

Review : Perkembangan dan Aplikasi Biosensor untuk Mendeteksi Aflatoksin

Moh. Hayat¹, Inda Mapiliandari¹, Ratnawati Lilasari Djanis², Udin Asrorudin¹, Arie Pratama Putra¹

¹)Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor

²)Program Studi Pengolahan Limbah Industri, Politeknik AKA Bogor
Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

^{*}Email: moh_hayat@aka.ac.id

(Received : 5 Desember 2021; Accepted: 12 Desember 2021; Published: 21 Desember 2021)

Abstrak

Biosensor digunakan untuk mendeteksi suatu analit yang menggabungkan komponen biologis dengan detektor fisikokimia. Sampai saat ini perkembangan teknologi nanomaterial dan biosensor bergerak cepat dengan bahan nanobiorecognition baru yang dikembangkan dan dapat diterapkan sebagai reseptor penginderaan untuk analisis AFB1. Perangkat lab-on-a-chip adalah contoh penerapan sistem mikro/nanoteknologi yang dapat digunakan untuk analisis racun makanan. Rasio luas permukaan terhadap volume tinggi yang dimiliki oleh nanomaterial membuat perangkat ini sangat sensitif dan dapat memungkinkan deteksi molekul tunggal dalam pemantauan kontaminan seperti racun. Nanopartikel logam telah diterapkan dalam biosensor sebagai penanda untuk menggantikan enzim. Nanopartikel juga dapat dimanfaatkan dalam sensor berbasis konduktivitas. Nanopartikel emas mudah digunakan untuk imobilisasi antibodi dan kemudian diterapkan di Enzim Linked Immunosorbent assay (ELISA) pada permukaan elektroda. Immunosensor elektrokimia telah dikembangkan untuk mendeteksi jumlah aflatoksin M1 dalam produk makanan. Sebuah uji immuno-kromatografi cepat dan sederhana juga telah dikembangkan untuk mendeteksi aflatoksin B1 (AFB1). Aplikasi biosensor pada dasarnya meningkat seiring dengan berkembangnya keperluan manusia dan kemajuan iptek. Tetapi secara umum tetap didominasi untuk aplikasi dibidang medis dan lingkungan hidup.

Kata kunci : biosensor; reseptor; nanoteknologi; immunosensor; nanopartikel

Abstract

A biosensor is used to detect an analyte that combines a biological component with a physicochemical detector. Until now, the development of nanomaterial and biosensor technology is moving fast with new nanobiorecognition materials being developed and can be applied as sensing receptors for AFB1 analysis. The lab-on-a-chip device is an example of the application of micro/nanotechnology systems that can be used for the analysis of food toxins. The high surface area to volume ratio of the nanomaterials makes these devices extremely sensitive and can enable single molecule detection in the monitoring of contaminants such as toxins. Metal nanoparticles have been applied in biosensors as markers to replace enzymes. Nanoparticles can also be utilized in conductivity-based sensors. Gold nanoparticles are easily used for antibody immobilization and then applied in Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) on the electrode surface. Electrochemical immunosensors have been developed to detect the amount of aflatoxin M1 in food products. A quick and simple immuno-chromatographic assay has also been developed to detect aflatoxin B1 (AFB1). The application of biosensors is basically increasing along with the development of human needs and advances in science and technology. However, in general, it is still dominated for medical and environmental applications.

Keywords: biosensors; receptors; nanotechnology; immunosensors; nanoparticles

PENDAHULUAN

Biosensor didefinisikan sebagai perangkat bioanalitik yang menggabungkan unsur-unsur pengenalan yang diintegrasikan dengan transduser kimiafisika (Tothill, 2011). Sampai saat ini ada lima jenis transduser yang digunakan

dalam perangkat biosensor, yaitu transduser elektrokimia, optik, sensitif massa, kalorimetrik dan magnetik. Biosensor adalah peralatan terintegrasi serba lengkap yang mampu menentukan dengan spesifik informasi-informasi

analitis menggunakan unsur-unsur reseptor biokimia yang dihubungkan dengan elemen transduksi (Thévenot *et al.*, 1999).

Biosensor digunakan untuk mendeteksi suatu analit yang menggabungkan komponen biologis dengan detektor kimiafisika. Biosensor terdiri dari tiga komponen, yaitu elemen biologis sensitif, elemen detektor dan elemen transduser. Elemen biologis dapat berupa jaringan, mikroorganisme, organel, sel reseptor, enzim, antibodi, dan asam nukleat. Elemen-elemen biologis sensitif dapat dibuat dengan rekayasa biologi. Elemen detektor berfungsi mengindera perubahan karakteristik elemen biologis. Elemen transduser berperan sebagai penghubung kedua elemen tersebut.

