puncak difraksi karakteristik BDD dan Pt pada proses *active* pada Gambar 4.22 (c) tidak lebih tinggi dari puncak difraksi karakteristik BDD dan Pt pada proses *electrochemical overgrowth of seed* pada Gambar 4.22 (c). Hal tersebut terjadi karena partikel Pt yang terdeposit pada permukaan BDD dalam proses *active* hanya terdeposit pada Pt yang tertanam secara *active*, sedang pada bagian permukaan lainnya tidak terdeposit karena masih ada lapisan *passivation*. Kemungkinan karena pada tahap *refresh* ini lapisan *passivation* tidak *terrefresh* secara sempurna, sehingga luas Pt yang *tercover* pada permukaan BDD lebih kecil dibandingkan pada proses *electrochemical overgrowth of seed*.

Plot XRD permukaan Si dan lapisan BDD secara berurutan pada puncak difraksi pada $28,47^\circ$ dan $44,6^\circ$ untuk proses RTA pada Gambar 4.22 (b), sedangkan plot XRD

permukaan Si dan lapisan BDD pada proses *active* pada Gambar 4.22 (c) berada pada puncak difraksi secara berurutan $28,68^\circ$ dan $44,21^\circ$.



Gambar 4. 22 Pola XRD Pt/BDD pada proses a) elektrodposisi b) RTA c) aktivasi

Puncak Pt pada 2θ dari proses elektrodposisi pada Gambar 4.22 (a) adalah $40,08^\circ$; $75,43^\circ$, pada proses RTA pada Gambar 4.22 (b) adalah $39,79^\circ$; $75,13^\circ$ dan pada proses *active* pada Gambar 4.22 (c) secara berurutan 39.73° ; $75,22^\circ$ secara berurutan sesuai dengan Pt (1 1 1), Pt (2 2 0) (Tong *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2015). Pt yang terdeposit pada permukaan elektroda BDD diperoleh adalah pola *face-centered cubic* (fcc) (grup ruang: Fm3m) yang ditunjukkan oleh puncak difraksi yang tersisa (1 1 1), dan (2 2 0), dan tidak ada puncak difraksi lain yang tidak diketahui muncul pada Gambar 4.22 Ini menegaskan bahwa deposisi Pt pada elektroda BDD dengan metode ini merupakan nanokristalin dalam fase yang mirip dengan bulk Pt dan penggunaan proses RTA pada metode ini tidak merubah bentuk nanokristal dari pt yang dideposisi pada permukaan elektroda BDD.

4.4.10 Karakterisasi elektroda Pt/BDD menggunakan *X-ray photoelectron spectroscopy* (XPS)

Karakterisasi menggunakan XPS bertujuan untuk mengetahui ikatan kimia unsur yang terdapat pada permukaan sampel yang diukur. Hampir sama dengan EDS namun dengan XPS dapat lebih mengetahui secara spesifik unsur yang terdapat pada permukaan sampel tersebut, untuk membedakan unsur Pt dengan PtO berdasarkan energi ikat yang dideteksi pada XPS. Berikut ini adalah Tabel puncak energi ikat khas dari unsur Pt.

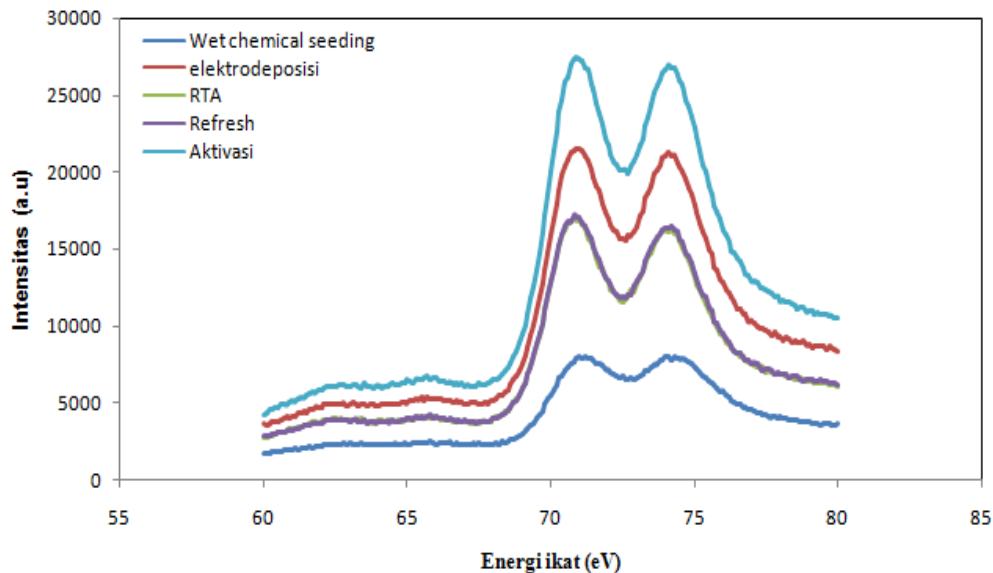
Tabel 4. 6 Data energi ikat spesifik untuk logam Platinum (Ikeo et al. 1991)

Platinum	4f _{7/2} (eV)
Pt	71,1
PtO	72,4
PtO ₂	75,6
Pt(OH) ₂	72,6
Pt(OH) ₄	74,6
PtO(OH) ₂	74,5
Pt(SO ₄) ₂ .nH ₂ O	74,6
PtCl ₂	73,6
PtCl ₄	75,5
K ₂ PtCl ₄	73,4
Pt ₂ Si ₂	72,5
PtSi	73,0

Platinum	4f _{5/2} (eV)
Pt	74,5
Pt	74,4

Pada penelitian ini, hasil dari spektra XPS pada rentang energi ikat 0-1000 eV (*wide scan*) menunjukkan puncak C 1s pada energi ikat 284 eV dan pada energi ikat 530 eV

terdapat puncak O 1s. Scanning pada rentang yang spesifik untuk tiap unsur yang akan dikarakterisasi (*narrow scan*) juga dilakukan, untuk mengetahui apakah pada permukaan elektroda BDD terdapat unsur platinum.



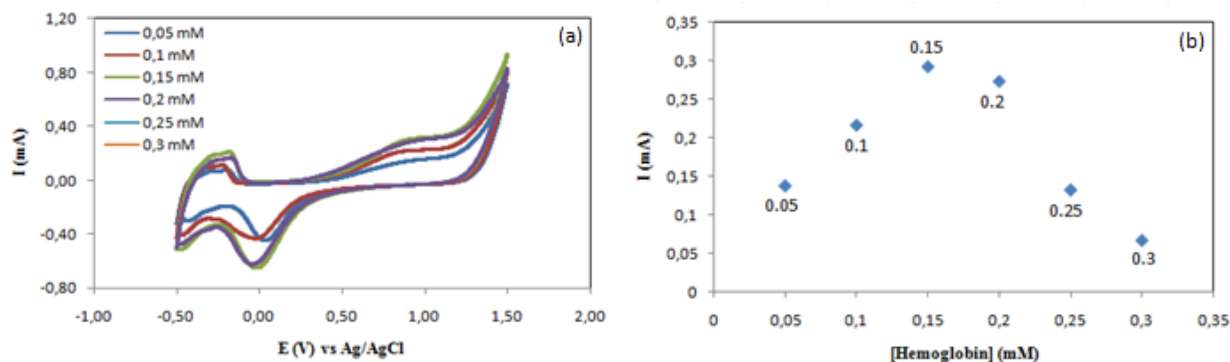
Gambar 4. 23 karakterisasi XPS elektroda Pt/BDD

Permukaan terminasi BDD memberikan lapisan dipol yang berbeda pada permukaan (Hoffman *et al.*, 2010) dan dengan demikian mempengaruhi adsorpsi NaBH_4 pada proses *wet chemical seeding* partikel logam Pt. Gambar. 4.6 menunjukkan Gambar SEM dari elektroda Pt/BDD, lapisan nanopartikel Pt padat terbentuk. Diameter rata-rata partikel di bawah 208,708 nm. Komposisi kimia dari *seed* nanopartikel Pt dikonfirmasi oleh XPS. Pada Gambar 4.23 menunjukkan spektrum XPS dari Pt $4f_{7/2}$ dan $4f_{5/2}$. Puncak Pt $4f_{7/2}$ berpusat pada energi ikat 71,0 eV dan Puncak Pt $4f_{5/2}$ pada energi ikat 74,5 eV hasil ini sesuai dengan Tabel 4.6 yaitu mengenai data energi ikat spesifik untuk logam Platinum (Ikeo *et al.* 1991). Pada Gambar 4.23 hasil karakterisasi XPS yang diperoleh setiap tahap yaitu: *wet chemical seeding*, deposisi, RTA, *refresh*, dan *active* menunjukkan spektrum yang sama. Hal tersebut membuktikan bahwa pada proses modifikasi Pt/BDD dengan menggunakan gabungan metode yang digunakan dalam penelitian ini tidak merubah partikel logam Pt menjadi oksida logam Pt.

4.5 Preparasi elektroda Hb/Pt/BDD

4.5.1 Optimasi konsentrasi hemoglobin pada elektroda Pt/BDD

Pt/BDD dengan tingkat stabilitas yang tinggi dan Pt terdistribusi secara homogen yang telah diperoleh, kemudian dilakukan preparasi dengan pelapisan larutan Hb *human lyophilized powder* pada permukaan elektroda Pt/BDD. Hb/Pt/BDD dipreparasi dengan cara membuat variasi konsentrasi Hb yang akan ditempelkan pada elektroda Pt/BDD. variasi yang digunakan yaitu (0.005; 0.01; 0.15; 0.02; 0.25 dan 0.03) mM. Tujuannya untuk meperoleh konsentrasi Hb yang optimum pada elektroda Pt/BDD ini. Hasil voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD ditunjukkan pada Gambar 4.24 sebagai berikut :



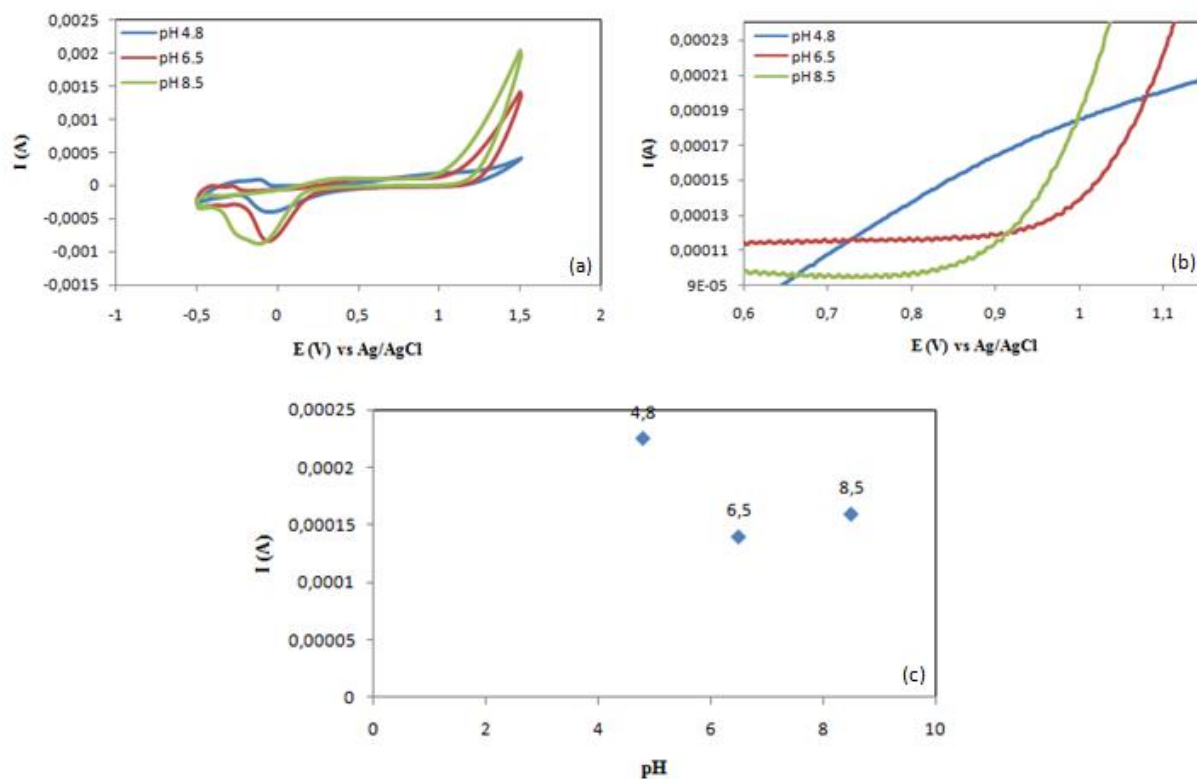
Gambar 4. 24 (a) dan (b) voltammogram variasi konsentrasi Hb pada elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS pH 4,8 scanrate 100 mV/s

Gambar 4.24 menunjukkan pada konsentrasi (0.05, 0.01, 0.15) mM mengalami peningkatan. Namun pada konsentrasi 0.02 mM puncak arus oksidasi mulai turun bahkan pada konsentrasi 0.03 mM puncak arus oksidasi turun. Hal ini terjadi karena permukaan elektroaktif Pt tertutupi oleh Hb dengan konsentrasi yang lebih pekat, sehingga menurunkan puncak arus oksidasi dari Pt itu sendiri. Konsentrasi optimum Hb pada elektroda Hb/Pt/BDD adalah 0.15 mM. Kondisi tersebut ditentukan berdasarkan bentuk dari voltammogram elektroda Pt/BDD yang dimodifikasi Hb mengalami kenaikan puncak oksidasi arus tanpa menghilangkan sifat karakteristik voltammogram dari elektroda Pt/BDD. Modifikasi elektroda Pt/BDD menggunakan Hb dikarena Hb dapat membentuk

ikatan adisi dengan akrilamida sehingga dapat digunakan sebagai sensor akrilamida. Akrilamida dengan hemoglobin membentuk reaksi adisi karena adanya interaksi antara gugus amino valin N-terminal dari struktur hemoglobin dengan molekul akrilamida (Friedman *et al.*, 2003 dan Krajewska *et al.*, 2008).

4.5.2 Pengaruh pH elektrolit terhadap elektroda Hb/Pt/BDD

Literatur mengenai sensor akrilamida telah banyak menjelaskan bahwa sensor akrilamida optimum bekerja pada pH asam. pH 4,8 (Stoibeka *et al.*, 2007), pH 5 (Krajewska *et al.*, 2008), pH 4,5 (Li *et al.*, 2008), pH 5 (Batra *et al.*, 2013), pH 5 (Umam *et al.*, 2016). Untuk mengkonfirmasi kebenaran tersebut maka dilakukan variasi pH elektrolit terhadap elektroda Hb/Pt/BDD.

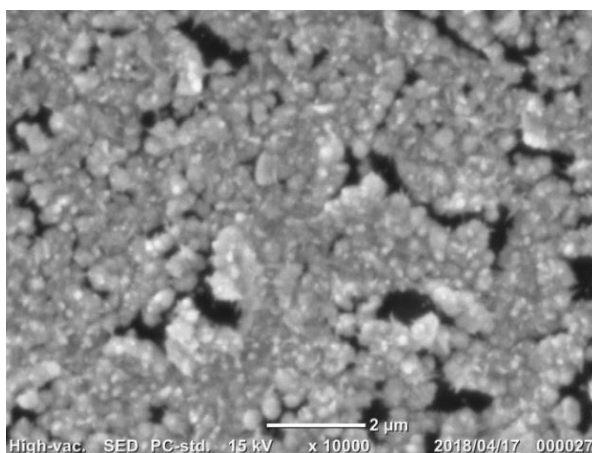


Gambar 4. 25 Voltammogram variasi pH elektroda Pt/BDD dalam 0.2 M ABS dengan scanrate 100 mV/s

Gambar 4.25 menunjukkan hasil *voltammogram* dari variasi pH elektrolit. pH asam dengan nilai pH 4,8 ditandai dengan garis warna biru, sedang pH netral dengan nilai pH 6,5 ditandai dengan garis berwarna merah, dan pH basa dengan nilai pH 8,5 ditandai dengan garis hijau. Dari ketiga variasi pH elektrolit, pada Gambar 4.25 data *voltammogram* dapat dilihat hasil optimum elektroda Hb/Pt/BDD bekerja pada pH asam atau sekitar pH 4,8. Hal tersebut dikarenakan pH larutan elektrolit ABS (*buffer*) yang digunakan pH 4,8 lebih kecil dari *isoelectric point* (pI) yang dimiliki Hb yaitu 6,9 sehingga terjadi migrasi molekul protein.

4.5.3 Karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD menggunakan SEM

Elektroda Hb/Pt/BDD optimum kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM. Hasil SEM elektroda Hb/Pt/BDD ditunjukkan pada Gambar 4.26 dibawah :



Gambar 4. 26 SEM elektroda Hb/Pt/BDD

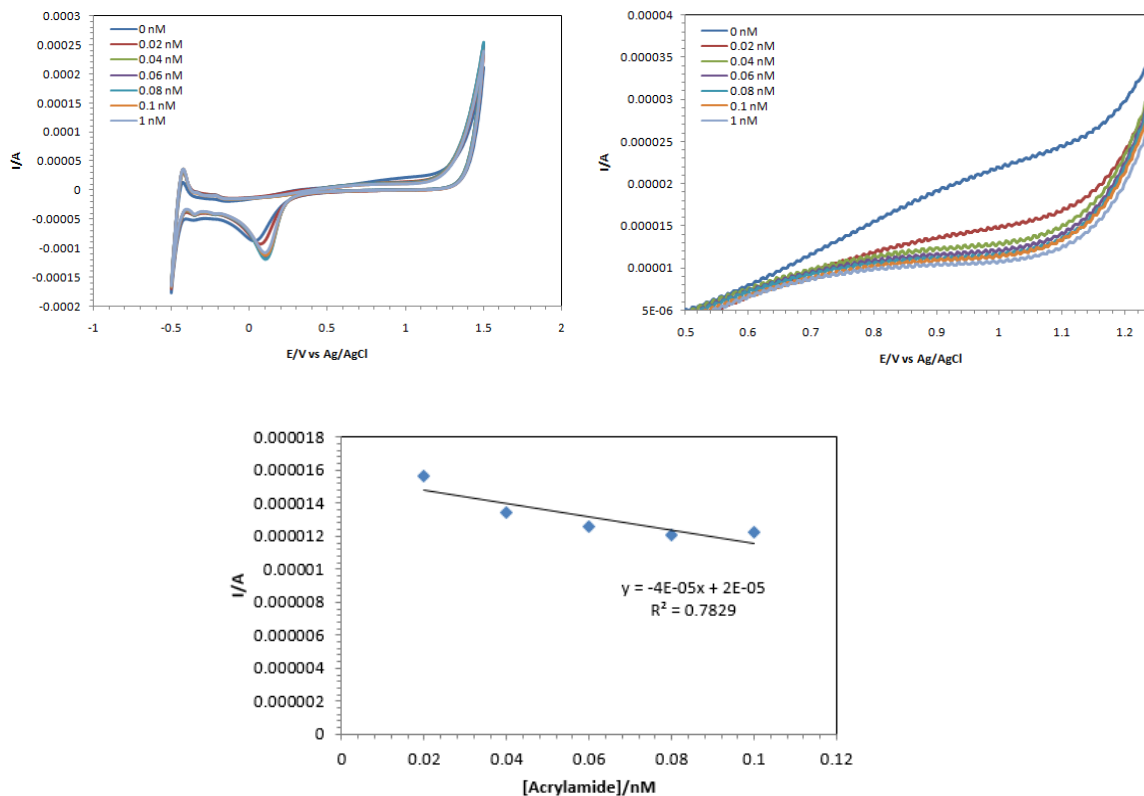
Dari Gambar 4.26 hasil karakterisasi elektroda SEM Hb/Pt/BDD, dapat dilihat bahwa morfologi dari permukaan elektroda yang telah dipreparasi Hb ditandai fenomena fluoresensi yang bertanggung jawab atas kemungkinan keberadaan Hb pada permukaan elektroda Pt/BDD. Fenomena fluoresensi ini akibat adanya unsur besi yang ada didalam Hb (Mahato *et al.*, 2011; Baum *et al.*, 2012 dan Karsson *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil SEM dapat diketahui bahwa elektroda Pt/BDD berhasil dimodifikasi menggunakan Hb. Ini

membuktikan partikel Pt menahan struktur secara alami dari Hb, yang mana sesuai dengan literatur (Gu *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2004 dan Wang *et al.*, 2007) bahwa partikel inert bertindak sebagai mediator untuk meningkatkan proses transfer elektron. Ikatan antara partikel Pt dan Hb karena cystein dan lysin dari struktur protein berinteraksi dengan partikel Pt melalui gugus amino dan thiol dari asam amino (Yang *et al.*, 2008 dan Garabagiu *et al.*, 2010).

4.6 Uji kinerja elektroda Pt/BDD(*wet chemical seeding*)/Hb pada akrilamida standar

Dilakukan pula pengujian kinerja Hb/Pt/BDD, dimana pada proses deposisi nanopartikel Pt pada permukaan BDD dilakukan dengan proses *wet-chemical seeding* tanpa melalui proses lainnya. Hal ini bertujuan untuk mengetahui uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD dengan menggunakan proses yang berbeda. Gambar 4.27 Menunjukkan bahwa terjadi penurunan puncak arus oksidasi elektroda dengan bertambahnya konsentrasi akrilamida standar pada puncak sekitar 1,1 A. hal tersebut menandakan bahwa elektroda BDD/Pt-Hb memberikan respon atau signal dengan adanya akrilamida. Namun hasil regresi diperoleh sekitar 0.78, hal tersebut membuktikan bahwa kemampuan elektroda Hb/Pt/BDD dengan proses *wetchemical seeding* saja walaupun menunjukkan adanya penurunan puncak arus namun tidak stabil.

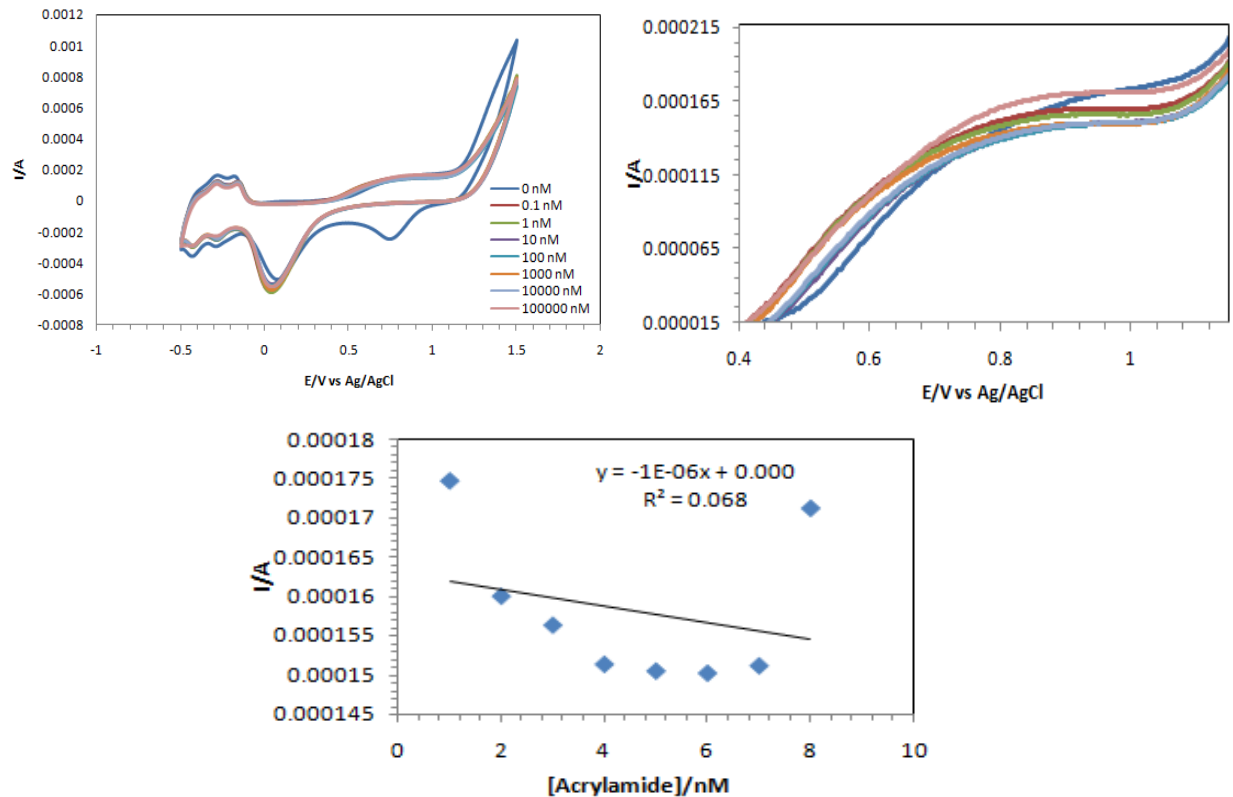
Hal ini terjadi karena penyebaran partikel Pt pada permukaan elektroda tidak merata dan ukuran partikel Pt yang ditanam pada permukaan elektroda tidak homogen. Data ini memperkuat hipotesis dalam disertasi ini bahwa salah satu faktor yang dapat meningkatkan kestabilan biosensor dalam pengukuran AA adalah penyebaran partikel yang merata, ukuran partikel yang homogen pada permukaan elektroda BDD.