Sebuah biosensor yang baik harus memiliki setidaknya beberapa fitur bermanfaat, antara lain : Biosensor harus memiliki sifat spesifik terhadap suatu analit, stabil terhadap kondisi penyimpanan, memiliki stabilitas yang baik; memiliki respon yang akurat, presisi, reproduisibel, dan linier pada rentang deteksi analit; Murah, ringan, portabel, dan mudah sehingga dapat digunakan oleh orang awam sekalipun.

Pada biosensor, interaksi antara analit dan bioreseptor didesain untuk menghasilkan efek pengukuran pada transduser. Bioreseptor digunakan sebagai elemen spesifikitas pada teknologi biosensor. Bioreseptor memungkinkan terbentuknya ikatan antara analit tertentu dengan sensor sehingga dapat diukur dengan meminimalkan interferensi dari komponen-komponen lain.

Aflatoxin merupakan salah satu contoh mycotoxin yang sering dijumpai. Istilah mycotoxin merujuk pada kelompok racun yang dihasilkan dari metabolit sekunder jamur (Paniel, *et al.*, 2010). Kata mycotoxin diturunkan dari bahasa Yunani, mekes yang berarti jamur dan toksikon yang berarti racun. Istilah mycotoxin pertama kali digunakan pada 1960-an untuk menggambarkan toksin yang terkait dengan kontaminasi kacang tanah dalam pakan ternak dan wabah kematian kalkun di Inggris (Turkey-X disease). Racun ini kemudian diidentifikasi sebagai aflatoxin B1. Mycotoxin didefinisikan sebagai “produk alami yang dihasilkan oleh jamur yang membangkitkan respons toksik ketika dikonsumsi dalam konsentrasi rendah oleh vertebrata tingkat tinggi dan hewan lain melalui rute alami” (Ismaiel dan Pappenbrock, 2015).

Aflatoxin dihasilkan oleh jamur *Aspergillus* terutama *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* yang mengkontaminasi produk-produk pertanian seperti kacang-kacangan, sereal, dan pakan ternak (Sharma, *et al.*, 2010 dan Bennett & Klich, 2003). Aflatoxin terdiri dari berbagai jenis, diantaranya aflatoxin B1, B2, G1, G2, M-1, dan M2 (Wacoo *et al.*, 2014). Spesies jamur tersebut dapat tumbuh dengan cepat pada produk-produk makanan dengan rentang perbedaan suhu dan kelembaban udara yang cukup lebar. Suhu optimal untuk produksi

mycotoxin adalah 24 – 35oC. Tanaman yang tumbuh di daerah hangat dan lembab seperti di daerah tropis dan subtropis memiliki kemungkinan terkontaminasi lebih besar. Kontaminasi terhadap bahan makanan akan membahayakan manusia secara langsung karena aflatoxin memberikan efek biologis, antara lain mutagenik, karsinogenik, embrio-toksik, teratogenik, immunosuppressive dan oestrogenik (Paniel, *et al.*, 2010).

Prinsip Deteksi

Berdasarkan prinsip deteksinya, biosensor dapat dibedakan menjadi 5 tipe, yaitu biosensor piezoelektrik, optis, immunosensor, kalorimetrik, dan elektrokimia. Masing-masing tipe akan diuraikan di bawah ini.

a. Biosensor piezoelektrik

Biosensor piezoelektrik berdasarkan fenomena plasmon resonansi permukaan. Sensor piezoelektrik memanfaatkan kristal yang mengalami transformasi fasa ketika arus listrik diterapkan kepada mereka. Kristal piezoelektrik (misalnya quartz) bervibrasi dibawah pengaruh medan listrik. Frekuensi osilasi bergantung pada ketebalan dan jenis kristal. Masing-masing kristal memiliki karakteristik frekuensi tertentu. Frekuensi ini sangat bergantung pada sifat-sifat permukaan kristal. Jika kristal dilapisi dengan elemen pengenal biologis maka akan terjadi pengikatan analit target ke reseptor yang akan menghasilkan perubahan frekuensi resonansi. Perubahan frekuensi resonansi sesuai dengan jumlah analit yang diadsorb atau didesorb pada permukaan kristal. Perubahan frekuensi ini dapat dideteksi dengan mudah.

b. Biosensor Optis

Biosensor optis didasarkan pada perubahan absorbansi atau fluoresensi dari suatu senyawa indikator. Penggunaan paling umum dari teknologi ini adalah sebagai kontrol gula darah bagi penderita diabetes. Dalam kasus ini, biosensor terdiri dari enzim glukose oksidase, horseradish peroxidase (HRP), dan kromogen. Horseradish peroxidase dihasilkan melalui proses oksidasi aerobik dari glukosa, yang akan menimbulkan perubahan warna pada kromogen.

c. Immunosensor

Biosensor dapat juga dikonstruksikan dengan *Enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA). Elisa digunakan untuk mendeteksi reaksi antigen-antibodi. Senyawaan *enzyme-linked* antigen yang terikat pada antibodi ditentukan dari konsentrasi relatif antigen bebas dan terkonjugasi dan diukur sebagai kecepatan reaksi enzimatik. Enzim yang memiliki aktifitas tinggi digunakan untuk mendapatkan respon yang cepat. Teknik ELISA telah digabungkan dengan biosensor, untuk membentuk immunosensor, dalam rangka meningkatkan rentang pengukuran, kecepatan dan sensitivitas.

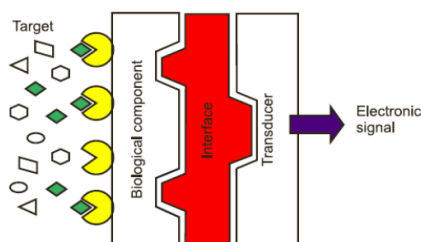
d. Biosensor Kalorimetrik

Sebagian reaksi yang dikatalisis oleh enzim merupakan reaksi eksotermis, yang dapat digunakan sebagai dasar untuk mengukur kecepatan reaksi dan konsentrasi analit. Perubahan temperatur biasanya ditentukan dengan menempatkan thermistor pada ujung-ujung kolom yang berisi enzim terimobilisasi. Dalam kondisi terkontrol 80% panas yang dihasilkan tergambar dalam perubahan temperatur reaksi.

e. Biosensor Elektrokimia

Biosensor elektrokimia biasanya didasarkan pada katalisis enzimatis dari suatu reaksi yang menghasilkan ion. Substrat sensor terdiri dari tiga elektroda, elektroda referensi, elektroda kerja, dan elektroda ketiga. Elektroda lawan juga dapat digunakan sebagai sumber ion. Analit target bereaksi pada permukaan elektroda kerja. Ion yang dihasilkan pada reaksi tersebut akan menimbulkan beda potensial antara elektroda kerja dengan elektroda referensi.

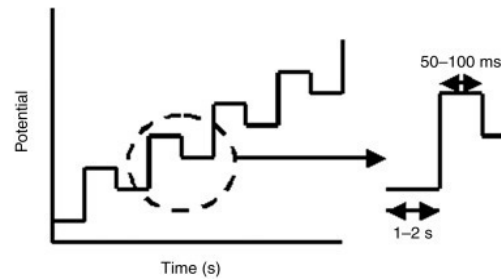
Di antara berbagai jenis biosensor, biosensor elektrokimia merupakan metode yang paling umum digunakan. Hal ini merupakan hasil dari banyaknya penelitian yang mempelajari biointeraksi dan proses deteksi molekul-molekul biologi. Dalam biosensor elektrokimia, perubahan pada fluks elektron akan menghasilkan pembangkitan sinyal elektrokimia, yang diukur dengan detektor elektrokimia (Gambar 1) (Thevenot *et al.*, 1999)



Gambar 1. Representasi skematik biosensor (Thevenot, 1999)

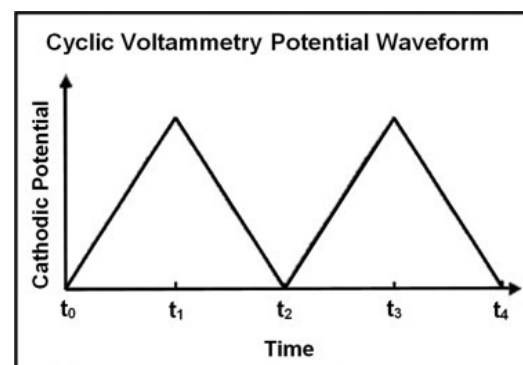
Salah satu subkelas yang paling penting dari sensor elektrokimia adalah voltametri. Sensor voltametri mengukur pengaruh konsentrasi spesies yang terdeteksi terhadap karakteristik arus - potensial dari suatu reaksi oksidasi - reduksi. Metode analisis yang digunakan untuk tujuan ini adalah *differential pulse voltammetry (DPV)*, *cyclic voltammetry (CV)*, dan *khronoamperometri* yang merupakan teknik elektro-analitis untuk mendapatkan respon elektrokimia terbaik (Thevenot *et al.*, 1999).