Gambar 4. 27 Voltammogram elektroda Pt/BDD (*wet chemical seeding*)/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 *scanrate* 100mV/s

4.7 Uji kinerja elektroda Pt/BDD pada akrilamida standar

Gambar 4.28 menunjukkan hasil voltammogram elektroda Pt/BDD tanpa adanya Hb tidak dapat digunakan untuk mendeteksi akrilamida. Terlihat dari hasil regresi yang diperoleh yaitu sekitar 0.068 dimana sangat jauh dari angka 1 atau dari kata linear. Penelitian ini membuktikan bahwa dalam sensor akrilamida Hb sangat dibutuhkan untuk mendeteksi akrilamida. Walaupun elektroda Pt/BDD memiliki sifat elektrokimia namun tanpa adanya Hb tidak mampu berinteraksi dengan akrilamida. Hal tersebut dikarenakan N-terminal valin pada Hb mampu berinteraksi gugus akrilamida, selain itu Fe dalam Hb memiliki kemampuan elektrokimia.



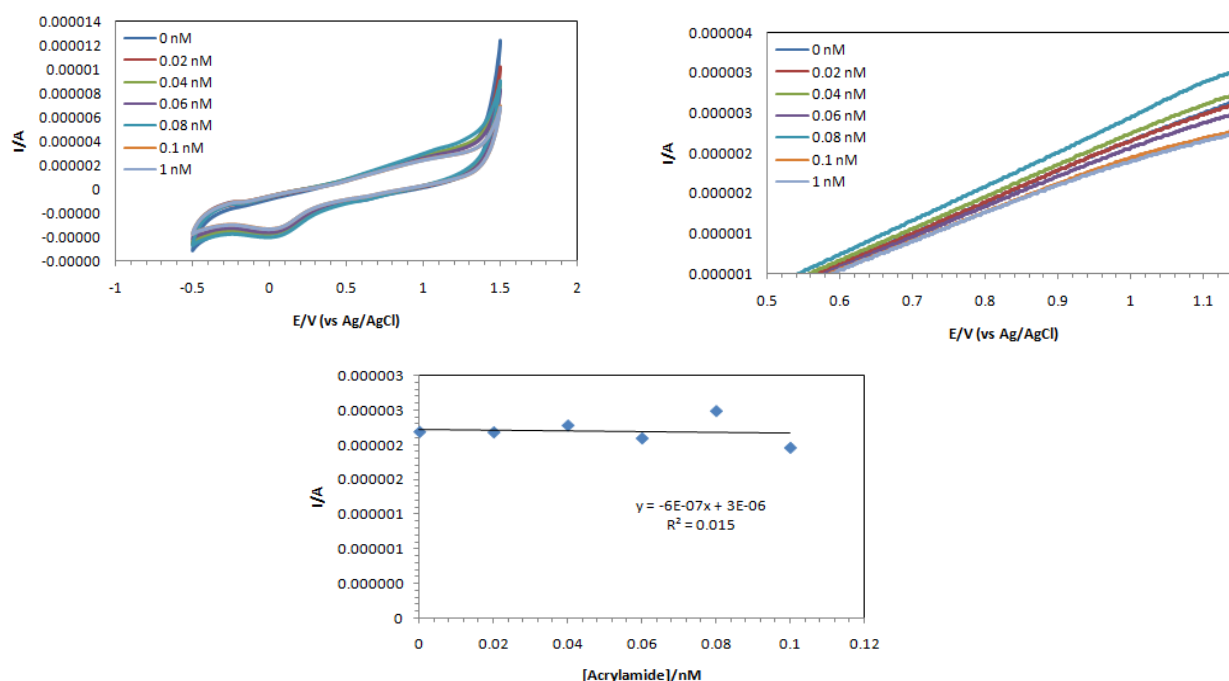
Gambar 4. 28 Voltammogram elektroda Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 scanrate 100 mV/s

4.8 Uji kinerja elektroda Hb/BDD pada akrilamida standar

Uji elektroda BDD-Hb sebagai sensor akrilamida dilakukan dengan tujuan untuk mengkonfirmasi peran dari nanopartikel Pt sebagai electromediator dalam pembuatan sensor akrilamida. Gambar 4.29 Menunjukkan hasil voltamogram BDD-Hb sebagai sensor akrilamida tidak dapat mendeteksi, terlihat dari hasil regresi 0.015, berupa garis lurus mendatar menunjukkan tidak adanya penurunan puncak arus yang terjadi dengan adanya penambahan konsentrasi akrilamida.

Hal tersebut terjadi ketika acrylamide membentuk *adducts* dengan hemoglobin, karena interaksi antara gugus amino N-terminal valin dari struktur hemoglobin dengan molekul akrilamida (Friedmad *et al.*, 2003; Krajewska *et al.*, 2008) respon atau proses

transfer elektron dari pembentukan reaksi tersebut tidak dapat berlangsung atau sangat lambat dari pusat aktif Hb menuju elektroda BDD tanpa adanya elektromediator seperti logam Pt. Lambatnya transfer elektron ini disebabkan oleh orientasi tidak menguntungkan dari molekul Hb dimana pusat heme pada hemoglobin berada didalam globin menuju permukaan elektroda BDD, yang meningkatkan jarak antara pusat heme dan permukaan elektroda (Gu *et al.*, 2001; Pingarron *et al.*, 2008; Garabagiu *et al.*, 2011). Sehingga respon penurunan arus akibat pembentukan *adducts* akrilamida dengan Hb tidak dapat memberikan signal akibat jarak yang terlalu jauh.



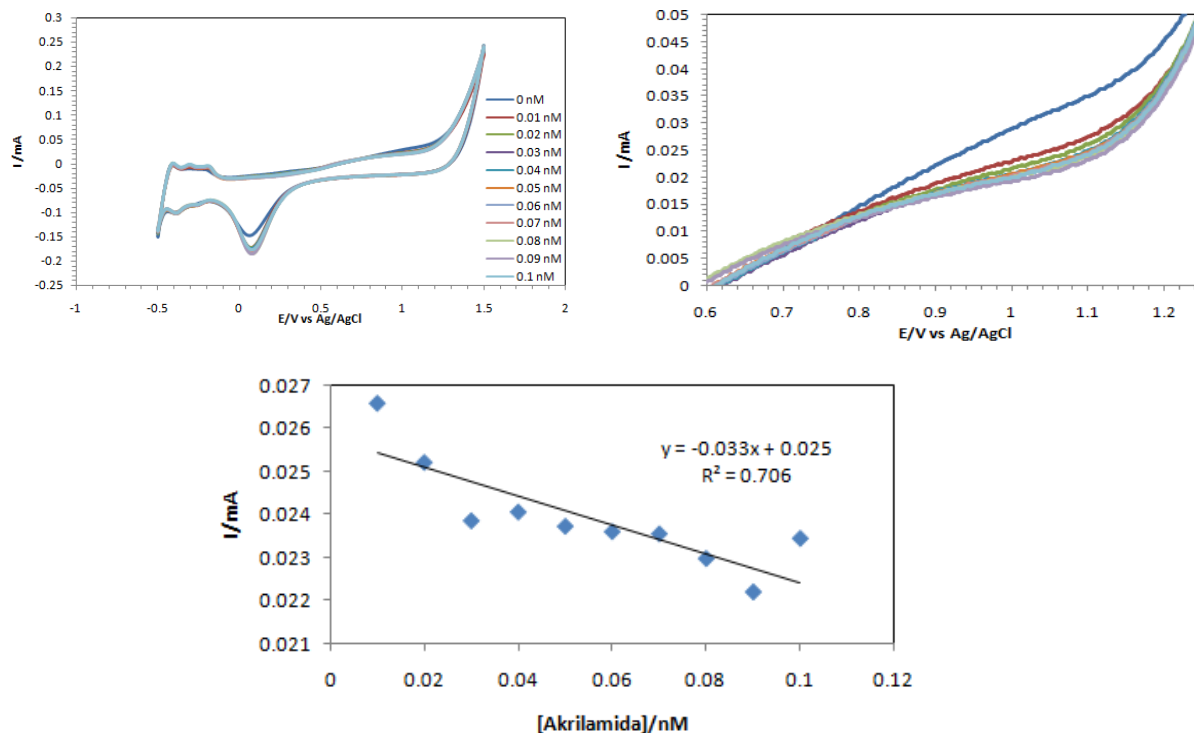
Gambar 4. 29 Voltammogram elektroda BDD-Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 scanrate 100 mV/s

4.9 Elektroda platina termodifikasi Hb (Pt/Hb)

4.9.1 Uji kinerja elektroda Pt/Hb pada akrilamida standar

Elektroda Pt/Hb di uji kinerjanya terhadap sampel akrilamida standar dengan berbagai variasi konsentrasi dengan menggunakan teknik siklik voltametri untuk dibandingkan dengan elektroda Hb/Pt/BDD. Pengukuran dilakukan dari rentang potensial -

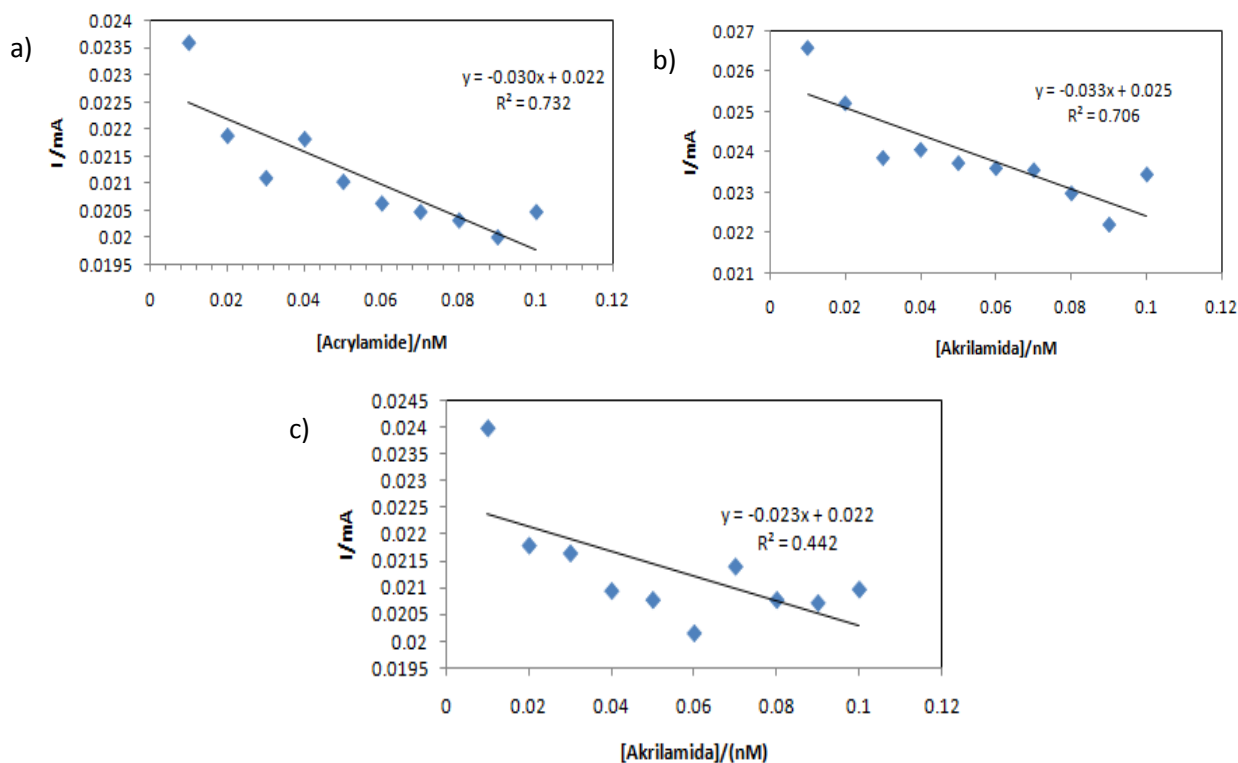
0.5 sampai 1.5 V menggunakan elektrolit 0.2 M ABS yang mengandung akrilamida dengan variasi (0.01; 0.02; 0.03; 0.04; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08; 0.09; dan 0.1) nM.



Gambar 4. 30 Voltammogram elektroda Pt/Hb dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M *scanrate* 100mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb pada sampel akrilamida standar yang ditunjukkan pada Gambar 4.30 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi akrilamida semakin menurunkan puncak arus oksidasi. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi antara gugus amino N-termianl valin dari struktur Hb dengan senyawa akrilamida (Friedman *et al.*, 2003 dan Krajewska *et al.*, 2008).

Penurunan puncak arus oksidasi pada voltammogram Gambar 4.30 dikarenakan terbentuknya adisi Hb-Akrilamida yang menyebabkan berubahnya elektroaktivitas Hb. Dengan kata lain semakin tinggi adisi Hb-akrilamida yang terbentuk pada permukaan elektroda Pt/Hb semakin menurunkan puncak arus siklik voltammogram (CV).



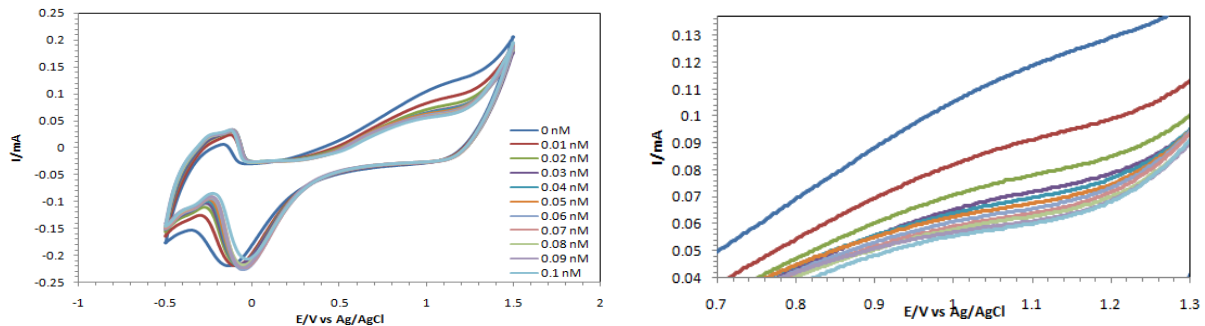
Gambar 4. 31 Grafik linearitas kinerja elektroda Pt/Hb yang pertama (a,b,c) pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M *scanrate* 100 mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb pada sampel akrilamida standar ditunjukkan pada Gambar 4.31 (a,b, dan c) dalam bentuk grafik linearitas. Hasil pengukuran senyawa akrilamida standar pada berbagai variasi konsentrasi menggunakan elektroda Pt/Hb yang pertama dengan nilai linearitas R^2 0.732. Elektroda Pt/Hb kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke dua dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas R^2 sebesar 0.706. Elektroda Pt/Hb kemudian digunakan kembali untuk mengukur sampel akrilamida standar yang ke tiga dengan variasi konsentrasi yang sama, diperoleh hasil linearitas sebesar R^2 0.442. Dari hasil uji kinerja elektroda Pt/Hb mengalami penurunan kelinearitasan yang sangat signifikan. Hal tersebut akibat Hb pada elektroda Pt tidak stabil, sehingga ditiap pengukuran elektroda yang terlapis dengan Hb kemudian sedikit-demi sedikit terlepas dari permukaan elektroda Pt. kemungkinan kedua adalah kemampuan elektroda Pt sebagai material konduktif dalam mendekati pusat aktif dari hemoglobin tidak sebesar

apabila menggunakan Pt dalam bentuk partikel karena ukuran luas permukaan elektroda Pt, kemungkinan berikutnya adalah elektroda Pt/Hb tidak dapat mendeteksi sampel akrilamida standar pada konsentrasi nano molar.

4.10 Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada akrilamida standar

Elektroda Hb/Pt/BDD selanjutnya di uji kinerjanya terhadap sampel akrilamida standar dengan berbagai variasi konsentrasi dengan menggunakan teknik siklik voltametri. Pengukuran dilakukan dari rentang potensial -0.5 samapi 1.5 V menggunakan elektrolit 0.2 M ABS yang mengandung akrilamida dengan variasi (0.01; 0.02; 0.03; 0.04; 0.05; 0.06; 0.07; 0.08; 0.09; dan 0.1) nM.

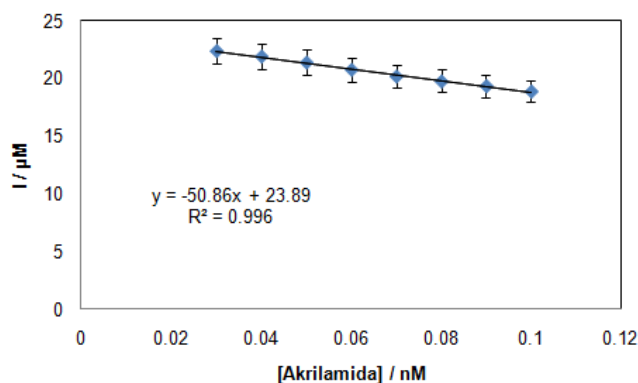


Gambar 4. 32 Voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD dengan variasi konsentrasi Akrilamida dalam ABS 0.2 M pH 4.8 *scanrate* 100 mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar yang ditunjukkan pada Gambar 4.32 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi akrilamida semakin menurunkan puncak arus oksidasi. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi antara gugus amino N-terminal valin dari struktur Hb dengan senyawa akrilamida.

Acrylamide membentuk *adducts* dengan Hb sebagai hasil dari reaksi antara gugus -NH₂ dari valine N-terminal Hb. Pembentukan *adduct* ini terkait dengan perubahan struktur Hb. Perubahan struktur ini mungkin yang bertanggung jawab untuk penurunan aksesibilitas pusat redoks-aktif Hb bergerak di permukaan elektroda, yang menyebabkan penurunan arus. Adsorpsi Hb-akrilamida mengubah elektroaktivitas Hb dan respon yang dihasilkan dari biosensor. Investigasi Pt/BDD elektroda dimodifikasi dengan Hb ditampilkan reaksi

elektrokimia kuasi-reversibel $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$. Biosensor ini menunjukkan respons elektrokimia terhadap akrilamida dengan rentang linier 0,01 nM hingga 0,1 nM. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penurunan arus dapat diperlakukan sebagai sinyal analitik dan dapat menjadi dasar untuk biosensor yang sangat selektif dan sensitif. untuk penentuan akrilamida. Namun dalam penelitian ini rentang yang diperoleh cukup kecil yaitu 0.01 nM – 0,1 nM. Hal ini mungkin disebabkan dari penggunaan logam Pt yang dimodifikasi pada elektroda BDD bukan dalam bentuk nanopartikel, walaupun diperoleh Pt yang stabil pada permukaan BDD namun rentang pengukuran yang diperoleh sangat sempit atau kecil.



Gambar 4. 33 Grafik linearitas kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada variasi konsentrasi sampel akrilamida dalam ABS 0.2 M *scanrate* 100 mV/s

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel akrilamida standar ditunjukkan pada Gambar 4.33 dalam bentuk grafik linearitas. Hasil pengukuran senyawa akrilamida standar pada berbagai variasi konsentrasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD dengan nilai linearitas R^2 0.996. Elektroda Hb/Pt/BDD digunakan untuk mengukur sampel akrilamida standar sebanyak 6 kali pengulangan. Dari hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD diperoleh LOD sebesar 0.021909 nM dengan standar deviasi 0.00111.

Pada Gambar 4.33 ternyata diperoleh nilai linearitas R^2 mendekati satu, LOD yang sangat rendah, dan standar deviasi yang kecil. Pada Gambar 4.32 terjadi penurunan puncak arus oksidasi pada voltammogram dikarenakan terbentuknya adisi Hb-Akrilamida yang

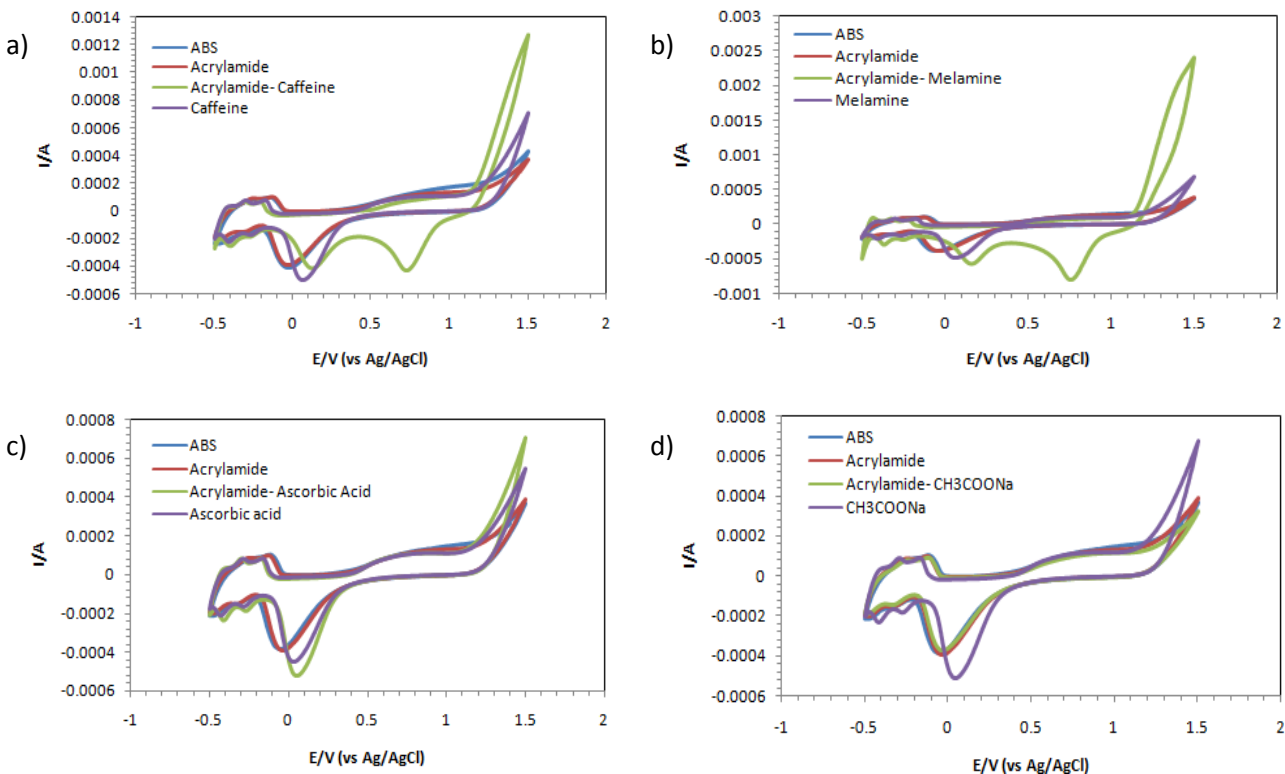
menyebabkan berubahnya elektroaktivitas Hb. Dengan kata lain semakin tinggi adisi Hb-akrilamida yang terbentuk pada permukaan elektroda Hb/Pt/BDD semakin menurunkan puncak arus siklik voltammogram (CV).

Elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida menggunakan CV. Siklus voltammogram yang ditampilkan pada Gambar 4.32 tampak mengalami perubahan intensitas arus dengan adanya konsentrasi rendah akrilamida. Perubahan ini karena ikatan antara akrilamida dan Hb yang terdeposit diatas permukaan elektroda BDD, dimana penurunan tingkat transfer elektron antara elektrolit dan elektroda termodifikasi. Hal ini dikarenakan pembentukan adisi Hb-akrilamida sehingga sifat elektroaktif Hb berubah dan hasilnya menurunkan puncak potensial CV. Hasil tersebut menunjukkan bahwa elektroda siap untuk di aplikasikan pada sampel akrilamida dalam kopi.

4.11 Pengaruh senyawa lain pada elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida

Mempelajari efek campur beberapa senyawa termasuk kafein, melamin, asam askorbat dan sodium asetat yang umumnya ada dalam sampel makanan sangat diperlukan untuk menyelidiki efek matriks pada penentuan AA dengan menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD.

Oleh karena itu, batas toleransi senyawa pengganggu didefinisikan sebagai konsentrasi yang memberikan kesalahan sebesar 50% dalam penentuan AA pada level 0.01-0.1 nM. Setelah itu, efek senyawa yang mengganggu pada penentuan AA diselidiki di bawah kondisi yang dioptimalkan dengan menghitung pemulihan AA. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 4.34 Pada Gambar dapat dilihat, kehadiran sejumlah besar senyawa pengganggu kafein dan melamin tidak memiliki efek matriks signifikan pada penentuan AA dengan menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD.



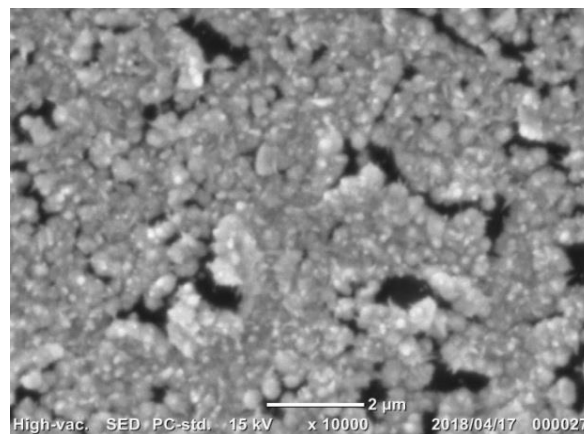
Gambar 4. 34 Voltammogram elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida dengan adanya senyawa lain seperti (a. Kafein, b. melain, c. asam askorbat, d. Natrium asetat) dalam ABS 0.2 M pH 4.8 scanrate 100 mV/s

Sedangkan pada hasil Gambar c dan d kehadiran sejumlah besar senyawa pengganggu asam askorbat dan sodium asetat memiliki efek matriks pada penentuan AA dengan menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD, sehingga untuk meminimalkan gangguan dalam penentuan AA menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD perlu dilakukan langkah lebih lanjut seperti pemisahan atau ekstraksi apabila ingin menganalisis sampel yang mengandung asam askorbat dan sodium.

4.12 Penggunaan ulang elektroda Hb/Pt/BDD

Hasil karakterisasi SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD yang ditunjukkan pada Gambar 4.35 merupakan elektroda Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk mendeteksi akrilamida.

Gambar 4.36 menunjukkan hasil karakterisasi SEM-EDS pada elektroda Hb/Pt/BDD yang telah dikontakkan pada sampel AA dan Gambar 4.37 menunjukkan hasil karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD yang telah digunakan pada sampel AA kemudian di *cleaning* menggunakan NaClO_4 untuk menghilangkan Hb pada permukaan elektroda Pt/BDD. Hasil SEM pada Gambar 4.35 terlihat bahwa elektroda Hb/Pt/BDD sebelum dikontakkan pada akrilamida tertutupi oleh Hb dan Pt. Hal tersebut dikonfirmasi dengan EDS pada Tabel 4.8.



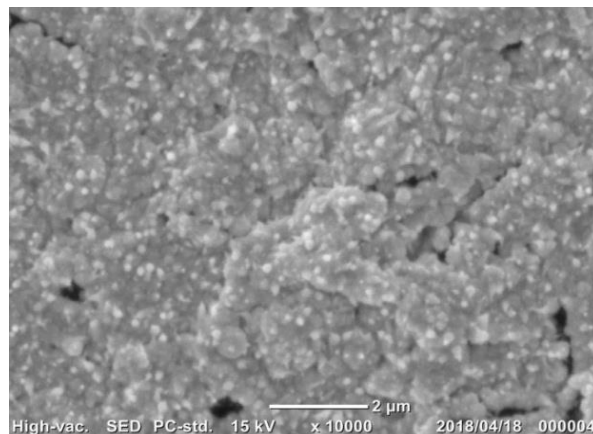
Gambar 4. 35 SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi akrilamida

Tabel 4. 7 EDS Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi akrilamida

Element	Massa %	Nomor atom %
B	ND	ND
C	16,77	72,39
O	1,81	5,88
Fe	0,15	0,14
Pt	81,27	21,60

Tabel 4.7 yang merupakan hasil dari karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi akrilamida menunjukkan bahwa komposisi Fe dalam Hb sebelum digunakan pada sampel yang mengandung AA dengan massa sebesar 0.15 %, sedangkan untuk Pt 81.27 %.

Elektroda Hb/Pt/BDD pada Gambar 4.36 merupakan elektroda yang telah digunakan untuk deteksi senyawa akrilamida. Pada Gambar 4.36 terlihat seluruh permukaan elektroda tertutupi oleh Hb dan Pt. Apabila dilihat secara kasat mata Gambar 4.35 dan Gambar 4.36 tidak ada perbedaan yang signifikan atau dapat dikatakan bahwa kedua Gambar tersebut hampir sama, hanya saja pada Gambar 4.36 terlihat permukaan elektroda BDD tertutupi lebih rapat bila dibandingkan dengan elektroda Hb/Pt/BDD yang belum digunakan untuk deteksi akrilamida. Kemungkinan hal tersebut terjadi karena Hb pada permukaan Pt/BDD yang terkena larutan sampel akrilamida melarut sehingga menyebabkan permukaan BDD lebih tertutupi. Untuk mengkonfirmasi terjadi perubahan pada elektroda Hb/Pt/BDD dilakukan EDS seperti pada Tabel 4.7.

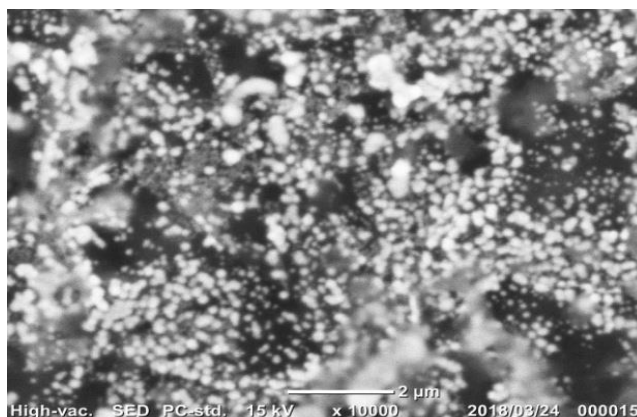


Gambar 4. 36 SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD setelah digunakan untuk deteksi akrilamida

Tabel 4. 8 EDS Hb/Pt/BDD setelah digunakan untuk deteksi akrilamida

Element	Massa %	Nomor atom %
B	0,41	2,64
C	10,96	63,49
O	0,55	2,39
Fe	0,09	0,11
Pt	87,98	31,37

Pada Tabel 4.8 dapat dilihat hasil dari karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD setelah digunakan untuk deteksi akrilamida menunjukkan bahwa komposisi Fe dalam Hb mengalami penurunan dari yang semula 0.15 % pada elektroda Hb/Pt/BDD yang belum digunakan untuk deteksi akrilamida menjadi 0.09 % setelah elektroda Hb/Pt/BDD digunakan untuk deteksi akrilamida. Namun pengurangan % massa tidak terjadi pada Pt yang ada dipermukaan BDD. pada elektroda Hb/Pt/BDD sebelum digunakan untuk deteksi senyawa akrilamida % massa Pt sebesar 81,27 %. Namun setelah elektroda Hb/Pt/BDD digunakan untuk mendeteksi senyawa akrilamida % massa Pt meningkat menjadi 87.98 %. Fenomena tersebut terjadi diakibatkan N-terminal valin dalam Hb telah berinteraksi dengan akrilamida membentuk *adduct* dan sebagian lagi melarut didalam larutan akrilamida sehingga mengakibatkan Fe pada Hb menjadi berkurang. Sedangkan peningkatan % massa Pt pada permukaan BDD terjadi akibat Hb yang ddrop pada permukaan BDD sebagian melarut dalam larutan akrilamida, sehingga menyibakkan permukaan Pt/BDD yang semula tertutupi oleh Hb. Sehingga ketika dkarakterisasi dengan EDS % massa Pt pada elektroda Hb/Pt/BDD yang telah digunakan untuk deteksi akrilamida menjadi bertambah.



Gambar 4. 37 SEM-EDS elektroda Hb/Pt/BDD setelah dicleaning menggunakan NaClO_4

Penelitian pada tahap ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan penggunaan berulang kali elektroda Hb/Pt/BDD yang dipreparasi dengan metode gabungan

wet-chemical seeding, RTA dan elektrokimia. Selain itu penelitian tahap ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan dari partikel Pt yang telah dimodifikasi pada permukaan elektroda BDD.

Hasil karakterisasi SEM elektroda Hb/Pt/BDD pada Gambar 4.37 terlihat permukaan Hb/Pt/BDD yang semula tertutup oleh Hb menjadi terlepas. Bila dibandingkan dengan Gambar 4.35 dan 4.36 yaitu SEM elektroda Hb/Pt/BDD sebelum dan setelah digunakan untuk deteksi akrilamida terlihat berbeda. Meskipun Hb dapat larut dalam ABS, namun untuk melepaskan atau menghilangkan Hb pada elektroda Pt/BDD yang telah berikatan dengan akrilamida bukanlah suatu yang mudah. Beberapa perlakuan telah dicobakan untuk melepaskan Hb pada elektroda Pt/BDD yang telah berinteraksi dengan Akrilamida yaitu dengan cara menggunakan larutan ABS, H_2SO_4 yang diencerkan hingga yang pekat, dan larutan NaClO_4 . Dari sekian cara yang dilakukan secara kasat mata terlihat penggunaan larutan NaClO_4 yang memiliki potensi mampu menghilangkan Hb pada elektroda Pt/BDD yang telah berinteraksi dengan akrilamida seperti terlihat dari hasil SEM pada Gambar 4.37. hasil tersebut dikonfirmasi dengan EDS seperti pada data Tabel 4.9.

Tabel 4. 9 EDS Hb/Pt/BDD setelah dicleaning dengan NaClO_4

Element	Massa %	Nomor atom %
B	0,30	2,28
C	8,25	55,76
O	0,84	4,26
Fe	0,00	0,01
Pt	90,60	37,69

Tabel 4.9 merupakan hasil dari karakterisasi elektroda Hb/Pt/BDD yang telah digunakan untuk deteksi akrilamida kemudian dibersihkan dengan menggunakan larutan NaClO_4 yang kemudian diberikan potensial dengan harapan mampu melepaskan Hb pada elektroda Pt/BDD yang telah berinteraksi dengan akrilamida. Tabel 4.9 menunjukkan bahwa komposisi % massa Fe dalam Hb menjadi 0,00 % sedangkan untuk % massa Pt mengalami peningkatan menjadi 90.60 %. Hal tersebut terjadi karena fungsi dari penggunaan potensial

oksidasi yang tinggi dapat membuat Hb lepas sehingga penutup permukaan Pt/BDD menjadi berkurang yang menyebabkan Pt pada permukaan BDD bertambah.

Dengan adanya penelitian ini, membuktikan bahwa sonikasi dan perlakuan cleaning menggunakan NaClO_4 yang diberikan potensial pada elektroda Hb/Pt/BDD tidak melepaskan Pt yang telah dimodifikasi pada permukaan BDD. dengan kata lain Pt yang termodifikasi pada permukaan BDD sangat stabil. Sehingga ada kemungkinan elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida dapat digunakan berulang kali dengan cara dibersihkan dengan larutan NaClO_4 dan kemudian didrop menggunakan Hb dan seterusnya.

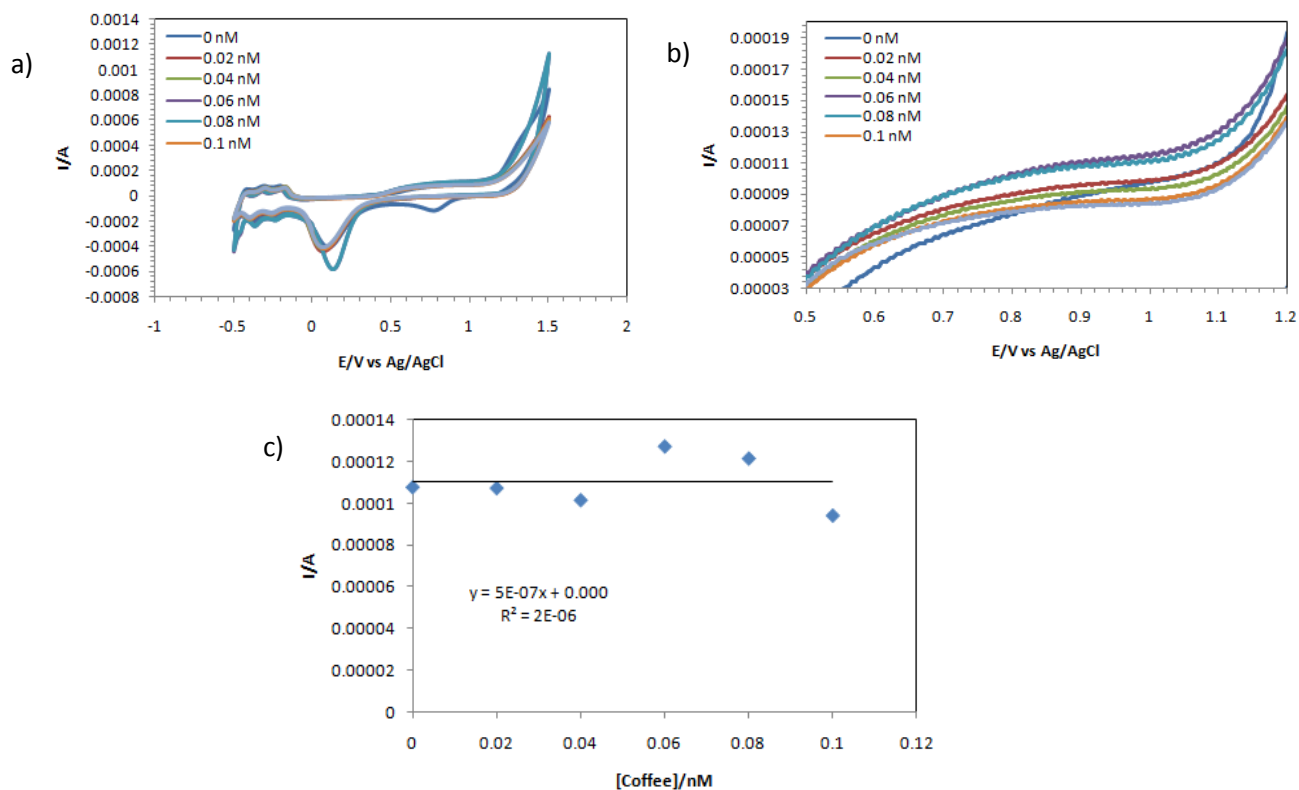
4.13 Uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi

Sampel kopi yang dideteksi dalam pengujian akrilamida adalah sampel kopi Luwak Toraja Indonesia dalam bentuk biji kopi yang sudah diolah kemudian dihancurkan menjadi bubuk. Dalam penelitian ini, mencoba menganalisis sampel kopi Luwak Toraja tanpa perlakuan ekstraksi lebih lanjut dengan tujuan mencoba cara yang lebih sederhana dalam perlakuan sampel kemudian dikarakterisasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD secara elektrokimia. Cara sederhana yang digunakan dalam perlakuan sampel kopi Luwak Toraja ini yaitu dengan cara melarutkan dalam aquabides tanpa ekstraksi yang rumit.

1 gr sampel bubuk kopi Luwak Toraja dilarutkan dalam 10 ml air yang kemudian dididihkan. Larutan kopi Luwak Toraja tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan Kopi Luwak Toraja yang sudah disaring kemudian ambil 1 ml kemudian diencerkan hingga 50 ml dalam larutan ABS. Larutan Kopi luwak Toraja tersebut kemudian dimasukkan dalam botol sampel dengan variasi konsentrasi spike akrilamida (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, dan 0.1) nM, kemudian dikarakterisasi menggunakan sensor Hb/Pt/BDD.

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi Luwak Toraja yang mengandung akrilamida ditunjukkan pada Gambar 4.38 dalam bentuk grafik linearitas. Hasil pengukuran sampel kopi Luwak Toraja pada berbagai variasi konsentrasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD diperoleh nilai linearitas $R^2 \times 10^{-6}$. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa elektroda Hb/Pt/BDD tidak dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa akrilamida dalam sampel kopi Luwak Toraja. Penurunan puncak arus

oksidasi pada voltammogram yang diharapkan terjadi, kenyataannya tidak terjadi. Hal tersebut disebabkan oleh tingginya kandungan akrilamida dalam sampel kopi Luwak Toraja yang diteliti yaitu sebesar 15,56 ppb. Sehingga kemampuan deteksi elektroda Hb/Pt/BDD yang hanya memiliki rentang (0.01 - 0,1) nM tidak dapat mendeteksi secara keseluruhan dari konsentrasi akrilamida yang sesungguhnya dikarenakan kondisi yang sangat jenuh. Dengan adanya fenomena tersebut, maka untuk menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD sebagai sensor akrilamida maka sampel kopi Luwak Toraja harus diencerkan sebelum diujikan pada elektroda Hb/Pt/BDD.



Gambar 4. 38 (a) dan (c) voltammogram dan (c) grafik linearitas elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida pada sampel kopi Luwak Toraja dalam ABS 0.2 M pH 4.8 scanrate 100 mV/s

Pada penelitian sebelumnya dalam uji kemampuan elektroda Hb/Pt/BDD terhadap sampel kopi tidak berhasil dilakukan. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi akrilamida dalam sampel kopi terlalu tinggi, sedangkan range deteksi elektroda Hb/Pt/BDD berada pada range (0.01-0.1 nM). Oleh karena itu, dalam uji kemampuan elektroda Hb/Pt/BDD terhadap sampel kopi kali ini dilakukan tanpa menggunakan spike dan diencerkan.

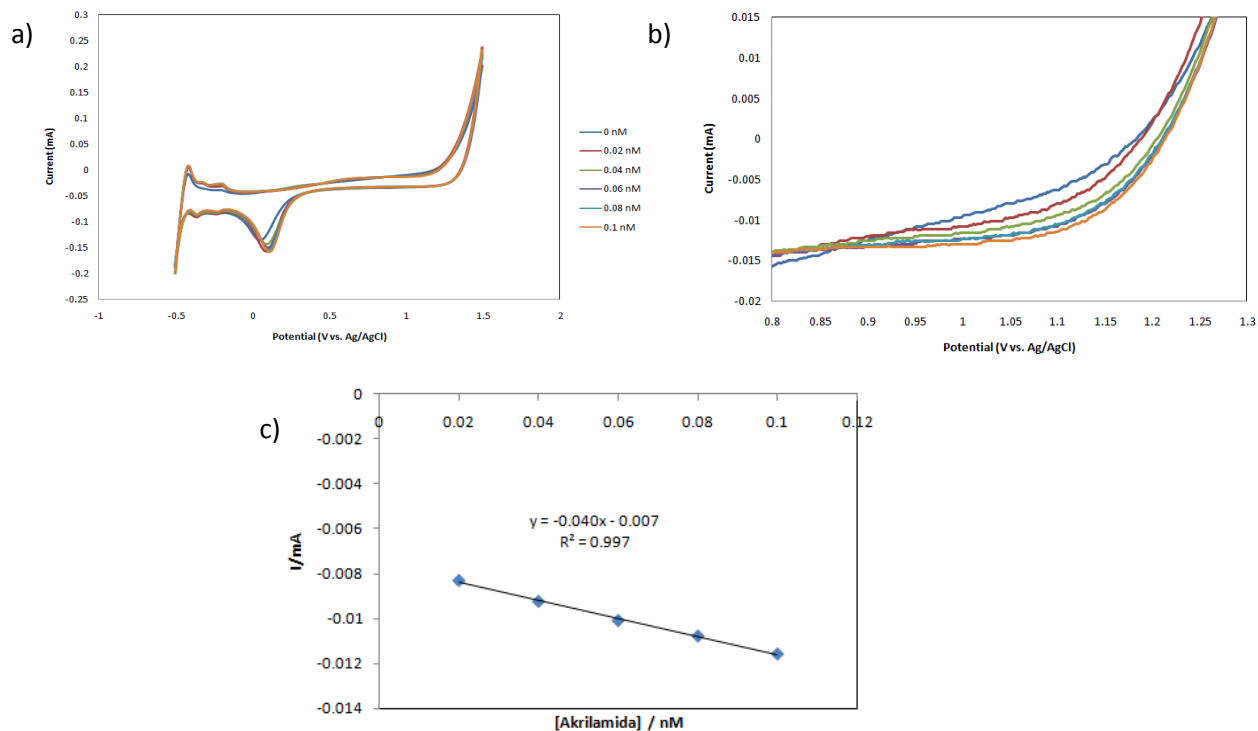
Masih dengan menggunakan sampel kopi yang sama dan cara yang sama seperti penelitian sebelumnya, sampel kopi yang dideteksi dalam pengujian akrilamida adalah sampel kopi Luwak Toraja Indonesia dalam bentuk biji kopi yang sudah diolah kemudian dihancurkan menjadi bubuk. Dalam penelitian ini, mencoba menganalisis sampel kopi Luwak Toraja tanpa perlakuan ekstraksi lebih lanjut dengan tujuan mencoba cara yang lebih sederhana dalam perlakuan sampel kemudian dikarakterisasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD secara elektrokimia. Cara sederhana yang digunakan dalam perlakuan sampel kopi Luwak Toraja ini yaitu dengan cara melarutkan dalam aquabides tanpa ekstraksi yang rumit.

1 gr sampel bubuk kopi Luwak Toraja dilarutkan dalam 10 ml air yang kemudian dididihkan. Larutan kopi Luwak Toraja tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan Kopi Luwak Toraja yang sudah disaring kemudian ambil 1 ml kemudian dilakukan pengenceran hingga 10.000 kali dalam larutan ABS. Larutan Kopi luwak Toraja tersebut dikarakterisasi menggunakan elektroda Hb/Pt/BDD seperti pada Gambar 4.42 dengan variasi deret standar akrilamida (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, dan 0.1) nM.

Hasil uji kinerja elektroda Hb/Pt/BDD pada sampel kopi luwak toraja ditunjukkan pada Gambar 4.39 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi akrilamida semakin menurunkan puncak arus oksidasi. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi antara gugus amino N-termianl valin dari struktur Hb dengan senyawa akrilamida.

Acrylamide membentuk *adducts* dengan Hb sebagai hasil dari reaksi antara gugus -NH₂ dari valine N-terminal Hb. Pembentukan *adduct* ini terkait dengan perubahan struktur Hb. Perubahan struktur ini mungkin yang bertanggung jawab untuk penurunan aksesibilitas pusat redoks-aktif Hb bergerak di permukaan elektroda, yang menyebabkan penurunan arus. Adsorpsi Hb-akrilamida mengubah elektroaktivitas Hb dan respon yang dihasilkan

dari biosensor. Investigasi Pt/BDD elektroda dimodifikasi dengan Hb ditampilkan reaksi elektrokimia kuasi-reversibel $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$.



Gambar 4. 39 (a) dan (c) voltammogram dan (c) grafik linearitas elektroda Hb/Pt/BDD hasil deteksi Akrilamida pada sampel kopi Luwak Toraja dalam ABS 0.2 M pH 4.8 *scanrate* 100 mV/s setelah pengenceran 10.000 kali.

Biosensor ini menunjukkan respons elektrokimia terhadap akrilamida dengan rentang linier 0,02 nM hingga 0,1 nM. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penurunan arus dapat diperlakukan sebagai sinyal analitik dan dapat menjadi dasar untuk biosensor yang sangat selektif dan sensitif untuk penentuan akrilamida. Namun dalam penelitian ini rentang yang diperoleh cukup kecil yaitu 0.02 nM – 0,1 nM. Hal ini mungkin disebabkan dari penggunaan logam Pt yang dimodifikasi pada elektroda BDD bukan dalam bentuk nanopartikel, walaupun diperoleh Pt yang stabil pada permukaan BDD namun rentang pengukuran yang diperoleh sangat sempit atau kecil.

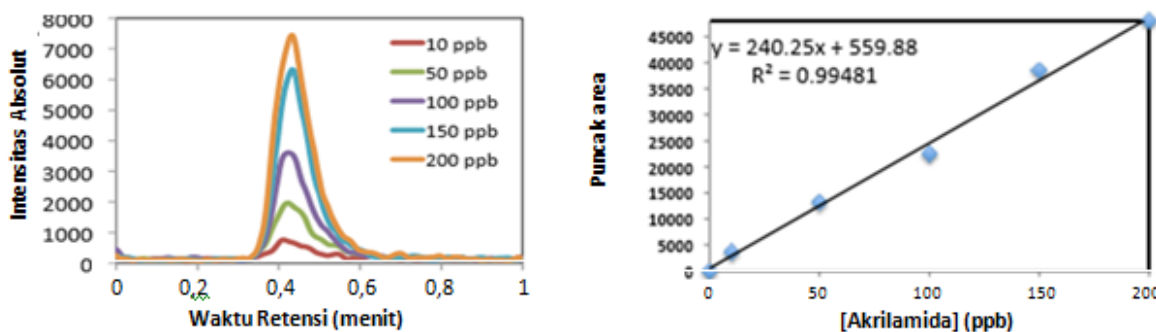
Perhitungan menggunakan kurva kalibrasi standar akrilamida dengan CV menunjukkan kadar akrilamida dalam sampel kopi sebesar 15,047 ppb (arus oksidasi). Hasil pengukuran secara elektrokimia tidak berbeda secara signifikan dengan hasil yang diperoleh dari analisis LCMS/MS.

4.14 Metode standar LCMS/MS pada sampel kopi

Sampel kopi yang dideteksi dalam pengujian akrilamida adalah sampel kopi Luwak Toraja Indonesia dalam bentuk biji kopi yang sudah diolah kemudian dihancurkan menjadi bubuk. Dalam penelitian ini, mencoba menganalisis sampel kopi Luwak Toraja tanpa perlakuan ekstraksi lebih lanjut dengan tujuan mencoba cara yang lebih sederhana dalam perlakuan sampel sebelum dikarakterisasi menggunakan LC-MS/MS. Cara sederhana yang digunakan dalam perlakuan sampel kopi Luwak Toraja ini yaitu dengan cara melarutkan dalam aquabides tanpa ekstraksi yang rumit.

1 gr sampel bubuk kopi Luwak Toraja dilarutkan dalam 10 ml air yang kemudian dididihkan. Larutan kopi Luwak Toraja tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan Kopi Luwak Toraja yang sudah disaring kemudian ambil 1 ml kemudian diencerkan hingga 50 ml dalam larutan 0.1 % larutan Asam format. Larutan Kopi luwak Toraja tersebut kemudian dimasukkan dalam botol sampel dengan variasi konsentrasi spike larutan akrilamida (10, 50, 100, 150, dan 200) ppb, kemudian dikarakterisasi menggunakan LC-MS/MS.

LC-MS/MS dikondisikan dalam fase gerak asetronitril dan aquabides waktu analisis yang dibutuhkan 2 menit dengan laju alir 0,4 ml/menit puncak terdeteksi pada 71,90. Pada Gambar 4.40 diperoleh hasil deteksi konsentrasi akrilamida dalam sampel kopi Luwak Toraja sebesar 15,56 ppb, dengan kondisi analisis seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.11.



Gambar 4. 40 LC-MS/MS pada sampel kopi Luwak Toraja

Tabel 4.10 menunjukkan hasil pengukuran kadar akrilamida dalam sampel kopi secara elektrokimia menggunakan CV tidak berbeda secara signifikan dengan hasil yang diperoleh dari analisis LCMS/MS.

Tabel 4. 10 Perbandingan hasil yang diperoleh dengan mengukur LCMS/MS dan CV

Metode	Kadar Akrylamida (ppb)
LCMS/MS	15,56
CV	15,047

Tabel 4.11 Analisis dalam sampel kopi

Sampel	Waktu retensi	Akrylamida 1	Akrylamida 2	Akrylamida 3	Rata-rata	Konsentrasi (ppb)
kopi	0,429	4935	4177	3780	4297,33	15,56

BAB V

KESIMPULAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. BDD termodifikasi Pt lebih stabil telah berhasil dilakukan menggunakan rangkaian teknik *wet chemical seeding*, elektrodeposisi, *rapid thermal annealing*, *refresh* dan aktivasi dengan % massa sebanyak 15,4 % dan ukuran partikel Pt rata-rata sekitar 200 nm pada kondisi optimum perbandingan NaBH_4 dan larutan Pt 1:4, waktu elektrodeposisi adalah (1,2,3,4,5) menit secara bertahap.
2. Elektroda Hb-Pt-BDD mampu mendeteksi AA dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan elektroda sebelumnya dengan range (0,0015-0,36) ppb. Pada kondisi optimum elektrolit 0.2 M ABS pH asam yaitu 4,8 dengan konsentrasi Hb yang digunakan 0,15 mM, konsentrasi elektromediator partikel logam Pt 1mM, puncak arus oksidasi 0,109 mA , puncak potensial oksidasi 1,024 V dengan waktu interaksi 33 detik.
3. Uji performa elektroda Hb-Pt-BDD pada sampel akrilamida standar telah terbukti berhasil dengan hasil R^2 sebesar 0,996 dan LOD mencapai 0.021909 nM atau 0,0015 ppb dengan standar deviasi 0,00111. Elektroda Hb-Pt-BDD mampu mendeteksi akrilamida dalam sampel kopi Luwak Toraja (15,054 ppb) dengan hasil yang tidak berbeda secara signifikan bila digunakan metode LC-MS/MS (15,56 ppb).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Melakukan variasi konsentrasi elektromediator (logam Pt) yang akan digunakan sebagai modifikasi pada BDD.

2. Melakukan modifikasi Hb dengan area yang lebih luas.

CAPAIAN LUARAN PENELITIAN

Nama : Retno Wulandari, S.Si, M.Sc
 NPM : 1506709403
 Program Studi : S3 Kimia
 Fakultas : MIPA
 Perguruan Tinggi : Universitas Indonesia
 Judul : Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin menggunakan *Boron Doped Diamond* termodifikasi Nanopartikel Logam

Luaran yang direncanakan dan pencapaian tertulis dalam Proposal awal :

No.	Luaran yang Direncanakan	Capaian
1.	Pembicara pada pertemuan Ilmiah (Seminar)	Seminar
2.	Publikasi Jurnal Internasional Physical Chemistry Chemical Physics Royal Society of Chemistry	Publikasi

1. PUBLIKASI ILMIAH

	Keterangan
Publikasi Jurnal Internasional Physical Chemistry Chemical Physics Royal Society of Chemistry “Modification of boron-doped diamond by platinum to increase the stability and sensitivity of haemoglobin-based acrylamide sensors”	Submitted manuscript ID is: CP-ART-10-2018-006508 https://mc.manuscriptcentral.com/pccp?URL_MASK=d1936f7174ae4d969c73381338a01f68

2. BUKU AJAR

	Keterangan

3. PEMBICARA PADA PERTEMUAN ILMIAH (SEMINAR/SIMPOSIUM)

	Nasional	Internasional
Pertemuan Ilmiah ke-1.		
Judul Makalah		Hemoglobin-platinum nanoparticles modified on boron doped diamond surface for acrylamide detection

Nama Pertemuan Ilmiah		The 2 nd International Symposium on Current Progress in Fuctional Materials 2017 (ISCPFM 2017)
Tempat Pelaksanaan		The Sakala Resort, Tanjung Benoa, Bali-Indonesia
Waktu Pelaksanaan		8-9 November 2017
Jenis Pertemuan		Internasional
Sudah dilaksanakan		Sudah dilaksanakan
Pertemuan Ilmiah ke-2.		
Judul Makalah		A Novel Modified Boron-Doped Diamond Electrode with High Stability Electrochemical Biosensor: Application for Determination of Acrylamide in Coffee Samples
Nama Pertemuan Ilmiah		2 nd BASIC AND APPLIED SCIENCES INTERDISCIPLINARY CONFERENCE 2018
Tempat Pelaksanaan		FMIPA UI, Depok-Indonesia
Waktu Pelaksanaan		3-4 Agustus 2018
Jenis Pertemuan		Internasional
Sudah dilaksanakan		Sudah dilaksanakan

1. Sensors and Materials Vol. 31, No. 4(1) has been published 11 April 2019 manuscript ID : SS-2192 “Modification of boron-doped diamond by platinum to increase the stability and sensitivity of hemoglobin-based acrylamide sensors” (<https://myukk.org/SM2017/index.php?theme=instruction>)
2. Sebagai Invited Speaker “Application technology nanomaterial for sensor” Kimia MIPA UNNES 11 November 2018
3. Visiting Scientist di Keio University, Japan kegiatan : Visiting Research Student 1 Maret 2018- 12 Mei 2018
4. Penyaji poster terbaik Ristekdikti hibah disertasi doktor tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J.S., Castle, L., Clarke, D.B., Lloyd, A.S., Philo, M.R., and Speck, D.R, 2002, Verification of the findings of acrylamide in heated foods, *Food Additives and Contaminants*, 19(12) 1116-1124.
- Andrzejewski, D., Roach, J., Gay, M., Musser, S, 2004, Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS, *J. Agric. Food Chem*, 52 (1996–2002).
- Batra, B., Lata, S., and Pundir, C.S, 2013, Construction of an improved amperometric acrylamide biosensor based on hemoglobin immobilized onto carboxylated multi-walled carbon nanotubes/iron oxide nanoparticles/chitosan composite film, *Bioprocess Biosyst Eng*, 36 (1591-1599).
- Batra, B., and Pundir, C.S, 2016, *Acrylamide in Food*, Elsevier Inc.
- Batra, B., Lata, S., Sharma, M., and Pundir, C.S, 2013, An acrylamide biosensor based on immobilization of hemoglobin onto multiwalled carbon nanotube/copper nanoparticle/polyaniline hybrid film, *J. Ab*, 433 (210-217).
- Baum, J, L, R., Jones, R, L., Manning, T, J., Nienow, J., Phillips, D, 2012, Hemoglobin aggregates studied under static and dynamic conditions involving the formation of nanobacteria-like structures, *J.Acta Pharm*, 62 (201-209).
- Becalski, A., Lau, B.P.Y., Lewis, D., Seaman, S.W., Hayward, S., Sahagian, M., Ramesh, M and Leclerc, Y, 2004, Acrylamide in French Fries: Influence of Free Amino Acids and Sugars, *J. Agric. Food Chem*, 52, (3801–3806).
- Bortolomeazzi, R., Munari, M., Anese, M., & Verardo, G, 2012, Rapid mixed mode solid phase extraction method for the determination of acrylamide in roasted coffee by HPLC-MS/MS, *Food Chemistry*, 135(4), 2687-2693.
- Burley, V.J., Greenwood, D.C., Hepworth, S.J, 2010, Dietary acrylamide intake and risk of breast cancer in the UK women's cohort, *British Journal of Cancer*, 103 (11), 1749–1754.
- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Acar, O.C, 2009, Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Res. Int*, 42 (1295–302).

- Castle, L., Camposn, M.-J., and Gilbert, J, 1991, Determination of Acrylamide Monomer in Hydroponically Grown Tomato Fruits by Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *J.Sci Food Agric*, 54, (549-555).
- Chen, F., Yuan, Y., Liu, J., Zhao, G., and Hu, X, 2008, Survey of acrylamide levels in Chinese foods, *Food Additives and Contaminants: Part B*, 1(2), 85-92.
- Cheng, W.-C., Kao, Y.-M., Shih, D.Y.-C., Chou, S.-S., and Yeh, A.-I, 2009, Validation of an Improved LC/MS/MS Method for Acrylamide Analysis in Foods, *Journal of Food and Drug Analysis*, 17(3), 190-197.
- Chiku, M., Ivandini, T.A., Kamiya, A., Fujishima, A., and Einaga, Y, 2008, Direct electrochemical oxidation of proteins at conductive diamond electrodes, *J. Jechem*, 612 (201-207).
- Claeys, W.L., De Vleeschouwer, K., & Hendrickx, M.E, 2005, Kinetics of acrylamide formation and elimination during heating of an asparagine-sugar model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 9999-10005.
- CRC Handbook of Chemistry and Physics, 74th ed., p. 8-31.
- Culková, E., Tomčík, P., Švorc, Ľ., Cinková, K., Chomisteková, Z., Durdiak, J., Rievaj, M., and Bustin, D, 2014, Indirect Voltammetric Sensing Platforms for Fluoride Detection on Boron-Doped Diamond Electrode Mediated via $[\text{FeF}_6]^{3-}$ and $[\text{CeF}_6]^{2-}$ Complexes Formation, *J. Electacta*, 148 (317-324).
- Delatour, T., Perisset, A., Goldmann, T., Riediker, S., Stadler, R, 2004, Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy, *J. Agric. Food Chem*, 52 (4625–31).
- De Vleeschouwer, K., Van der Plancken, I., Van Loey, A., and Hendrickx, M.E, 2010, The effect of high pressure-high temperature processing condition on acrylamide formation and other maillard reaction compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11740-11748.
- De Vleeschouwer, K., Plancken, I.V.d., Van Loey, A., and Hendrickx, M.E, 2007, Kinetics of acrylamide formation/elimination reactions as affected by water activity, *Biotechnology Progress*, 23(3), 722-728.
- Dreyer, D.R., Park, S., Bielawski, C.W., and Ruoff, R.S, 2009, The chemistry of graphene oxide, *Chem. Soc. Rev*, 39 (228-240).

- Einaga, Y, 2010, Diamond electrodes for electrochemical analysis, *J. Appl. Electrochem*, 40 (1807-1816).
- Erkekoglu, P., and Baydar, T, 2010, Toxicity of acrylamide and evaluation of its exposure in baby foods. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 323-333.
- Fazendeiro, M.S.P.P, 2013, DNA damage induced by acrylamide: Role of genetic polymorphisms in DNA damage levels (pp. 35e47).
- Friedman, M, 2003, Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review, *J. Agric. Food. Chem*, 51 (4504-4526).
- Fürner, M., Wild, C., and Koidl, P, 1998, Novel microwave plasma reactor for diamond synthesis, *Appl. Phys. Lett*, vol.72 (1148-1151).
- F. P. Bundy, H. T. Hall, H. M. Strong and R. H. Wentorf, *Nature*, 1955, 176, 51–55.
- Gao, F., Yang, N., and Nebel, C.E, 2013, Highly stable platinum nanoparticles on diamond, *J.electacta*, 112 (493-499).
- Gao, F., Yang, N., Smirnov, W., Obloh, H., Nebel, C.E, 2013, Size-controllable and homogeneous platinum nanoparticles on diamond using wet chemically assisted electrodeposition, *J.electacta*, 90 (445-451).
- Garabagiu, S., and Mihailescu, G, 2011, Simple hemoglobin-gold nanoparticles modified electrode for the amperometric detection of acrylamide, *J. Jelechem*, 659 (196-200).
- Gökmen, V., Şenyuva, H.Z, 2006, Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating., *Food Chemistry*, 99(2), 238-243.
- Granby, K and Fagt, S, 2004, Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee, *j.aca*, 520 (177–182).
- Gu, H.-Y., Yu, A.-M., and Chen, H. -Y, 2001, Direct electron transfer and characterization of hemoglobin immobilized on a Au colloid-cysteamine-modified gold electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 516 (119-126).
- Halford, N.G., Muttucumaru, N., Powers, S.J., Gillatt, P.N., Hartley, L., Elmore, J.S., et al. 2012, Concentrations of free amino acids and sugars in nine potato varieties: effects of storage and relationship with acrylamide formation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 12044-12055.
- Harahap, Y, 2006, Pembentukan akrilamida dalam makanan dan analisisnya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, III (107-116).

- Hogervorst, J.G.F., Baars, B.J., Schouten, L.J., Konings, E.J.M., Goldbohm, R.A., and van den Brandt, P.A., 2010, The carcinogenicity of dietary acrylamide intake: a comparative discussion of epidemiological and experimental animal research. *Critical Reviews in Toxicology*, 40(6), 485-512.
- Hoenicke, K., Gatermann, R., Harder, W., and Hartig, L, 2004, Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography–tandem mass spectrometry and gas chromatography tandem mass spectrometry, *j.aca*, 520 (207–215).
- Hoffmann, R., Kriele, A., Obloh, H., Hees, J., and Wolfer, M, 2010, Electrochemical hydrogen termination of boron-doped diamond, *Appl. Phys. Lett*, 97 (1-3).
- Hoffmann, R., Obloh, H., Tokuda, N., Yang, N., and Nebel, C.E, 2011, Fractional Surface Termination of Diamond by Electrochemical Oxidation, *J. Langmuir*, 28 (47-50).
- Hu, Q., Xu, X., Fu, Y., and Li, Y, 2015, Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed food: A review, *J. Foodcont*, 56 (135-146).
- Huang, Y., Wu, K., Liou, S., Uang, S., Chen, C., Shih, W, 2011, Biological monitoring for occupational acrylamide exposure from acrylamide production workers, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 84(3), 303-313.
- L. A. Hutton, J. G. Iacobini, E. Bitziou, R. B. Channon, M. E. Newton and J. V. Macpherson, *Anal. Chem.*, 2013, 85, 7230–7240.
- Inoue, K., Yoshimura, Y., and Nakazawa, H, 2003, Development of High-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Mass Spectrometry with Size-Exclusion Chromatography for Determination of Acrylamide in Fried Foods, *JLC*, 26(12), 1877–1884.
- Ivandini, T.A., Wicaksono, W.P., Saepudin, E., Rismetov, B., and Einaga, Y, 2014, Anodic stripping voltammetry of gold nanoparticles at boron-doped diamond electrodes and its application in immunochromatographic strip tests, *J.Talanta*, 134 (136-143).
- Ivandini, T.A., Yamada, D., Watanabe, T., Matsuura, H., Nakano, N., Fujishima, A., and Einaga, Y, 2010, Development of amperometric arsine gas sensor using gold-modified diamond electrodes, *J. Jelechem*, 645 (58-63).
- JECFA, 2011, Evaluation of certain contaminants in food, In Seventy-second report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives, http://whqlibdoc.Who.Int/trs/who_trs_959_eng.Pdf.

- Jezussek, M., And Schieberle, P, 2003, A New LC/MS-Method for the Quantitation of Acrylamide Based on a Stable Isotope Dilution Assay and Derivatization with 2-Mercaptobenzoic Acid. Comparison with Two GC/MS Methods, *J. Agric. Food Chem*, 51 (7866–7871).
- Jiang, L., Hu, J., and Foord, J.S, 2015, Electroanalysis of Hydrogen Peroxide at Boron Doped Diamond Electrode Modified by Silver Nanoparticles and Haemoglobin, *J. Electacta*, 176 (488-496).
- Karlsson, H, L., Cronholm, P., Hedberg, Y., Tornberg, M., Battice, L, D., Svedhem, S., Wallinder, I, O, 2013, Cell membrane damage and protein interaction induced by copper containing nanoparticles-importance of the metal release process, *Toxicology*, 313 (59-69)
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C., and Soltanizadeh, N, 2011, Acrylamide in foods: chemistry and analysis. A review, *Food and Bioprocess Technology*, 4(3), 340-363.
- Kim, P., Joo, J.B., Kim, W., Kim, J., Song, I.K., Yi, J, 2006, NaBH₄-assisted ethylene glycol reduction for preparation of carbon-supported Pt catalyst for methanol electrooxidation, *J. of Power Sources*, 160 (987).
- Kondo, T., Niwano, Y., Tamura, A., Imai, J., Honda, K., Einaga, Y., Tryk, D.A., Fujishima, A., and Kawai, T, 2009, Enhanced electrochemical response in oxidative differential pulse voltammetry of dopamine in the presence of ascorbic acid at carboxyl-terminated boron-doped diamond electrodes, *J. Electacta*, 54 (2312-2319).
- Konings, E.J.M., Baars, A.J., van Klaveren, J.D., Spanjer, M.C., Rensen, P.M., Hiemstra, M., van Kooij, J.A and Peters, P.W.J, 2003, Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks, *j.foodchemtox*, 41 (1569–1579).
- Kraft, A, 2007, Doped diamond: a compact review on a new, versatile electrode material, *International Journal of the Electrochemical Society* 2 (355).
- Krajewska, A., Radecki, J., and Radecka, H, 2008, A Voltammetric Biosensor Based on Glassy Carbon Electrodes Modified with Single-Walled Carbon Nanotubes/Hemoglobin for Detection of Acrylamide in Water Extracts from Potato Crips, *Sensors*, 8 (5832-5844).
- Larsson, S.C., Akesson, A., Bergkvist, L., and Wolk, A, 2009, Dietary acrylamide intake and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of men, *European Journal of Cancer*, 45(4), 513–516.