Differential pulse voltammetry (DPV) adalah teknik yang melibatkan penerapan pulsa potensial amplitudo pada penyapuan potensial linier. Dalam DPV, nilai potensial dasar dipilih di titik yang tidak terjadi reaksi faradaik dan diterapkan ke elektroda. Potensial dasar meningkat antara pulsa dengan nilai kenaikan yang sama. Arus segera diukur sebelum pemberian pulsa dan pada akhir pulsa, perbedaan di antara keduanya dicatat. (F.R Simoes et al., 2017) Kurva DPV dapat dilihat pada Gambar 2.

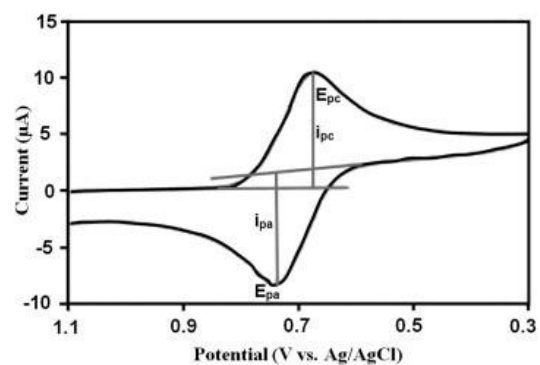


Gambar 2. Differential Pulse Voltametry (F.R Simoes et al., 2017)

Yogesh S. Choudhary (2017) menyebutkan bahwa CV adalah tes elektrokimia dasar untuk uji material. Dalam hal ini, arus dicatat dengan menyapu potensial bolak-balik (dari positif ke negatif dan negatif ke positif) di antara batas yang dipilih. Informasi yang diperoleh dari CV dapat digunakan untuk mempelajari perilaku elektrokimia material. Analisis grafis dari voltamogram siklik memberikan puncak redoks, yang merupakan puncak reduksi dan oksidasi bahan, memprediksi perilaku kapasitif elektroda. Oleh karena itu, potensial di mana suatu material teroksidasi dan tereduksi dapat ditemukan. Voltamogram khas *cyclic* ditunjukkan pada Gambar 3 dan Gambar 4. Pada voltamogram khas *cyclic*, E_{pc} dan E_{pa} adalah potensial puncak katodik dan anodik, dan i_{pc} dan i_{pa} adalah arus puncak katodik dan anodik.



Gambar 3. Bentuk Tegangan Cyclic Voltammetry (Jianlu Zhang, 2013)



Gambar 4. Voltamogram khas cyclic (Jianlu Zhang, 2013)

Kronoamperometri adalah teknik bergantung waktu di mana potensial gelombang persegi

diterapkan pada elektroda kerja. Arus elektroda, diukur sebagai fungsi waktu, berfluktuasi sesuai dengan difusi analit dari larutan curah menuju permukaan sensor. Oleh karena itu, kronoamperometri dapat digunakan untuk mengukur ketergantungan arus-waktu untuk proses terkontrol difusi yang terjadi pada elektroda. Ini bervariasi dengan konsentrasi analit. Chronoamperometry tidak memerlukan pelabelan analit atau bioreseptor dan telah diterapkan dalam banyak penelitian secara independen atau bersama teknik elektrokimia lainnya seperti CV, misalnya, Martins et al. menggunakan kronoamperometri saat mempelajari adsorpsi albumin serum manusia ke lapisan tunggal rakitan (SAM) pada substrat emas (Owen J. Guy and Kelly-Ann D. Walker, 2016).

Perkembangan Biosensor

Sampai saat ini perkembangan teknologi nanomaterial dan biosensor bergerak cepat dengan bahan *nanobiorecognition* baru yang dikembangkan dan dapat diterapkan sebagai reseptor penginderaan untuk analisis AFB1. Fokus pengembangan nanoteknologi penemuan sifat-sifat baru yang muncul pada material ketika ukurannya dikurangi menjadi skala nanometer. Perangkat *lab-on-a-chip* adalah contoh penerapan sistem mikro/nanoteknologi yang dapat digunakan untuk analisis makanan. Perangkat ini dapat dibuat dengan biaya yang relatif murah. Alat ini akan bermanfaat bagi industri makanan dalam memastikan tingkat keselamatan dan kualitas makanan yang tinggi. Rasio luas permukaan terhadap volume tinggi yang dimiliki oleh nanomaterial membuat perangkat ini sangat sensitif dan dapat memungkinkan deteksi molekul tunggal dalam pemantauan kontaminan seperti racun (Saini dan Kaur, 2012).