- Lagalante, A.F and Felter, M., 2004, Silylation of Acrylamide for Analysis by Solid-Phase Microextraction/Gas Chromatography/Ion-Trap Mass Spectrometry, *J.Agric.FoodChem.* 52 (3744–3748).
- La-Torre-Riveros, L., Abel-Tatis, E., Méndez-Torres, A.E., Tryk, D.A., Prelas, M., Cabrera, C.R, 2011, Synthesis of platinum and platinum–ruthenium-modified diamond nanoparticles, *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (2997).
- La-Torre-Riveros, L., Guzman-Blas, R., Mendez-Torres, A.E., Prelas, M., Tryk, D.A., Cabrera, C. R, 2012, Diamond nanoparticles as a support for Pt and PtRu catalysts for direct methanol fuel cells, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4 (1134).
- Lee, M.R., Chang, Y.L., and Dou, J, 2007, Determination of acrylamide in food by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–positive chemical ionization tandem mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 582 (19–23).
- Li, M., Zhao, G., Geng, R., and Hu, H, 2008, Facile electrocatalytic redox of hemoglobin by flower-like gold nanoparticles on boron-doped diamond surface, *J. Bioelectrochem.* 74 (217-221).
- Lin, Y., Lagergren, J., & Lu, Y. (2011). Dietary acrylamide intake and risk of esophageal cancer in a population-based case-control study in Sweden. *International Journal of Cancer*, 128(3), 676–681.
- Lineback, D.R., Coughlin, J.R., and Stadler, 2012, Acrylamide in Food: A Review of the Science and Future Considerations, *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, 3 (15-35).
- Lingnert, H., Grivas, S., Jägerstad, M., Skog, K., Törnqvist, and Åman, P, 2002, Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of food, *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46 (4) (159-172).
- Liu, R., Li, S., Yu, X., Zhang, G., Zhang, S., Yao, J, 2012, Facile synthesis of Au-nanoparticle/polyoxometalate/graphene tricomponent nanohybrids: an enzyme-free electrochemical biosensor for hydrogen peroxide, *Small*, 8(9), 1398-1406.
- Liu, J., Zhao, G., Yuan, Y., Chen, F., and Hu, X, 2008, Quantitative analysis of acrylamide in tea by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *j.foodchem*, 108 (760–767).
- Luong, J.H.T., Male, K.B., and Glennon, J.D, 2009, Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications, *Analyst*, 134 (1965-1979).

- Lyon, F, 1994, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, *Some Industrial Chemicals*, 60, (389-433).
- Ma, X., Liu, X., Xiao, H., Li, G, 2005, Direct electrochemistry and electrocatalysis of haemoglobin in poly-3-hydroxybutyrate membrane, *J. Biosens. Bioelectron*, 20 (1836-1842).
- Macpherson, J.V., 2015, A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research, *Phys. Chem. Chem Phys*, 17 (2935-2949).
- Mahato, M., Pal, P., Tah, B., Ghosh, M., Talapatra, G.B, 2011, Study of silver nanoparticle-hemoglobin interaction and composite formation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88 (141-149).
- Mai, L., Xu, X., Han, C., Luo, Y., Xu, L., Wu, Y. A, 2011, Rational synthesis of silver vanadium oxides/polyaniline triaxial nanowires with enhanced electrochemical property. *Nano Letters*, 11(11), 4992-4996.
- McCollister, D.D., Oyen, F., and Rowe, V.K, 1964, Toxicology of acrylamide. *Therapie der Gegenwart*, 103 (172–181).
- Motaghi, M.M., Seyedain Ardebili, M., Honarvar, M., Mehrabani, M., Baghizadeh, A, 2012, Determination of acrylamide in selected types of Iranian breads by SPME technique, *J. Food Biosci. Technol.* 2 (57–64).
- Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., and Dodson, A.T, 2002, Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, 419 (448).
- Nekrassova, O., Lawrence, N.S., and Compton, R.G, 2004, Direct oxidation of haemoglobin at bare boron-doped diamond electrodes, *Analyst*, 101: 10.1039/b406781a.
- Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K., Maitani, T, Determination of acrylamide in food by GC/MS using ¹³C-labeled acylamide as an internal standard, *J. Food Hyg. Soc. Jpn*, 43 (371).
- Niaz, A., Sirajuddin., Shah, A., Bhanger, M.I., Saeed, M., Jamali, M.K., and Arain, M.B, 2008, A new simple sensitive differential pulse polarographic method for the determination of acrylamide in aqueous solution, *J. Talanta*, 74 (1608-1614).
- Notardonato, I., Avino, P., Centola, A., Cinelli, G., and Russo, M.V, 2013, Validation of a novel derivatization method for GC-ECD determination of acrylamide in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(18), 6137-6141.

- Obón-Santacana, M., Slimani, N., Lujan-Barroso, L, 2013, Dietary intake of acrylamide and pancreatic cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) cohort, *Annals of Oncology*, 24(10), 2645–2651.
- Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Yada, H., Ishizaka, M., Kobayashi, H., and Yoshida, M, 2003, Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods, *J. Food Additives and Contaminants*, 20 (3) 215–220.
- Olesen, P.T., Olsen, A., Frandsen, H., Frederiksen, K., Overvad, K., and Tjønneland, A, 2008, Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish diet, cancer and health study, *International Journal of Cancer*, 122(9), 2094–2100.
- Oracz, J., Nebesny, E., and Żyżelewicz, D, 2011, New trends in quantification of acrylamide in food products, *Talanta*, 86 (23-34).
- Panizza, M., Brillas, E., and Comninellis, C, 2008, Application of Boron-Doped Diamond for Waste Water Treatment, *J. Environ. Eng. Manage*, 18 (3) (139-153).
- Panizza, M., and Cerisola, G, 2005, Application of diamond electrodes to electrochemical processes, *J. Electacta*, 51 (191-199).
- Pedersen, J.R., and Olsson, J.O, 2003, Soxhlet extraction of acrylamide from potato chips, *Analyst*, 128 (332-334).
- Pelucchi, C., La Vecchia, C., Bosetti, C., Boyle, P., Boffetta, P, 2011, Exposure to acrylamide and human cancer: a review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann. Oncol*, 22 (1487–99).
- Pennisi, M., Malaguarnera, G., Puglisi, V., Vinciguerra, L., Vacante, M., and Malaguarnera, M, 2013, Neurotoxicity of acrylamide in exposed workers, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9), 3843-3854.
- Pérez, H.L., and Golkar, S.O, 2003, A sensitive gas chromatographic–tandem mass spectrometric method for detection of alkylating agents in water: Application to acrylamide in drinking water, coffee and snuff, *Analyst*, 128 (1033–1036).
- Pittet, A., Périsset, A., and Oberson, J.-M, 2004, Trace level determination of acrylamide in cereal-based foods by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1035(1), 123-130.

- Riboldi, B.P., Vinhas, Á.M., and Moreira, J.D, 2014, Risk of dietary acrylamide exposure: A systematic review, *J. Foodchem*, 157 (310-322).
- Riediker, S., Stadler, R.H, 2003, Analysis of acrylamide in food by isotope-dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr, A* 1020, (121–130).
- Roach, J., Andrzejewski, D., Gay, M., Nortrup, D., Musser, S, 2003, Rugged LC-MS/MS survey for acrylamide in foods, *J. Agric. Food Chem.* 51 (7547–7554).
- Robarge, T., Philips, E., Conoley, M, 2011, Optimizing the Analysis of Acrylamide in Food by Quadrupole GC-MS, Application Note #9195. Austin, TX: Thermo Electron Corp.
http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Articles/articlesFile_18995.pdf
- Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M.-I., Bauwens, I., Blank, I, 2005, Acrylamide formation from asparagine under low moisture Maillard reaction conditions. 2. Crystalline vs amorphous model systems, *J. Agric. Food Chem*, 53 (4628-4632).
- Rosén, J., and Hellenäs, K.-E, 2002, Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Analyst*, 127 (880–882).
- Rudén, C, 2004, Acrylamide and cancer risk—expert risk assessments and the public debate, *J.fct*, 42 (335–349).
- Rusling, J.F., and Nassar, A.E.F, 1993, Enhanced electron transfer for myoglobin in surfactant films on electrodes, *J. Am. Chem. Soc*, 115 (11891-11897).
- Scheller, F.W., Bistolas, N., Liu, S., Jänchen, M., Katterle, M., Wollenberger, U, 2005, Thirty years of haemoglobin electrochemistry. *J.Adv. Colloid Interf. Sci*, 116 (1-3), 111-120.
- Soares, C.M.D., Alves, R.C., Casal, S., Oliveira, M., and Fernandes, J.O, 2010, Development and validation of a matrix solid-phase dispersion method to determine acrylamide in coffee and coffee substitutes, *Journal of Food Science*, 75(3), T57-T63.
- Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A, Robert, M.-C., and Riediker, S, 2002, Acrylamide from Maillard reaction products, *Nature*, 419 (6906), (449-450).

- Stadler, R.H., Verzeegnassi, L., Varga, N., Grigorov, M., Studer, A., Riediker, S., and Schilter, B, 2003, Formation of Vinylogous Compounds in Model Maillard Reaction Systems, *Chem. Res. Toxicol*, 16 (1242-1250).
- Stobiecka, A., Radecka, H., and Radecki, J, 2007, Novel voltammetric biosensor for determining acrylamide in food samples, *J. Bios*, 22 (2165-2170).
- Sun, W., Cao, L., Deng, Y., Gong, S., Shi, F., Li, G., and Sun, Z, 2013, Direct electrochemistry with enhanced electrocatalytic activity of hemoglobin in hybrid modified electrodes composed of graphene and multi-walled carbon nanotubes, *J. Aca*, 781 (41-47).
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., and Törnqvist, M, 2000, Acrylamide: A Cooking Carcinogen, *J. Chem. Res. Toxicol*, 13 (517-522).
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., and Törnqvist, M, 2002, Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs, *J. Agric. Food Chem*, 50 (4998-5006).
- Tateo, F., Bononi, M., dan Gallone, F, 2010, Acrylamide content in potato chips on the Italian market determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 629–634.
- Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., Berkels, R and Schömig, E, 2004, Influence of Processing Parameters on Acrylamide Formation during Frying of Potatoes, *J. Agric. Food Chem*, 52 (2735–2739).
- Tekkeli, S.E.K., Önal, C., and Önal, A, 2012, A review of current methods for the determination of acrylamide in food products. *Food Analytical Methods*, 5(1), 29-39.
- The Merck Index, 11th ed., p.1358, Entry# 8537.
- Tian, R., Rao, T.N., Einaga, Y., and Zhi, J, 2006, Construction of Two-Dimensional Arrays Gold Nanoparticles Monolayer onto Boron-Doped Diamond Electrode Surfaces, *Chem. Mater*, 18 (939-945).
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., and Taniguchi, H, 2003, Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods, *J.FoodHyg.Soc.Japan*, 45(2), 95-99.

- Tyszczuk-Rotko, K., Bęczkowska, I., Nosal-Wiercińska, A, 2014, Simple, selective and sensitive voltammetric method for the determination of herbicide (paraquat) using a bare boron-doped diamond electrode, *J. Diamond*, 50 (86-90).
- Umam, K., 2016, Preparasi *Boron Doped Diamond* Termodifikasi Hemoglobin sebagai Sensor Akrilamida, *Skripsi*, Program Studi Kimia, MIPA, Universitas Indonesia, Depok.
- Wang, H., Lee, A.W.M., Shuang, S., Choic, M.M.F, 2008, SPE/HPLC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods, *j.microc*, 89 (90–97).
- Wahyuni, W.T., Ivandini, T.A., Saepudin, E., and Einaga, Y, 2015, Development of neuraminidase detection using gold nanoparticles boron-doped diamond electrodes, *J. Ab*, 497 (68-75).
- Wenzl, T., Calle, B., Gattermann, R., Hoenicke, K., Ulberth, F., and Anklam, E, 2004, Evaluation of the results from an inter-laboratory comparison study of the determination of acrylamide in crispbread and butter cookies, *J.Anal.Bioanal.Chem*, 379 (449–457).
- Wicklund, T., Østlie, H., Lothe, O., Knutsen, S. H., Bråthen, E., and Kita, A, 2006, Acrylamide in potato crisps: the effect of raw material and processing, *LWT-Food Science and Technology*, 39(5), 571-575.
- Wilson, K.M., Bälter, K., Adami, H.O, 2009, Acrylamide exposure measured by food frequency questionnaire and hemoglobin adduct levels and prostate cancer risk in the cancer of the prostate in Sweden study, *International Journal of Cancer*, 124(10), 2384–2390.
- Wilson, K.M., Giovannucci, E., Stampfer, M.J., and Mucci, L. A, 2012, Dietary acrylamide and risk of prostate cancer, *International Journal of Cancer*, 131(2), 479–487.
- Wilson, K.M., Mucci, L.A., Cho, E., Hunter, D.J., Chen, W.Y., and Willett, W.C, 2009, Dietary acrylamide intake and risk of premenopausal breast cancer. *American Journal of Epidemiology*, 169(8), 954–961.
- Xu, L., Zhang, L., Qiao, X., Xu, Z., and Song, J, 2012, Determination of trace acrylamide in potato chip and bread crust based on SPE and HPLC, *Chromatographia*, 75 (269–274).

- Xu, H, Y., Guo, Y, N., Wang, Y., Zau, J., Kang, J, H., Gao, Q., Tan, H, H., and Jagadish, C, 2009, Effects of annealing and substrate orientasi on epitaxial growth of GaAs on Si, *J. Appl. Phys*, 106 (083514) (1-4).
- Yamazaki, K., Isagawa, S., Kibune, N., and Urushiyama, T, 2012, A method for the determination of acrylamide in a broad variety of processed foods by GC-MS using xanthidrol derivatization. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 29(5), 705-715.
- Yang, N., Hoffmann, R., Smirnov, W., Kriele, A., and Nebel, C.E, 2010, Direct electrochemistry of cytochrome c on nanotextured diamond surface, *J. Elecom*, 12 (1218-1221).
- Zargar, B., Sahraie, N.R., and Khoshnam, F, 2009, Catalytic Square-Wave Voltammetric Determination of Acrylamide in Potato Chips, *Analytical Letters*, 42 (1407-1417).
- Zhang, Y., Jiao, J., Cai, Z., Zhang, Y., and Ren, Y, 2007, An improved method validation for rapid determination of acrylamide in foods by ultra-performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1142(2), 194- 198.
- Zhang, Y., Ren, Y., Jiao, J., Li, D., and Zhang, Y, 2011, Ultra high-performance liquid chromatographytandem mass spectrometry for the simultaneous analysis of asparagine, sugars, and acrylamide in Maillard reactions, *Analytical Chemistry*, 83(9), 3297-3304.
- Zhang, Y., Zhang, G., and Zhang, Y, 2005, Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods Review and recent developments, *J. Chroma*, 1075(1), (1-21).
- Zyzak, D.V., Sanders, R.A., Stojanovic, M., Tallmadge, D.H., Eberhart, L.B., Ewald, D.K., Gruber, D.C., Morsch, T.R., Strothers, M.A., Rizzi, G.P., and Villagran, M.D, 2003, Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods, *J. Agric. Food Chem.* 51 (4782-4787).

LAMPIRAN

Lampiran 1 Jadwal Perencanaan Waktu Perkuliahan Dan Penelitian S3 Kimia

NO	Jenis Kegiatan	Tahun 2015/2016											
		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7
1.	Perkuliahan 1 tahun 16 SKS												
NO	Jenis Kegiatan	Tahun 2016/2017											
		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7
1.	Kajian Pustaka												
2.	Bimbingan dengan promotor												
3.	Proposal												
4.	Percobaan penelitian												
5.	Proses <i>wet chemical seeding</i> partikel logam pada BDD												
6.	Karakterisasi menggunakan SEM EDX												
7.	Ujian Proposal												
8.	Penelitian												
9.	Elektrokimia <i>overgrowth of the seeds</i> dengan <i>Rapid thermal annealing</i> pada elektroda Pt/BDDNP dan BDD-AuNP												
10.	Elektrokimia <i>overgrowth of the seeds</i> penghilangan pembentukan lapisan pasif pada permukaan elektroda Pt/BDDNP dan BDD-AuNP menggunakan larutan 0.1 M H ₂ SO ₄												
11.	Ultrasonik dan AFM untuk mengecek peningkatan kestabilan nanopartikel logam pada BDD												
12.	Publikasi Jurnal												

	Internasional													
NO	Jenis Kegiatan	Tahun 2017/2018												
		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
1.	Progress report 1													
2.	Penelitian													
3.	Pengimobilisasian Hb variasi pH pada permukaan BDD/PtNP dan BDD/AuNP serta mempelajari elektroda BDD termodifikasi Hb menggunakan teknik siklik voltametri													
4.	Karakteristik elektroda dengan analisis SEM, dan XPS													
5.	Karakteristik elektroda dengan analisis SEM, dan XPS													
6.	Aplikasi pada sampel makanan yang mengandung AA uji Kelinearitasan konsentrasi AA pada elektroda.													
7.	Aplikasi pada sampel makanan yang mengandung AA uji elektroda dalam sampel makanan yang mengandung AA													
8.	Publikasi Jurnal Internasional													
9.	Progress report 2													
10.	Penelitian lanjutan													
11.	Membandingkan dengan metode HPLC untuk mengetahui efisiensi penentuan AA													
	Jenis Kegiatan	Tahun 2018/2019												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
12.	Seminar Hasil													
13.	Ujian Sidang tertutup													
14.	Ujian sidang terbuka													

Lampiran 2 Biodata

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Retno Wulandari, S.Si, M.Sc
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Lektor
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	231208060
5	NIDN	0413038505
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Jakarta 13 Maret 1985
7	E-mail	Retnoo.wulandari.rw@gmail.com
8	Nomor Telepon/HP	085725966602
9	Alamat Kantor	Jl. Raya Serang-Cilegon Km. 5 (Taman Drangong), Serang- Banten
10	Nomor Telepon/Faks	(0254)8235007/(0254)8235008
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	-
12	Mata Kuliah yang Diampu	1. Kimia Dasar
		2. Kimia Organik

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Negeri Semarang	Universitas Gadjah Mada
Bidang Ilmu	Kimia	Kimia
Tahun Masuk-Lulus	2003-2008	2008-2011
Judul Skripsi/Tesis	Peningkatan Efektifitas Ekstrak Piretrum Dengan Menggunakan Zat Sinergis Piperonil Butoksida (PBO) Sebagai Biopestisida	Pemanfaatan Pektin-Na sebagai Adsorben Cd(II) dalam Larutan
Nama Pembimbing/Promotor	Dra. Endang Susilaningsih, M.S	Prof. Dr. Sri Juari Santosa, M.Eng

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1.	2013	Pembuatan Adsorben Logam Cd(II) Dalam Larutan Menggunakan Pektin Buah Jeruk	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	15.000.000,-

2.	2013	Penggunaan Dedak Padi Sebagai Filter Bagi Bakteri Escheria Coli Dan Adsorben Logam Pb Pada Air Lindi Di Tpa Cilowong, Kota Serang	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	15.000.000,-
3.	2014	Pembuatan Biosorben Kadmium dalam Larutan dengan Pektin Tersaponifikasi Kalsium Hidroksida	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	14.000.000,-
4.	2014	Karbon Aktif Kulit Durian dengan Aktivator KOH sebagai Biosorben Logam Fe untuk Meningkatkan Kualitas Air Tanah	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	12.500.000,-
5.	2017	Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin menggunakan <i>Boron Doped Diamond</i> termodifikasi nanopartikel Platina.	Kemenristekdikti	51.665.000,-
6.	2018	Preparasi <i>boron Doped Diamond</i> termodifikasi nanopartikel Pt-Hb dan aplikasinya sebagai biosensor	Universitas Indonesia	60.000.000,-

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1.	2012	Pembinaan Masyarakat di Kecamatan Jiput. Kab. Pandeglang melalui Kegiatan Kuliah Kerja Mahasiswa (KKM)	UNSEREA	Rp. 8.000.000,-
2	2014	Kawasan Ekonomi Masyarakat (KEM) Tegal Wangi Menes – Pandeglang	PKBL Pertamina	Rp. 300.000.000,-
3.	2015	Peningkatan Kemandirian Masyarakat melalui Pengolahan Tepung Mocaf dan Pembangunan Embung di Kabupaten Pandeglang	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	Rp. 50.000.000,-
4.	2016	IbM Kulit Durian Sebagai Energi Alternatif dan Sabun Mandi Gel Kulit Durian Sebagai Sabun Anti Bakteri	Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan	Rp. 35.000.000,-

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1.	Cadmium Biosorption from aqueous solution by Citrus Sinensis (L) Osbeck Saponification NaOH	International Journal of Engineering Associates	Volume 2 Issue 7/ 2013

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1.	Seminar Nasional Menuju Kemandirian Energi Listrik Secara Berkelanjutan & Ramah Lingkungan	Konversi Sampah Menjadi Energi Listrik	28-30 Maret 2012 di Graha William Soerjadaja Universitas Kristen Indonesia
2.	Penelitian Sains dan Pendidikan dalam Mendukung Kemandirian Bangsa dan Peningkatan Mutu Pendidikan	Isolasi Pektin Jeruk Citrus Sinensis (L.) Osbeck Tersaponifikasi NaOH	7 Desember 2013 Gedung Pascasarjana Universitas negeri Padang
3.	Peran Sains Kimia Analitik dan Instrumentasi dalam Peningkatan Kualitas Pendidikan, Penelitian, dan Industri yang Berwawasan Lingkungan	Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Kulit Jeruk Tersaponifikasi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Sebagai Biosorben Menggunakan FT-IR	7 Mei 2014 Jakarta Convention Center
4.	Konferensi Nasional Pengabdian Kepada Masyarakat Dan Corporate Social Responsibility 2015 (PKM CSR 2015)	Peningkatan Kemandirian Masyarakat Melalui Pengolahan Tepung Mocaf di Kabupaten Pandeglang	21-22 Oktober 2015 Universitas Multimedia Nusantara, Tangerang, Banten
5.	Konferensi Nasional Pengabdian Kepada Masyarakat Dan Corporate Social Responsibility II (PKM CSR II 2016)	Briket Kulit Durian sebagai Energi Alternatif dan Sabun Kulit Durian sebagai Sabun Anti Bakteri	27-28 Oktober 2016 Universitas Bung Hatta, Padang-Sumatera Barat
6.	The 2 nd International Symposium on Current Progress in Fuctional Materials 2017 (ISCPFM 2017)	Hemoglobin-platinum nanoparticles modified on boron doped diamond surface for acrylamide detection	8-9 November 2017 The Sakala Resort, Tanjung Benoa, Bali-Indonesia
7.	2 nd BASIC AND APPLIED SCIENCES INTERDISCIPLINARY CONFERENCE 2018	A Novel Modified Boron-Doped Diamond Electrode with High Stability Electrochemical Biosensor: Application for Determination of Acrylamide in Coffee Samples	3-4 Agustus 2018 FMIPA, Universitas Indonesia, Depok-Indonesia

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

H. Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID

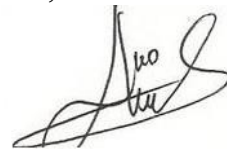
I. Penghargaan dalam 10 Tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberian Penghargaan	Tahun
1	Peneliti berprestasi	UNSERA	2014
2	Dosen berprestasi	UNSERA	2016

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya.

Depok, 26 April 2019

Penulis,



(Retno Wulandari, S.Si, M.Sc)

Lampiran 3 Sertifikat Seminar Internasional



Lampiran 4 Prosiding Seminar Internasional

Hemoglobin-platinum nanoparticles modified on boron doped diamond surface for acrylamide detection

Retno Wulandari¹, Tribidasari A. Ivandini², and Endang Saefudin³

¹Chemistry Department, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia, email: retnoo.wulandari.rw@gmail.com

²Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Universitas Serang Raya, Banten, Indonesia

³Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia email: ivandini.tri@sci.ui.ac.id

³Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia email: endang.saefudin@sci.ui.ac.id

Abstract. Acrylamide (AA) is a neurotoxin and potential carcinogen. It has been found in various thermally processed such as potato chips and biscuits. Simple and sensitive methods for rapid detection of AA is needed to ensure food safety. In this work we propose the fabricate of an highly stable AA biosensor. Boron doped diamond (BDD) was modified by Pt and hemoglobin. In the first step a wet chemically seeding process platinum particles on BDD surface was perform using NaBH_4 as reducing agent. This process resulted in generating bigger Pt particles with higher surface coverage. Characterization was performed using SEM. Electrochemical overgrowth of platinum nanoparticles (PtNP) seeds was conducted at a constant potential -0.2 V in 1 mM Pt solution. Then, a rapid thermal annealing (RTA) of BDD/PtNP was conducted at 700 °C under N_2 atmosphere to enhance the stability of BDD/PtNP and a refreshed activity of BDD/PtNP after RTA was then electrochemically activated between -0.5 V and 1.5 V. Next step, a further overgrowth was performed using a deposition voltage of -0.2 V to renew BDD/PtNP surface. In the last step 0.15 mM hemoglobin modified on BDD/PtNP. The biosensor showed an optimal response at pH 4.9 0.2 M acetate buffer solutions with LOD 0.012 nM.

1. Introduction

In the recent years, many researches had focused on food safety. Acrylamide (AA) is a neurotoxin and a potential carcinogen [1]. It is formed in the reaction between reducing sugars such as glucose and asparagine. The Maillard reaction mechanism accounts for its formation in high-starch foods during cooking at high temperatures ($> 120\text{ }^\circ\text{C}$) [2]. The standard detection methods as GC-MS/MS [3], LC-MS/MS [4], HPLC-MS [5] are mainly used for the determination of acrylamide levels in food products, but they are laborious and expensive [1].

Recently, biosensors for AA were developed. Biosensors are inexpensive, easy to produce and use. Garabagiau developed a simple Hb-gold nanoparticles modified ITO glass electrode for the amperometric detection of AA [1]. Krajewska and coworkers proposed an electrochemical biosensor for AA using Hb deposited on single wall carbon nanotubes [6]. Li developed a Facile electrocatalytic

redox of Hb by flower-like gold nanoparticles on BDD surface [7]. Umam developed a biosensor Hb-gold nanoparticles modified BDD electrode for detection of AA with LOD 5,1436 μM but its low stable [8]. Many researchers have focused their attentions on the enhancement of the electron transfer of Hb by using nanostructured metals as mediators or promoters, including for example Ag, Au, Pt, Pd, Ir, Rh, Ag/Au, Pt/Ag, Pt/Pd [9,10]. Gao proposed a highly stable platinum nanoparticles on diamond [11]. Platinum nanoparticles electrodeposited on BDD substrate show poor stability. Their electrochemical activities vary with different substrates and deposition methods.

In this study, we propose for developed an biosensor stable for acrylamide detection with Gao method used hemoglobin-platinum nanoparticles modified on boron doped diamond surface for acrylamide detection. There are only few reports on the electrochemical determination of hemoglobin adducts with hemoglobin coated gold nanoparticles modified electrodes [6,12], and this work used for the first time (in our knowledge) highly stable and active Pt nanoparticles on BDD used Gao method, and then Hb molecules coated on BDD-PtNP stable to increase the electron transfer process from the electrolyte to the electrode, for the determination of a hemoglobin adduct.

2. Experimental

2.1 Materials and Instruments

BDD obtained from Keio University Japan with the specification of silicon wafer template (1 0 0) with BDD + silica thickness 1mm/1000 μm , 0.1% boron/carbon content. H_2PtCl_6 , $6\text{H}_2\text{O}$ from wako. Human Hb H7379, acrylamide, were purchased from Sigma-Aldrich. They were used as received without further purification.

Electrochemical experiments were conducted using a EDAQ Potentiostat (Bioelectrochemistry main laboratory Universitas Indonesia). A three-electrode system was applied with Ag/AgCl reference and Pt counter electrodes. The working electrode was a BDD with Platinum nanoparticles (PtNP) and Hb. Scanning electron microscope images were recorded by a EVO MA 10 Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany.

2.2 BDD electrode modification PtNP

The deposition of Pt nanoparticles on BDD were prepared with 1 M NaBH_4 dissolved in 0.1 M NaOH was first 10 μL NaBH_4 solution dropped onto the BDD electrode. After that, 40 μL 1 mM H_2PtCl_6 solution was dropped onto the sample to react with adsorbed NaBH_4 to generate Pt nanoparticles. The electrode was then washed with water and blew dry with N_2 . After seeding, electrochemical overgrowth of Pt seeds was conducted in 5 mL 1.0 mM H_2PtCl_6 solution gradually for 15 min under a constant potential of -0.2 V. After overgrowth, the PtNP coated BDD electrode was treated with rapid thermal annealing (RTA) at 700°C for 5 min in N_2 atmosphere. RTA sample was then electrochemically activated between -0.5 V and 1.5 V at a scan rate of 200 mV/s for 100 cycles. After that, a further overgrowth was performed using a deposition voltage of 0.2 V gradually for 15 min to renew the PtNP surface.

2.3 Modification of Pt/BDD electrodes with hemoglobin

10 μL 0.2 M ABS solution pH 4.9 containing 0.15 mM Hb was dropped onto Pt/BDD electrodes for 24 h to obtain Hb/Pt/BDD modified electrode. The electrode was rinsed by Milli-Q water before use, the electrodes were dried in a stream of nitrogen gas. The modified electrodes thus obtained were kept in air, at 4°C .

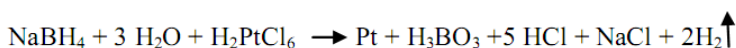
2.4 Detection of acrylamide standard

Acrylamide was prepared in 0.2 M ABS solution pH 4.9 on various concentrations (0.01, 0.02 , 0.03, 0.04, 0.05) nM. Sample was then cyclic voltammetry with Hb/Pt/BDD electrode between -0.5 V and 1.5 V at a scan rate of 100 mV/s.

3. Results and discussion

3.1 BDD electrode modification PtNP process

Surface of BDD provides positively charged C-H dipole layers on the surface [13] and thus affects the adsorption of NaBH_4 for wet-chemical seeding of metal particles. On the other side, the key functional group of NaBH_4 for its adsorption is the non-polarized BH_4^- . Therefore of the attractive force is generated and thus enhances the adsorption of NaBH_4 [11]. The chemical reaction between NaBH_4 and H_2PtCl_6 generating Pt nanoparticles is well-known and widely used [14,15,16].



The key to a successful seeding is surface adsorbed NaBH_4 is involved before the generation of Pt nanoparticles, leading to a very close supersaturation to the surface. Similar supersaturation was also possible to be generated via constant potential of -0.2 V pulse deposition. In this way the nucleation density is actually enhanced on a BDD electrode surface [11].

RTA is helpful to form an epitaxial lattice structure between BDD and Pt beneath the particles. RTA of Pt nanoparticles coated BDD was then conducted at 700°C under N_2 atmosphere for 5 min. Fig. 1 shows the SEM image of BDD shown in Fig. 1(a). Fig. 1(b) Pt/BDD before RTA. Fig. 1(c) Pt/BDD after RTA. Pt distribute homogeneously on BDD surface, the same as those seen from SEM images. And Fig. 1(d). shows the EDX image of Pt/BDD before RTA Fig. 1(d) after RTA.

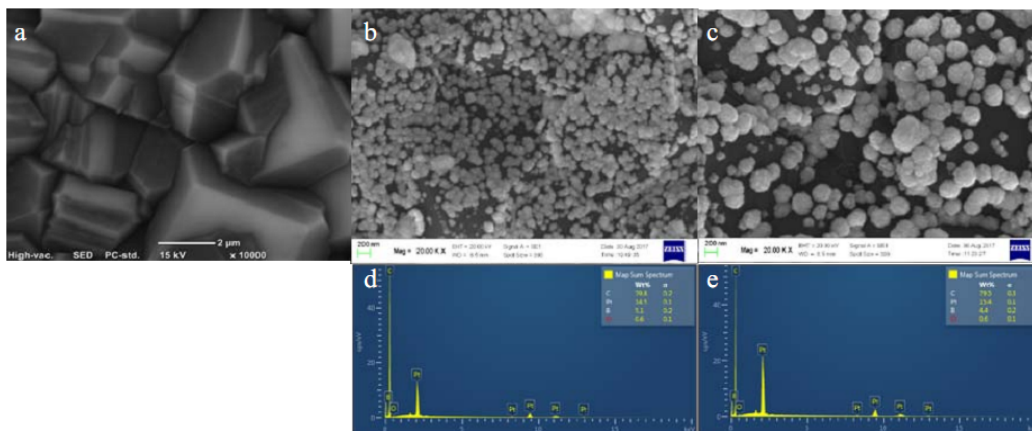


Fig.1. SEM image (a, b, c) and EDX (d,e). (a) bare BDD, (b,d) Pt/BDD before RTA and (c,e) after RTA

Fig. 2 (a, b, c) provides the CV measurement on Pt nanoparticles coated BDD electrodes in 0.1 M H_2SO_4 before RTA, after RTA and after RTA electrochemical activation, respectively. Before RTA, two couples of peaks are clearly seen for hydrogen adsorption/desorption, indicating that Pt nanoparticles are electrochemically active. After RTA, these peaks disappear and only background current similar to bare BDD is recorded, indicating the loss of reactivity of Pt nanoparticles toward hydrogen adsorption/desorption. This is probably due to the formation of a

passivation film since carbon dissolves in platinum at high temperature and precipitates at the metal surface during cooling down [17].

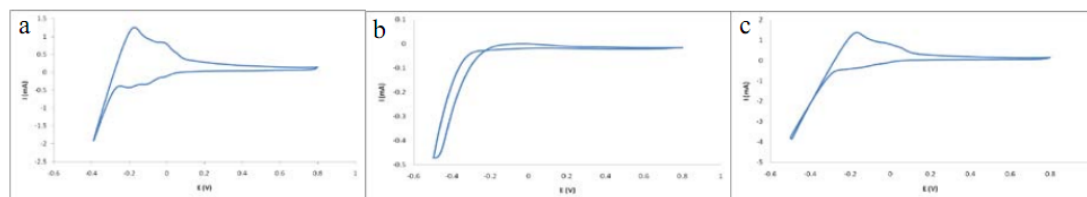


Fig. 2. Cyclic voltammograms in 0.1 M H_2SO_4 at a scan rate of 100 mV/s on the Pt nanoparticles coated diamond electrodes (a) as-deposited, (b) after RTA, (c) after RTA and electrochemical activation.

In order to obtain active Pt nanoparticles, electrochemical reactivation of such a surface was conducted by cycling in 0.1 M H_2SO_4 solution. The idea is to repeatedly oxidize and reduce the surface of Pt nanoparticles and then the surface will be refreshed [18]. As shown in Fig. 2 (c), the hydrogen adsorption/desorption peaks show up again after such a treatment. Comparing with those for the sample before RTA, the current scale however decreases. This might be due to the incomplete removal of the passivation layer, which leads to a smaller electrochemically active Pt area.

3.2 Response measurements of acrylamide biosensor

Acrylamide forms adducts with Hb as a result of the reaction between the $-\text{NH}_2$ group of the N-terminal valine of Hb. Formation of this adduct is associated with Hb structure change [4,5]. This structure change is probably responsible for the decrease of accessibility of redox-active centers of Hb immobilized on the surface of the electrode, which causes a decrease of current. Hb–acrylamide adducts altered the electroactivity of Hb and generated response of the biosensor. Fig. 3(a) the SEM image of Hb/Pt/BDD and Fig. 3(b) provides the CV measurement on various concentrations Hb on pt/BDD electrode. Fig.3(a) shows that Pt/BDD electrode has been successfully coated with Hb, and then, Fig.3 (b) shows the cv results of the concentration variation of Hb on the Pt / bdd electrode. an increase in peak current on Pt/BDD electrode after the presence of Hb with optimum concentration of Hb 0.15 mM.

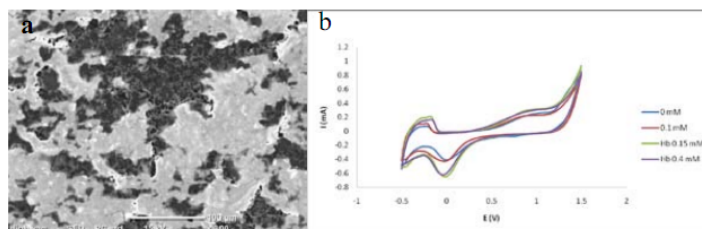


Fig.3. SEM image (a) and Cyclic voltammograms (b) response of Pt/BDD electrodes toward Hb on various concentrations (0, 0.1, 0.15, 0.4) mM, respectively.

Investigated Pt/BDD electrode modified with Hb displayed a quasi-reversible electrochemical reaction of $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$. This biosensor displayed electrochemical response toward the acrylamide with a linear range of 0.01 nM to 0.05 nM. As a consequence, in parallel with an increase of Hb–acrylamide adduct concentration at the electrode surface, the current peak of cyclic voltamogram decreases (Fig. 4). The results obtained show that a decrease of current can be treated as the analytical signal and

could be a base for very selective and sensitive biosensors for acrylamide with determination low detection limit (0.012 nM).

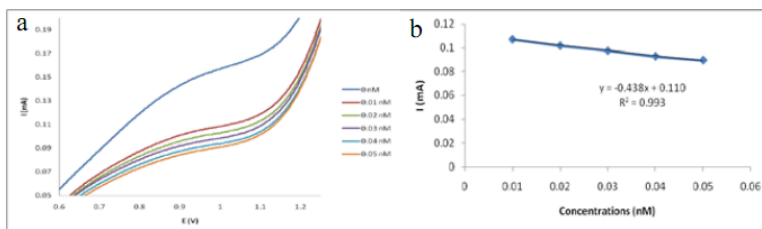


Fig.4. Cyclic voltammograms (a) response of Hb/Pt/BDD electrodes toward acrylamide on various concentrations (0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05) nM, respectively. (b) Linear curve for acrylamide biosensor for effect of acrylamide concentration on response of biosensor based acrylamide on Hb/Pt/BDD electrode bound Hb.

Conclusion

Acrylamide biosensor was constructed by modification of Hb onto a PtNP attached onto BDD electrode with Gao method showed relatively rapid response, low detection limit (0.012 nM).

Acknowledgment

The authors thank Dr. Ivandini Tribidasari.A and Dr. Endang Saepudin for guidance and the financial support is gratefully acknowledged.

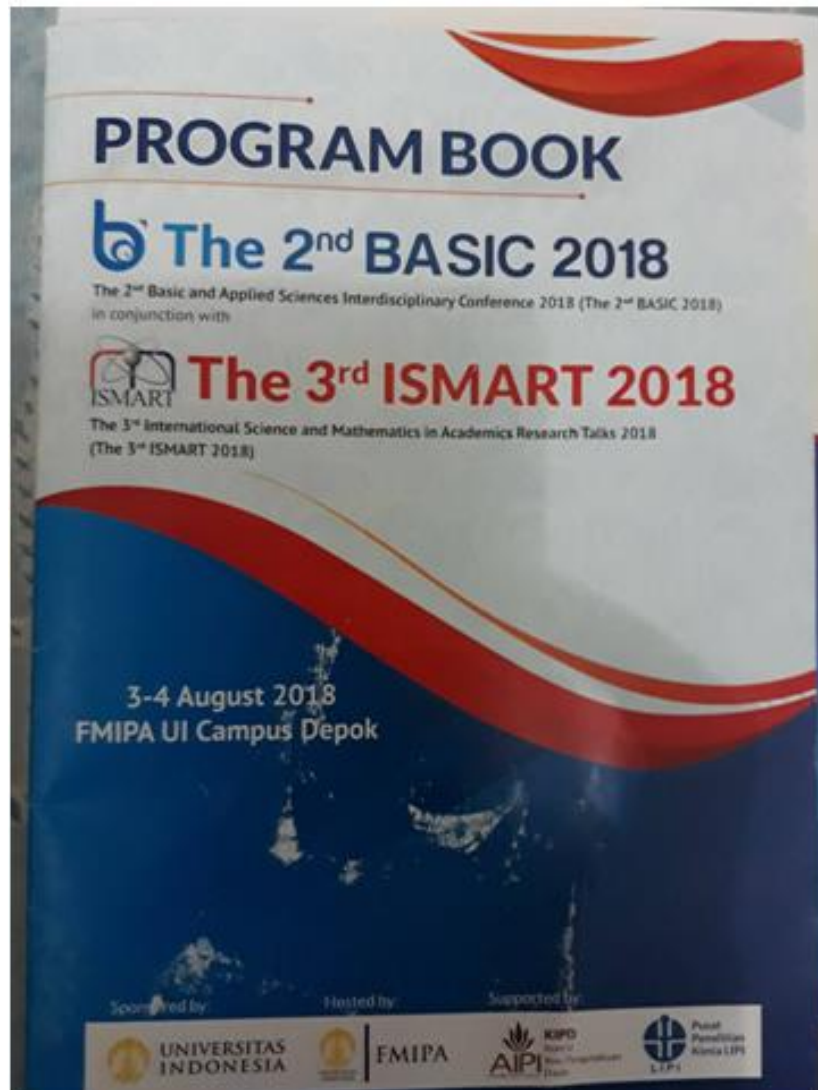
References

- [1] Garabagiu, S., and Mihailescu, G, 2011, Simple hemoglobin-gold nanoparticles modified electrode for the amperometric detection of acrylamide, *J. Jelechem*, 659 (196-200).
- [2] Batra, B., Lata, S., and Pundir, C.S, 2013, Construction of an improved amperometric acrylamide biosensor based on hemoglobin immobilized onto carboxylated multi-walled carbon nanotubes/iron oxide nanoparticles/chitosan composite film, *Bioprocess Biosyst Eng*, 36 (1591-1599).
- [3] Notardonato, I., Avino, P., Centola, A., Cinelli, G., and Russo, M.V, 2013, Validation of a novel derivatization method for GC-ECD determination of acrylamide in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(18), 6137-6141.
- [4] Bortolomeazzi, R., Munari, M., Anese, M., & Verardo, G, 2012, Rapid mixed mode solid phase extraction method for the determination of acrylamide in roasted coffee by HPLC/MS/MS, *Food Chemistry*, 135(4), 2687-2693.
- [5] Zargar, B., Sahraie, N.R., and Khoshnam, F, 2009, Catalytic Square-Wave Voltammetric Determination of Acrylamide in Potato Chips, *Analytical Letters*, 42 (1407-1417).
- [6] Krajewska, A., Radecki, J., and Radecka, H, 2008, A Voltammetric Biosensor Based on Glassy Carbon Electrodes Modified with Single-Walled Carbon Nanotubes/Hemoglobin for Detection of Acrylamide in Water Extracts from Potato Crips, *Sensors*, 8 (5832-5844).

- [7] Li, M., Zhao, G., Geng, R., and Hu, H, 2008, Facile electrocatalytic redox of hemoglobin by flower-like gold nanoparticles on boron-doped diamond surface, *J. Bioelectrochem*, 74 (217-221).
- [8] Umam, K., 2016, Preparation of hemoglobin-modified boron-doped diamond for acrylamide biosensors, *Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng*, 188 (1-5).
- [9] Sun, W., Cao, L., Deng, Y., Gong, S., Shi, F., Li, G., and Sun, Z, 2013, Direct electrochemistry with enhanced electrocatalytic activity of hemoglobin in hybrid modified electrodes composed of graphene and multi-walled carbon nanotubes, *J. Aca*, 781 (41-47).
- [10] Gao, F., Yang, N., Smirnov, W., Obloh, H., Nebel, C.E, 2013, Size-controllable and homogeneous platinum nanoparticles on diamond using wet chemically assisted electrodeposition, *J. Electroacta*, 90 (445-451).
- [11] Stobiecka, A., Radecka, H., and Radecki, J, 2007, Novel voltammetric biosensor for determining acrylamide in food samples, *J. Bios*, 22 (2165-2170).
- [12] Hoffmann, R., Kriele, A., Obloh, H., Hees, J., and Wolfer, M, 2010, Electrochemical hydrogen termination of boron-doped diamond, *Appl. Phys. Lett*, 97 (1-3).
- [13] Kim, P., Joo, J.B., Kim, W., Kim, J., Song, I.K., Yi, J, 2006, NaBH₄-assisted ethylene glycol reduction for preparation of carbon-supported Pt catalyst for methanol electrooxidation, *J. of Power Sources*, 160 (987).
- [14] La-Torre-Riveros, L., Abel-Tatis, E., Méndez-Torres, A.E., Tryk, D.A., Prelas, M., Cabrera, C.R, 2011, Synthesis of platinum and platinum–ruthenium-modified diamond nanoparticles, *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (2997).
- [15] La-Torre-Riveros, L., Guzman-Blas, R., Mendez-Torres, A.E., Prelas, M., Tryk, D.A., Cabrera, C. R, 2012, *Diamond* nanoparticles as a support for Pt and PtRu catalysts for direct methanol fuel cells, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4 (1134).
- [16] Hamilton, J.C., Blakely, J.M., 1978, Carbon layer formation on the Pt (111) surface as a function of temperature, *Journal of Vacuum Science and Technology* 15 (559–562).
- [17] Yamamoto, K., Kolb, D.M., Kotz, R., Lehmpfuhl, G., 1979, Hydrogen adsorption and oxide formation on platinum single-crystal electrodes, *J. Electroanalytical Chemistry*, 96 (233–239).

Lampiran 5 Sertifikat Seminar Internasional



Lampiran 6 Abstrak Seminar Internasional

Lampiran 7 Bukti penerimaan jurnal internasional

December 18, 2018

Re: *Sensors and Materials*, Special Issue on Carbon Material-based Chemical and Biochemical Sensors (Guest editors, Yuko Ueno and Osamu Niwa)

Paper No.: SS-2192

Title: Modification of Boron-doped Diamond Electrodes with Platinum to Increase the Stability and Sensitivity of Haemoglobin-based Acrylamide Sensors

Authors: Retno Wulandari, Tribidasari Anggraningrum Ivandini, Irkham, Endang Saepudin, and Yasuaki Einaga

Dear Authors,

Thank you very much for submitting the above paper to *Sensors and Materials*.

I am very pleased to inform you that your paper has been accepted for publication. Your paper will appear in one of the subsequent issues of *Sensors and Materials*.

When the special issue is published, we will send you a PDF file of your paper.

We look forward to receiving reports on future works from your research group.

Sincerely,

Makoto Ishida, Editor in Chief
Sensors and Materials

Lampiran 8 Jurnal Internasional

Sensors and Materials, Vol. 3#, No. # (201#) ##-##
MYU Tokyo

S & M *****

Modification of Boron-doped Diamond Electrodes with Platinum to Increase the Stability and Sensitivity of Haemoglobin-based Acrylamide Sensors

Retno Wulandari,^{1,2} Tribidasari Anggraningrum Ivandini,¹ Irkham,³ Endang Saepudin,¹ and Yasuaki Einaga*^{3,4}

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Sciences, Universitas Indonesia, Kampus UI Depok, Depok, Jakarta 16424, Indonesia.

²Chemical Engineering Department, Faculty of Engineering, Universitas Serang Raya, Jl. Raya Serang-Cilegon KM 5, Banten, 42115 Indonesia

³Department of Chemistry, Keio University, Hiyoshi 3-14-1, Yokohama 223-8522, Japan.

⁴JST ACCEL, Hiyoshi 3-14-1, Yokohama 223-8522, Japan

(Received Month Day, Year; accepted Month Day, Year; online published Month Day, Year)

Keywords: boron-doped diamond, platinum, surface modification, acrylamide, electrochemical detection

Boron-doped diamond (BDD) electrodes modified with platinum and haemoglobin (Hb) have been prepared for application as stable and sensitive acrylamide biosensor. The Pt-modified BDD (Pt-BDD) was prepared in several steps, including the wet chemical seeding of Pt particles, the electrochemical overgrowth of Pt seeds, thermal annealing at 700 °C under N₂ atmosphere, as well as refresh and activation steps of Pt-BDD by cyclic voltammetry (CV). The characterization using of the prepared Pt-BDD Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS) and X-ray photoelectron (XPS) showed that the method can deposit Pt homogenously on the BDD surface with an average particle size of around 200 nm. The Raman results showed that the treatment steps during modification did not damage sp³ carbon in the BDD structure. After modification with Hb, the modified BDD was examined for acrylamide detection. CVs of Hb-Pt-modified BDD (Hb-Pt-BDD) in 0.2 M sodium acetate buffer (ABS) (pH 4.8) containing acrylamide in the concentration range of 0.01 to 1 nM showed linear responses with a detection limit of 0.0085 nM and quantification limit of 0.026 nM. The excellent stability of the prepared Pt-modified BDD was confirmed as it showed the reusability of Pt-BDD by removing the Hb adduct without removing Pt on the BDD surface.

1. Introduction

Acrylamide is a neurotoxin and a potential carcinogenic substance,⁽¹⁻³⁾ formed by the reaction between reducing sugars, such as glucose and asparagine. The Maillard reaction mechanism is considered to be responsible for acrylamide formation in food processing, especially in high-starch foods during cooking at high temperatures (> 120 °C).⁽²⁾ The detection

*Corresponding author: e-mail: einaga@chem.keio.ac.jp

<https://doi.org/10.18494/SAM.2018.####>

of acrylamide becomes necessary to ensure the food safety consumption. The standard detection methods of acrylamide, including LCMS/MS and GCMS, offer high sensitivity, selectivity, stability, and repeatability.⁽⁴⁾ However, these methods require high testing cost and skilled laboratory technicians, which cannot meet the criteria for a real-time and on-line detection of acrylamide in foods. Therefore, it is highly important to develop a simple, sensitive, and low-cost method for acrylamide detection in food samples.

On the other hand, the development of biosensors for acrylamide determination are getting more attention owing to its ability to do real-time measurement and relatively low cost. One of the popular methods in the of development acrylamide biosensors was reported to employ the redox signal of haemoglobin (Hb).⁽⁵⁻⁷⁾ Hb is a redox protein consisting of four polypeptide chains. Each of them contains one heme group.⁽⁸⁾ Iron in the heme groups carries the electroactive property of Hb that changed in the presence of acrylamide, resulting in the signal responses of acrylamide.

Hb-based biosensors for acrylamide were developed using gold nanoparticle-modified ITO glass, single-wall carbon nanotubes, and boron-doped diamond (BDD) electrodes.^(1,6-8) BDD was selected owing to its superior properties, such as wide potential window and small background current, which are required in the development of sensors.^(7,9) However, the problem with low stability and sensitivity was often observed because of the instability of electromediator, i.e. metal particles on the surface BDD.^(10,11) Electromediators in acrylamide biosensor play an important role in electron transfer between haemoglobin and electrodes, while the unfavourable orientation of Hb molecules on the electrode surface and the distance between the heme centre and electrode surface are the main reason of the slow kinetics of the electron transfer.^(12,13)

Some techniques that are generally used to modify BDD with metals have been reported, such as electrochemical deposition, photochemical reaction, and ion implantation.^(10,11,14-16) However, these methods could not achieve a suitable amount, or high stability of the deposited metal on the surface BDD.^(10,11,14) Moreover ion implantation method gives a more promising result that indicates the high stability of metal particles, but it needs a quite expensive special instrument.^(10,11)

In this study, we propose to develop platinum-modified BDD (Pt-BDD) with high stability and sensitivity for application in acrylamide biosensors. The electrochemical reduction technique is employed to deposit platinum particles. However, to prepare a stable Pt-BDD, thermal annealing was applied to BDD after modification with platinum. For acrylamide detection, haemoglobin-platinum modified BDD (Hb-Pt-BDD) surface was used. The high stability of Pt particles on the BDD surface, as well as that of Hb molecules coated on Pt-BDD generates an increase in electron transfer from the electrolyte to the electrode, and accordingly, provides a higher sensitivity for the determination of acrylamide.

The BDD films laboratory-made in Keio University, Japan were prepared in microwave plasma-assisted chemical vapour deposition (MPCVD, CORNES Technologies/ASTeX-5400) using a 0.1% boron-to-carbon ratio for the precursor solution.^(17,18) A (100) silicon wafer was used as the support. The BDD film thickness of around 1 μm was observed. H_2PtCl_6 , $6\text{H}_2\text{O}$, NaBH_4 , and NaOH were supplied by Wako Inc. (Japan), while human haemoglobin H7379 and acrylamide were purchased from Sigma-Aldrich. All chemicals were used as received without further purification.

2.2 Modification of platinum at BDD electrode

The modification of platinum at the BDD electrode or (Pt-BDD) was performed by following the procedures of Gao *et al.* with some modifications.⁽¹⁹⁾ Briefly, seeds Pt were grown on the BDD surface by dropping 10 μL 1.0 M NaBH_4 dissolved in 0.1 M NaOH . Then, 40 μL 1.0 mM H_2PtCl_6 solution was added dropwise. After washing and drying, the electrochemical overgrowth of Pt seeds was conducted in 5 mL 1.0 mM H_2PtCl_6 solution at a constant potential of -0.2 V supplied gradually in 1 to 2, 3, 4, and 5 min (total 15 min). After this step, the Pt-BDD electrode was treated with rapid thermal annealing at 700°C for 5 min in N_2 atmosphere, followed by refresh step with cyclic voltammetry (CV) between -0.5 and $+1.5$ V at a scan rate of 200 mV/s for 100 cycles in 0.1 M H_2SO_4 . In the last step, further activation steps was performed using a deposition potential of -0.2 V gradually within 15 min to refresh the Pt surface. Figure 1 displays [the schematic of the modification process Pt-BDD].

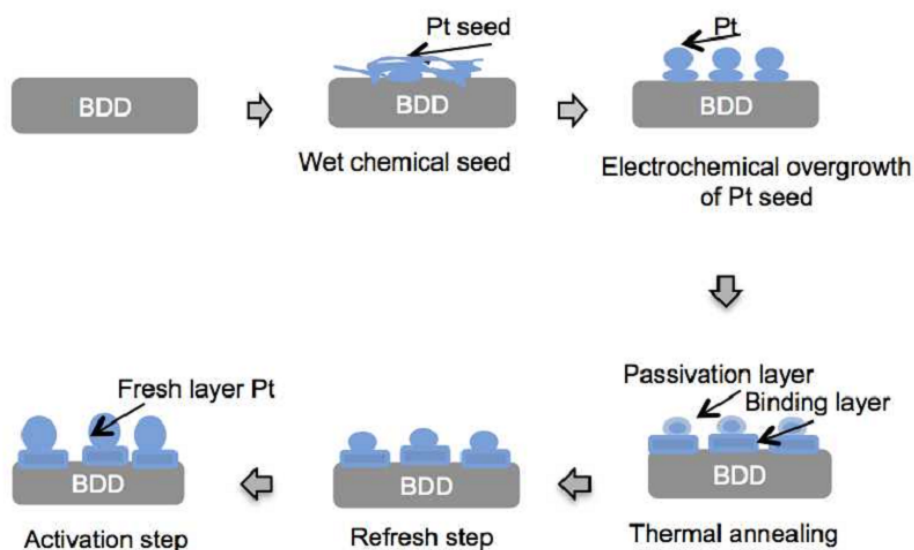


Fig. 1 (Color online) Schematic representation of the Pt modification at BDD

2.3 Modification of Pt-BDD electrodes with haemoglobin

The modification of Pt-BDD with haemoglobin was performed by dropping 15 μL of 0.2 M ABS solution (pH 4.8) containing 0.15 mM Hb on Pt, BDD, and Pt-BDD electrodes ($1 \times 1 \text{ cm}^2$) and left for 24 h. The obtained Hb-Pt BDD electrodes were then rinsed with Milli-Q water and dried in a stream of nitrogen gas. The electrodes were stored in acetate buffer solution (ABS) at 4 °C when not in use.

2.4 Electrode Characterization

The modified BDD was characterized by scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX, JEOL JCM-6000), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS, JEOL JPS-9010TR), and X-ray diffraction (XRD, Bruker D8 Discover), and Raman spectra were recorded with an Acton SP2500 (Princeton Instruments) with excitation at 532 nm from a green laser diode at ambient temperature.

2.5 Electrochemical measurements

Electrochemical measurements were conducted using a potentiostat (PGSTAT302N, AUTOLAB Instrument). A three-electrode system was used with Ag/AgCl reference and Pt counter electrodes. The working electrode was either BDD, Pt-BDD, Hb-Pt-BDD, Hb-Pt, or Hb-BDD. The use of hemoglobin was carried out in the same way as the modification of the Pt-BDD electrode with hemoglobin in 2.3. CV was used for electrochemical measurements of acrylamide standard solutions and samples on Pt BDD modified with haemoglobin (Hb-Pt BDD) electrodes from the potentials of -0.5 V to 1.5 V at a scan rate of 100 mV/s . The electrode area for CV was 0.28 cm^2 . The standard solutions were prepared in 0.2 M acetate buffer saline (ABS) solution (pH 4.8) with various acrylamide concentrations ($0.01 - 0.1 \text{ nM}$).⁽²⁰⁾

3. Results and Discussion

3.1 Modification of BDD with Pt particles

Pt particles were seeded on the BDD surface by the chemical reduction reaction of $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ in NaBH_4 solution. NaBH_4 was selected in the growth of Pt seeds owing to not only its strong reduction behaviour but also the nature of the BDD surface with H termination, which has a relatively positive charge of the C-H surface.^(21,22) Accordingly, BH_4^- anions were expected to adsorb on the BDD surface and simultaneously induce the chemical reduction of $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ to Pt particles on the BDD surface.

Figure 2(a) and 2(b) show the SEM characterization of the original BDD surface in comparison with the Pt-BDD surface in wet chemical seeding steps. The platinum particles tend to assemble at one point owing to the strong reducing agent (NaBH_4) the rapidly reacts with the

$[\text{PtCl}_6]^{2-}$ ion solution and is difficult to control. This process involves the binding or seeding of a Pt metal precursor onto the electrode surface by physical adsorption. When the chemical reduction changes the Pt metal precursor to Pt metals, it will separate from the solution. On the other hand, BH_4^- of NaBH_4 absorbed on the electrode surface cannot widely diffuse (spread) owing to the nonuniform electronic properties of BDD electrodes.^(21,22)

To overcome this problem, the electrochemical overgrowth of seeds steps was performed. A potential of -0.2 V was applied with an incremental time increase from 1 to 2, 3, 4, and 5 min (total of 15 min). This step was intended to distribute the Pt nanoparticles homogeneously on the BDD surface.⁽²³⁾ In addition, electrochemical overgrowth of Pt seeds step enlarged the Pt nanoparticles instead of agglomerating them at the BDD substrates. Figure 2(c) shows that the Pt nanoparticles dispersed on the BDD electrode in a wide surface area, compared with the seeding result in Figure 2(b). Moreover, the electrochemical overgrowth of seeds reduced the rate of agglomeration in wet chemical seeding steps.

However, combining wet chemical seeding and electrochemical overgrowth of seeds to modify BDD with platinum resulted in unstable Pt particles, which were easily removed by heavy flow or washing in an ultrasonic tube. Because of this stability problem, annealing at a temperature of 700°C for 5 min in N_2 atmosphere was conducted.

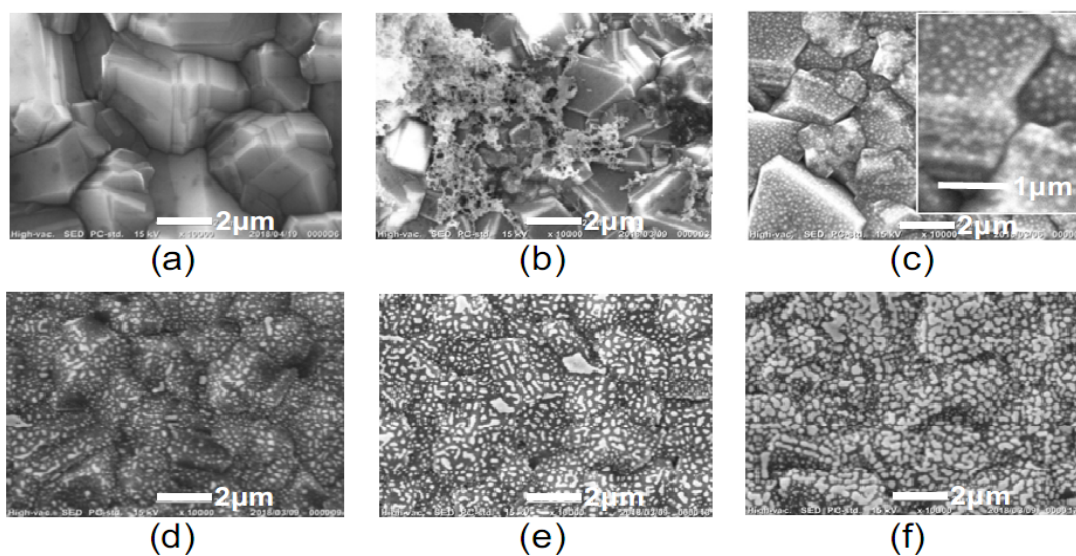


Fig. 2. SEM images of (a) BDD original and Pt-BDD surface after (b) wet chemical seeding, (c) electrochemical overgrowth of Pt seeds, (d) thermal annealing, (e) refresh and (f) activation steps. Inset of 2(c) shows the magnification of the figure.

Annealing was conducted to increase the surface energy of BDD, in order to form an epitaxial lattice structure between the BDD surface and Pt.⁽¹⁵⁾ Figure 2(d) shows the quality

improvement of Pt growth on the BDD surface. During annealing, N_2 gas is drained to inhibit the formation of oxidized platinum at Pt-BDD. BDD with low surface energy is more stable because of the lower number of dangling bonds, making it more difficult for Pt to attach. The more dangling bonds, the easier it will be for Pt to attach to the BDD surface. At the beginning, the growth of the epitaxial lattice layer formed Pt islands owing to the lattice incompatibility between Pt and BDD. In general, the lattice tension, surface energy, and interface of the system play a direct important role in the epitaxial lattice layer by layer or island formation.⁽¹⁶⁾

CV was performed to study the processes occurring at every step during the deposition of Pt on the BDD surface. Before modifying with Pt [Figure 3(a)], no peak was observed in the voltammogram of 0.1 M H_2SO_4 on the original BDD surface in the potential range of -1.5 to $+1.5$ V, indicating that the BDD surface was clean.⁽⁹⁾ The voltammograms obtained after Pt seeding and electrochemical overgrowth of Pt seeds [Figs 3(b) and 3(c)] exhibit two peaks related to two adsorption/desorption reactions of hydrogen. These peaks indicate the presence of active Pt particles on the BDD surface.⁽²³⁾ The voltammogram obtained after thermal annealing [Fig. 3d] shows no peaks and only the peak background of BDD remains. These results indicate lost of reactivity at the Pt particle to hydrogen adsorption/desorption. This might happen owing to the carbon compound that dissolved in platinum and settled on the metal surface during cooling down.^(24,25) Which led to the deactivation of the Pt-BDD surface by the formed passivation layer after the annealing treatment.

To refresh the Pt-BDD surface electrode, CV was repeated 100 times in 0.1 M H_2SO_4 solution to dissolve the impurities on the Pt nanoparticle surface on the BDD electrode (refresh step). The SEM image [Fig. 2(e)] shows an increase in Pt particle size at BDD after the refresh step. This confirmed the voltammogram in Fig. 3(e), which shows peaks of platinum. However, the peak current is still lower than that of BDD the after electrochemical overgrowth of Pt seeds step [Fig. 3(c)], suggesting that the removal of the passive layers is incomplete as indicated by the decrease in the active electrochemical area of Pt.

The activation steps was performed on the Pt-BDD surface in order to obtain new active Pt nanoparticles with a large area. This step was carried out by an electrodeposition method similar to the gradual electrochemical growth at the -0.2 V potential in 15 min. After activation step, the size and distribution of Pt particles on the BDD surface increased as shown in [Fig. 2(f)]. Observation by EDX confirmed that Pt particles on the BDD surface were around 98.4 in mass percentage. Further confirmation of the voltammetry results activation step showed that the peak current obviously increased after reactivation with electrodeposition [Fig. 3(f)].

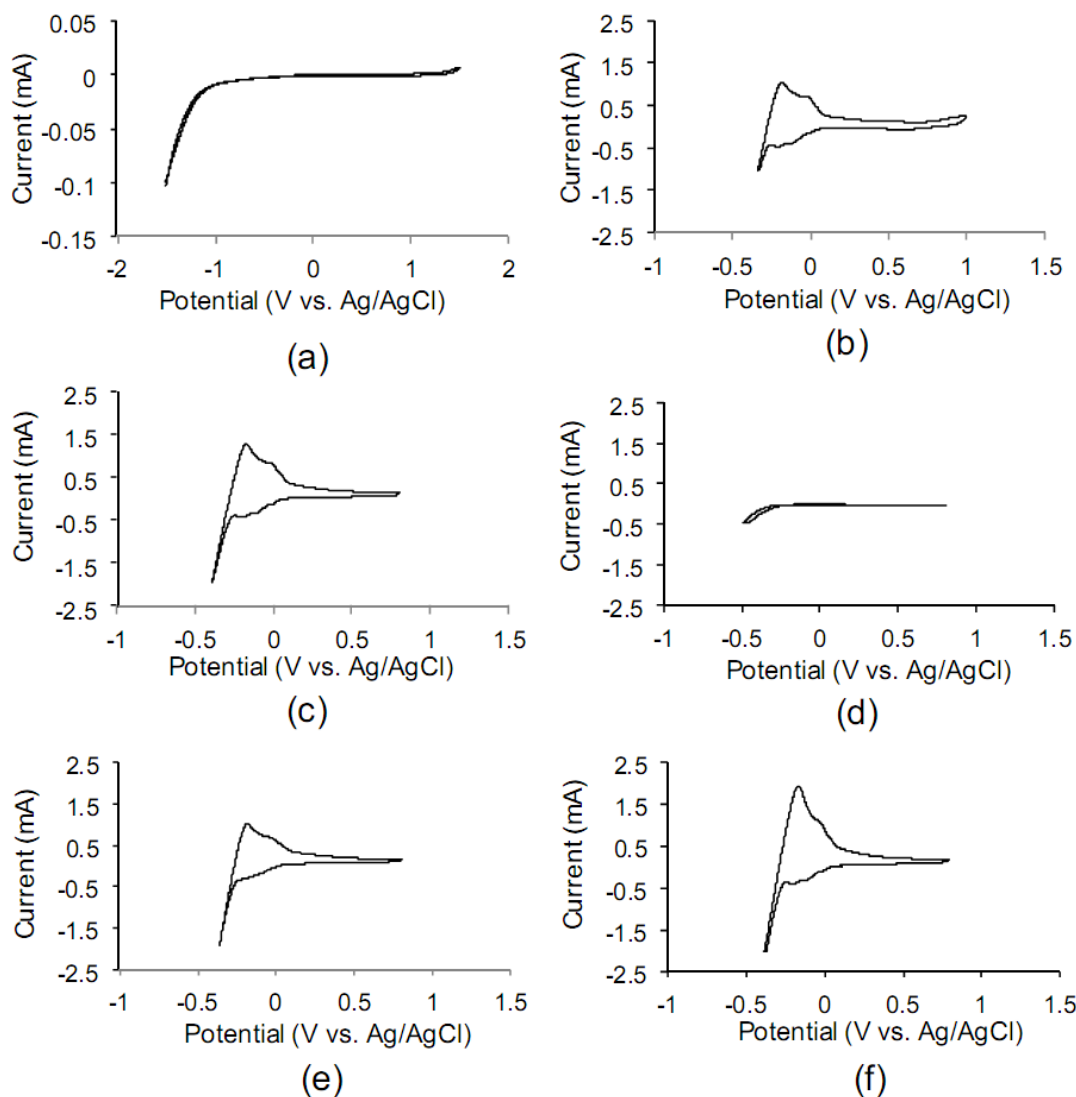


Fig. 3. Cyclic voltammograms of 0.1 M H_2SO_4 at (a) BDD original and Pt-BDD surface after (b) wet chemical seeding, (c) electrochemical overgrowth of Pt seeds, (d) thermal annealing, (e) refresh and (f) activation steps

To confirm the effects of all the treatments on the structure of BDD (sp^3 carbon), Raman characterization was performed (Fig. 4). All spectra show a sharp sp^3 peak at around 1330 cm^{-1} and the absence of the sp^2 peaks at around 1500 cm^{-1} , indicating that all steps in the above treatments did not damage the sp^3 structure of BDD.^(17,18,26)

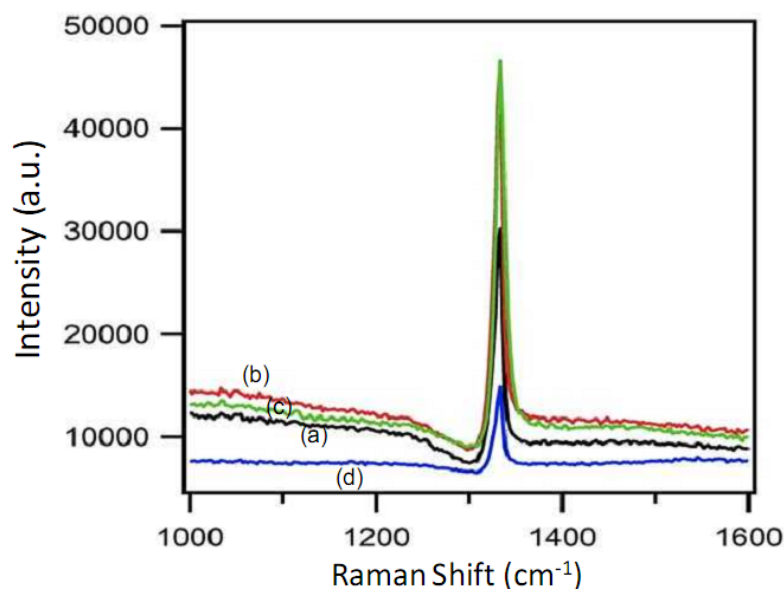


Fig. 4. (Color online) Raman spectra of the original bare BDD (line a) and Pt- BDD after wet chemical seeding (line b), thermal annealing (line c) and activation steps (line d).

The chemical composition of the BDD surface before and after modification was studied by XPS (Fig. 5) All spectra show peaks of Pt $4f_{7/2}$ and $4f_{5/2}$ at binding energies around 71.0 and 74.6 eV, respectively, confirming that Pt were successfully deposited on BDD. The Pt peak intensity after wet-chemical seeding (line a) was very low as the interaction between Pt and the BDD surface relied on the adsorption of BH_4^- with metal ions. The intensities of both Pt peaks increased after the electrochemical overgrowth of Pt seeds step, which later decreased after the thermal annealing step in N_2 atmosphere, confirmed the formation of the passivation layer during this step. After the refresh step, the Pt peaks intensity did not significantly increase, suggesting that the step could not remove the passive layer completely. However, the peak increased after activation step, suggesting the increase in the amount of active platinum on the surface of the electrode.

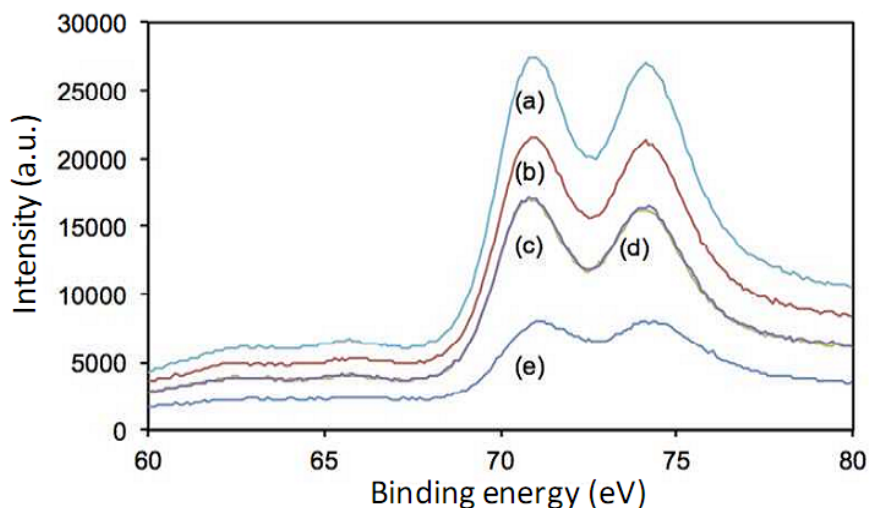


Fig. 5. (Color online) XPS spectra of Pt-BDD after wet chemical seeding (line a), electrochemical overgrowth of Pt seeds (line b), thermal annealing (line c), refreshing (line d), and activation steps (line e).

XRD patterns were measured to study the crystal structure of the Pt-BDD surface during the modification steps (Fig. 6). A sharp peak at 2θ of 43.23° indicated the presence of the (111)-diamond phase of the BDD film.^(21,27) The Pt deposited on the BDD surface formed a face-centred cubic (fcc) pattern with sharp peaks of Pt (111) and Pt (220) at 2θ values of 39.73° and 75.22° , respectively. The sharp peaks observed also indicated that the Pt particles deposited by this method produced crystalline Pt.

The wet chemical seeding steps (Fig. 6, line a), the XRD spectrum showed that Pt (111) and Pt (220) peak slightly shifted to 40.08° and 75.43° , respectively. Moreover, the decrease in peak intensity confirmed the formation of the passivation layer at Pt particles during annealing (Fig. 6 line b). However, the peaks of Pt (111) and Pt (220) shifted back to 2θ values of around 39.79° and 75.13° after the activation step (Fig. 6, line c), although they could not recover to the initial 2θ resulting in the seeding step. This is probably caused by the deposition of Pt occurring only on the Pt particles, which has been successfully activated on the BDD surface. As the activation step could not totally remove the passivation surface, the area that could be electrodeposited with Pt became smaller than that obtained by wet chemical seeding step.

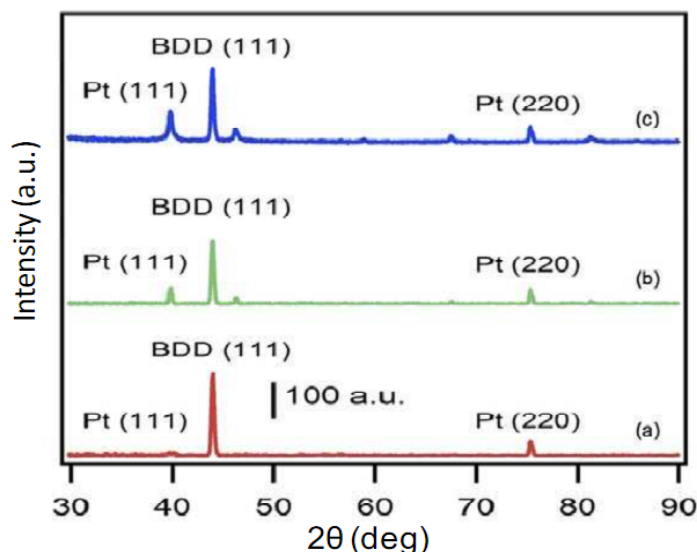


Fig. 6. XRD patterns of Pt-BDD after wet chemical seeding (line a), thermal annealing (line b), and activation step (line c).

3.2 Response measurements of acrylamide biosensor

Hb was immobilized by dropping Hb solution on the Pt-BDD surface. Hb contains electroactive heme groups inside its globin structure. At metal-based electrodes, such as gold and platinum, the measurements of Hb by CV resulted in an oxidation peak of quasi-reversible reaction of $\text{Hb-Fe}^{3+}/\text{Hb-Fe}^{2+}$ as active center.^(6, 7) However, in the presence of acrylamide, adduct compounds of Hb are formed as reaction products between acrylamide and $-\text{NH}_2$ of valine terminals.^(5,28) Such adduct compounds can change the Hb structure, affecting the accessibility of the active center of Hb to electrodes. Thus, slower kinetics occurred and the oxidation current peak intensity active center of heme decreased.^(1,29,30)

Fig. 7 shows a comparison of CV at various concentrations of acrylamide in 0.1 M sodium acetate buffer (pH 4.8) at Hb-Pt, Hb-BDD, and Pt-BDD electrodes. Although the decrease in peak current was observed at around +1.0 V (vs Ag/AgCl) at the Hb-Pt electrode [Fig. 7(a) and 7(b)], the difference was too small to observe. On the other hand, there was no correlation observed between the peak currents with the increase of acrylamide concentration at the Hb-BDD electrode since BDD has very weak responses to haemoglobin [Figs 7(c) and 7(d)]. In the case of the Pt-BDD electrode [Fig. 7(e) and 7(f)], although the oxidation reduction of Pt was observed, acrylamide is not particularly electroactive at both the Pt and BDD electrodes, resulting in the lack of correlation between current and acrylamide concentration.

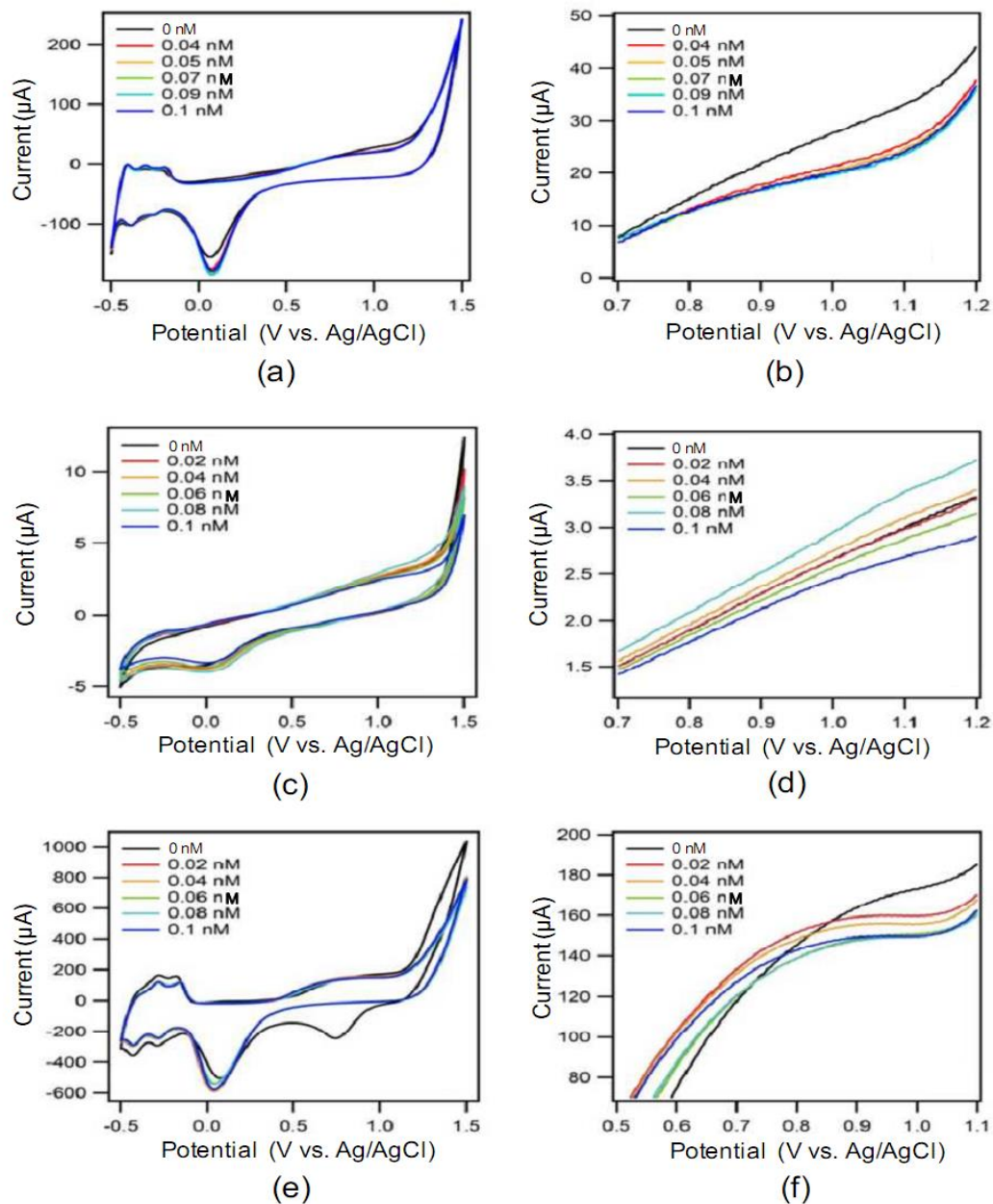


Fig. 7. Cyclic voltammograms of various concentrations of acrylamide and its related magnification at (a and b) Hb-Pt, (c and d) Hb-BDD, and (e and f) Pt-BDD electrodes.

In Hb-Pt-BDD (Fig. 8), typical oxidation peaks at around +1.0 V (vs. Ag/AgCl) were observed to decrease with the increase in acrylamide concentration. The plots of the maximum peak currents to the acrylamide in the concentration range of 0.01 to 0.1 nM show good linearity with $R^2 = 0.991$. The estimated limit of detection (LoD) calculated from the intercept of the linear equation added by standard deviation times three was found to be 0.0085 nM, while that of quantification (LoQ) was 0.026 nM. This LoQ was the lowest concentration could be measured in real measurements. The results indicated that Hb-Pt-BDD could be a promising electrode for an application in an acrylamide biosensor.

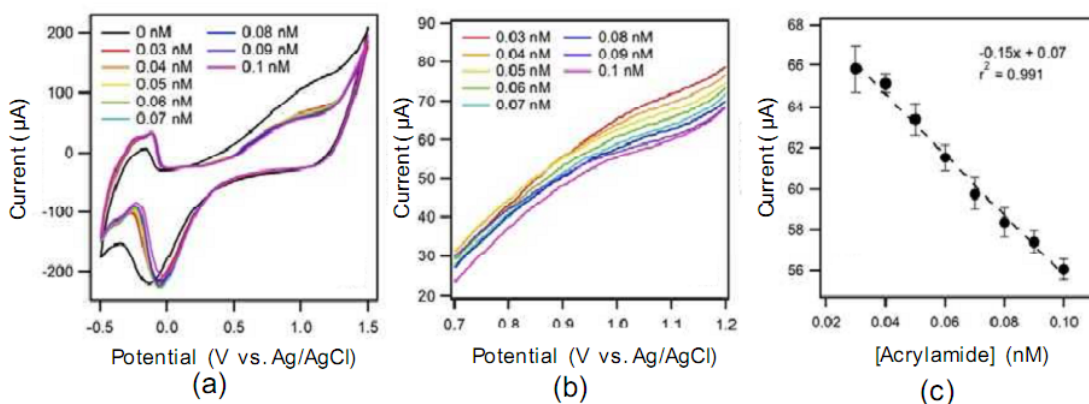


Fig. 8 (a) Cyclic voltammograms of various concentrations of acrylamide Hb-Pt-BDD, (b) its magnification, and (c) peak currents as functions of acrylamide concentration.

Lastly, the stability of Pt-BDD was examined. Figure 9 shows the SEM images of Hb-Pt-BDD after preparation, application as acrylamide sensors, and cleaning Hb. There was no significant difference between the results obtained before and after application for the acrylamide sensors as also observed in the voltammetry responses of acrylamide. The Hb-Pt-BDD electrode could be applied with good stability at least for 10 times applications to make calibration curves of acrylamide in the concentration range of 0.01 to 0.1 nM before the responses decreased.

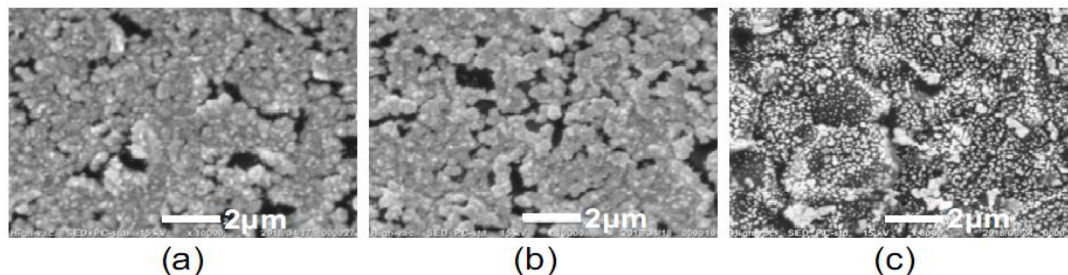


Fig. 9 SEM images of Hb-Pt-BDD (a) as-prepared, (b) after 10 times applications for the acrylamide sensors, and (c) after cleaning by CV in 0.1 M NaClO₄.

EDX measurements were used to characterize the changes observed in the electrodes before and after the application for acrylamide sensors. Table 1 shows that the chemical composition of the electrodes changed before and after applications. Although the mass percentage of Fe on the electrode surface decreased, the Pt composition increased significantly from 81.27 to 97.98%, suggesting that some amount of Hb was released to expose platinum particles under the Hb film.

To remove Hb from the Pt-BDD surface, cleaning with CV in the potential range of -1.0 to $+2.0$ V (vs Ag/AgCl) in 0.1 M NaClO₄ was performed. The SEM image of Pt-BDD after cleaning with CV [Fig. 9(c)] shows that the figure was comparable to BDD before modification with Hb [Fig. 2(e)]. However, further study by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) shows that the mass percentage of Pt increased after cleaning (Table 1). In contrast, the mass percentage of Fe decreased. The decrease in the mass percentage of Fe into zero indicated that Hb could be totally released from the Pt-BDD surface. Further comparison with Pt-BDD before modification with Hb shows that the amount of Pt slightly decreases (by around 4%), suggesting good stability of Pt particles on the BDD surface.

Table 1. Chemical compositions of Pt-BDD electrode in the absence of Hb and Hb-Pt-BDD electrodes preparation, application in acrylamide sensors, and after cleaning with CV in 0.1 m NaClO₄ solution.

Element	Before Hb modification (%mass)	As prepared (% mass)	After application (% mass)	After cleaning (% mass)
C	4.61	16.77	10.96	8.25
O	0.59	1.81	0.91	1.24
Fe	NA	0.15	0.09	NA
Pt	94.80	81.27	87.98	90.60

4. Conclusions

Pt particles have been successfully modified on a BDD surface using several steps, including the wet chemical seeding of Pt particles, the electrochemical overgrowth of Pt seeds, a thermal

annealing at 700 °C under N₂ atmosphere, refresh and activation steps of Pt-BDD by CV. This method gives the high stability of Pt particles induced by modification with haemoglobin and low LoD (0.0085 nM) and LoQ (0.026 nM) for acrylamide sensors. This shows that the method of preparing Pt-BDD was promising for online applications, including foods and environmental monitoring.

Acknowledgments

This research is partly supported by the Hibah Disertasi Doktor 2018 of KEMENRISTEKDIKTI Republic Indonesia with Contract No. 0795/K4/KM/2018.

References

- 1 S. Garabagiu and G. Mihailescu: J. Electroanal. Chem. **659** (2011) 196-200. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.06.003>
- 2 B. Batra, S. Lata, and C.S. Pundir: Bioprocess. Biosyst. Eng. **36** (2013) 1591-1599. <https://doi.org/10.1007/s00444-013-0931-5>
- 3 I. Notardonato, P. Avino, A. Centola, G. Cinelli, and M. V. Russo: Anal. Bioanal. Chem. **405** (2013) 6137-6141. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7001-3>
- 4 Q. Hu, X. Xu, Y. Fu, and Y. Li: Food Control **56** (2015) 135-146. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.021>
- 5 A. Krajewska, J. Radecki, H. and Radecka: Sensors **8** (2008) 5832-5844. <https://doi.org/10.3390/s8095832>
- 6 M. Li, G. Zhao, R. Geng, and H. Hu: Bioelectrochem. **74** (2008) 217-221. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2008.08.004>
- 7 K. Umam, E. Saepudin, and T. A. Ivandini: IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. **188** (2016) 1-5. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/188/1/012006>
- 8 W. Sun, L. Cao, Y. Deng, S. Gong, F. Shi, G. Li, and Z. Sun: Anal. Chim. Acta **781** (2013) 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.010>
- 9 J. V. Macpherson: Phys. Chem. Chem. Phys. **17** (2015) 2935-2949. <https://doi.org/10.1039/c4cp04022h>
- 10 T. A. Ivandini, R. Sato, Y. Makide, A. Fujishima, and Y. Einaga: Chem. Lett. **33** (2004) 1330-1331. <https://doi.org/10.1246/cl.2004.1330>
- 11 F. Pino, T. A. Ivandini, K. Nakata, A. Fujishima, A. Merkoçi, and Y. Einaga: Anal. Sci. **31** (2015) 1061-1068. <https://doi.org/10.2116/analsci.31.1061>
- 12 B. Zargar, N. R. Sahraie, and F. Khoshnam: Anal. Lett. **42** (2009) 1407-1417. <https://doi.org/10.1080/00032710902954441>
- 13 A. Stobiecka, H. Radecka, and J. Radecki: Biosens. Bioelectron. **22** (2007) 2165-2170. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.10.008>
- 14 W. T. Wahyuni, T. A. Ivandini, P. K. Jiwanti, E. Saepudin, J. Gunlazuardi, and Y. Einaga: Electrochem. **83** (2015) 357-362. <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.83.357>
- 15 L. La-Torre-Riveros, E. Abel-Tatis, A. E. Méndez-Torres, D. A. Tryk, M. Prelas, and C. R. Cabrera, J. Nanopart. Res. **13** (2011) 2997-3009. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0196-8>
- 16 L. La-Torre-Riveros, R. Guzman-Blas, A. E. Méndez-Torres, M. Prelas, D. A. Tryk, and C. R. Cabrera: ACS Appl. Mater. Interfaces **4** (2012) 1134-1147. <https://doi.org/10.1021/am2018628>
- 17 T. A. Ivandini and Y. Einaga, Y., 2017, Diamond Electrochemistry, In: Reedijk, J. (Ed.) Elsevier Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Waltham, MA: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12190-0>
- 18 T. A. Ivandini and Y. Einaga, Chem. Commun. **53** (2017) 1338-1347. <https://doi.org/10.1039/c6cc08681k>
- 19 F. Gao, N. Yang, W. Smirnov, H. Obloh, and C. E. Nebel: Electrochim. Acta **90** (2013) 445-451. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.12.050>
- 20 R. Bortolomeazzi, M. Munari, M. Anese, and G. Verardo, Food Chem. **135** (2012) 2687-2693. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.057>
- 21 R. Hoffmann, A. Kriele, H. Obloh, J. Hees, and M. Wolfer: Appl. Phys. Lett. **97** (2010) 052103. <https://doi.org/10.1063/1.3476346>
- 22 P. Kim, J.B. Joo, W. Kim, J. Kim, I. K. Song, and J. Yi: J. Power Sources **160** (2006) 987-990. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.02.050>
- 23 F. Gao, N. Yang, and C. E. Nebel: Electrochim. Acta, **112** (2013) 493-499. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.09.005>
- 24 H. Y. Xu, Y. N. Guo, Y. Wang, J. Zau, J. H. Kang, Q. Gao, H. H. Tan, and C. Jagadish: Appl. Phys. Lett. **106** (2009) 083514. <https://doi.org/10.1063/1.3248372>
- 25 K. Yamamoto, D. M. Kolb, R. Kotz, G. Lehmpfuhl: J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem. **96** (1979) 233-239. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(79\)80380-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(79)80380-0)
- 26 Y. Honda, T. A. Ivandini, T. Watanabe, K. Muarata, and Y. Einaga: Diam. Relat. Mater. **40** (2013) 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2013.09.001>
- 27 J. C. Hamilton and J. M. Blakely: J. Vac. Sci. Technol. **15** (1978) 559-562. <https://doi.org/10.1116/1.569472>
- 28 M. Friedman: J. Agric. Food. Chem. **51** (2003) 4504-4526. <https://doi.org/10.1021/jf030204>
- 29 H. Y. Gu, A. M. Yu, and H. Y. Chen: J. Electroanal. Chem., **516** (2001) 119-126. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(01\)00669-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(01)00669-6)
- 30 J. M. Pinggarón, Y. P. Sedeño, and G. A. Cortés: Electrochim. Acta **53** (2008) 5848-5866. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.03.005>

Lampiran 9 Penyaji poster terbaik Ristekdikti hibah disertasi doktor tahun 2018





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
 Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
 Gedung Kemristekdikti Lt 19, Jl. M.H. Thamrin No. 8, Jakarta 10340
 Telepon: (021) 3101728 Fax: (021) 3101728
 Laman: <http://ristekdikti.go.id>

LAMPIRAN KEPUTUSAN
 DIREKTUR RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
 NOMOR: 3801/E3.4/LT/2018

DAFTAR PENETAPAN POSTER TERBAIK PADA
 SEMINAR HASIL PENELITIAN PENINGKATAN KAPASITAS RISET
 (PKPT, DISERTASI DOKTOR DAN TIM PASCASARJANA) YANG TELAH SELESAI
 TAHUN 2018

Kelompok	Nama	Instansi	Judul	Skim Penelitian
I	Melly Mellyanawaty	Universitas Muhammadiyah Tasikmalaya	Pengaruh Impregnasi Kation Mg ²⁺ Pada Zeolit Sebagai Media Imobilisasi Bakteri Anaerob Terhadap Proses Pembentukan Biogas Dari Pome	Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi
II	Senadi Budiman	Universitas Jenderal Achmad Yani	Prototype Sistem Pemisahan Dan Pemurnian Material Gadolinium Dari Unsur Tanah Jarang (Uj) Kelompok Menengah Secara Ekstraksi Cair-Cair Dan Stripping Bertahap Menggunakan Ekstraktan Dibutilditiophosfat (Dbdtp) Untuk Memenuhi Kebutuhan Industri Dan Bidang Kesehatan Di Indonesia	Penelitian Disertasi Doktor
III	Raden Herni Kusriani	Sekolah Tinggi Farmasi Bandung	Aktivitas Antiproliferasi Terhadap Sel Kanker Serviks Hela Dari Bunga Kecombrang (Elingera Elatior)	Penelitian Disertasi Doktor
IV	Retno Wulandari	Universitas Serang Raya	Pengembangan Biosensor Akrilamida Berbasis Hemoglobin Menggunakan Beron Doped Diamond Termomodifikasi Nanopartikel Platina	Penelitian Disertasi Doktor
V	D Yadi Heryadi	Universitas Siliwangi	Menakar Kinerja Dan Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Keberlanjutan Agribisnis Padi Organik Di Priangan Timur	Penelitian Disertasi Doktor



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
 Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
 Gedung Kemristekdikti Lt. 19, Jl. M.H. Thamrin No. 8, Jakarta 10340
 Telepon: (021) 3101728 Fax: (021) 3101728
 Laman: <http://ristekdikti.go.id>

VI	Misriyani	Universitas Alkhairaat	Pengembangan Material Pt-TiO ₂ Nanotube Berbasis Membran Free Standing Dalam Upaya Peningkatan Kinerja Produksi Hidrogen Sebagai Sumber Energi Terbarukan	Penelitian Pasca Doktor
VII	Nelly Fitriani	Institut Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Siliwangi	Pengembangan Proses Abstraksi Matematik Siswa Smp Melalui Pendekatan Realistic Mathematics Education Dengan Model Van Hiele	Penelitian Disertasi Doktor
VIII	Erwin Hermawan	Universitas Ibn Khaldun	Rancang Bangun Model Sistem Dinamika Spasial Perencanaan Penggunaan Lahan Berkelanjutan Untuk Pengelolaan Das Ciliwung Bagian Hulu	Penelitian Disertasi Doktor
IX	Tjut Awaliyah Zuraiyah	Universitas Pakuan	Deteksi Pola Tajwid Al-Qur'an Menggunakan Algoritma Kode Rantai Dan Speeded-Up Robust Feature (Surf) Untuk Pencarian Dan Pembelajaran Tajwid Pada Al-Qur'an	Penelitian Disertasi Doktor

Ditetapkan di Jakarta
 Pada tanggal 20 November 2018

Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat,

Ocky Karna Radjasa
 NIP. 196510291990031001

Lampiran 10 Poster