Penerapan nanoteknologi dalam biosensor dapat berkisar dari perangkat transduser, *recognition ligand*, dan lainnya. Aplikasi nanomaterial dalam pengembangan sensor telah banyak dilakukan karena keunggulan yang dimiliki oleh bahan tersebut. Keuntungan yang diperoleh antara lain adalah miniaturisasi perangkat, menghasilkan sinyal dengan presisi dan akurasi yang tinggi serta amplifikasi sinyal. Nanomaterial juga dapat meningkatkan sensitivitas dari perangkat dan juga memungkinkan pembuatan sistem sensor multipleks seperti protein kepadatan tinggi (Tothill, 2011).

Nanopartikel logam telah diterapkan dalam biosensor sebagai penanda untuk menggantikan enzim. *Stripping voltametry* sebagai teknik elektrokimia dapat diterapkan untuk mendeteksi logam nanopartikel secara langsung, sehingga memungkinkan membuat perangkat tes sederhana. Nanopartikel emas dan perak dapat digunakan dalam metode ini untuk deteksi analit, termasuk nanokristal anorganik lainnya (misalnya ZnS, PbS, CdS). Sifat fisika dan kimia yang unik dari nanopartikel seperti

emas koloid dapat memberikan aplikasi yang sangat baik dalam berbagai teknik biosensing (Tothill, 2011).

Nanopartikel juga dapat dimanfaatkan dalam sensor berbasis konduktivitas. Dalam sensor tersebut, nanopartikel dapat menyebabkan perubahan dalam sinyal pada nanopartikel-antibodi melalui penangkapan antigen pada permukaan sensor (Tothill, 2011). Penerapan nanopartikel emas untuk analisis mikotoksin baru-baru ini dilaporkan. Liu *et al.* (2006) menggunakan nanopartikel emas sebagai penanda (*tag*) dalam desain uji untuk analisis aflatoxin B1. Paper tersebut melaporkan sensitivitas sensor yang baik untuk mendeteksi racun murni. Nanopartikel emas mudah digunakan untuk imobilisasi antibodi dan kemudian diterapkan di Enzim Linked Immunosorbent assay (ELISA) pada permukaan elektroda. Aplikasi nanopartikel emas untuk analisis mikotoksin juga telah dilakukan untuk meningkatkan sinyal enzim yang diterima oleh permukaan transduser elektrokimia (Tothill, 2011).

Pengembangan perangkat mikro/nanosensor untuk analisis racun meningkat karena nanomaterial memiliki karakteristik yang sangat menarik untuk aplikasi ini. Sifat-sifat transpor electron nanomaterial membuatnya sangat sensitif untuk deteksi tingkat rendah. Pengembangan perangkat ini membutuhkan "nanotools" yang meliputi; teknik fabrikasi canggih, analisis dan instrumen metrologi, perangkat lunak untuk penelitian dan pengembangan nanoteknologi, penggunaan litografi, deposisi uap kimia (CVD), pencetakan 3-D, dan nanofluidics (Tothill, 2011).

Selain itu, Liu *et al.* (2006) telah meneliti detektor aflatoxin B1 (AFB1) berdasarkan reaksi bioelektrokatalitik pada elektroda mikro-sisir. Elektroda mikro-sisir telah dibuat dari bahan horseradish peroxidase (HRP), molekul antibodi AFB1, dan nanopartikel emas (nanogold). Detektor mampu mendeteksi AFB1 pada selang linier 0,5-10 ng / mL dengan limit deteksi 0,1 ng / mL. Stabilitas penyimpanan dapat diterima dalam pH 7,0 larutan dapar fosfat pada 40C selama 12 hari.

Suatu sensor berbasis nanopartikel emas juga dapat dihasilkan dari Antibodi Aflatoxin B1 (aAFB1) yang diikatkan secara kovalen dengan cysteamine yang telah difungsionalisasi dengan emas nanopartikel. Kedua bahan tersebut diimobilisasikan pada elektroda emas. Sensor dapat mendeteksi AFB1 pada rentang 10 – 100 ng dL⁻¹, dan limit deteksi 17,9 ng dL⁻¹, sensitivitas 0,45 μ A ng⁻¹, dan waktu respon 60 s (Sharma *et al.*, 2010)

Penelitian tentang immunosensor elektrokimia untuk mendeteksi jumlah aflatoxin M1 (AFM1) dalam produk makanan. Sensor didasarkan pada immunoassay kompetitif dengan menggunakan horseradish peroxidase (HRP) sebagai tag. Nanopartikel magnetik dilapisi dengan antibodi (anti-AFM1). Respon enzimatik diukur secara amperometrik. Immunoassay yang dihasilkan memiliki limit deteksi 0,01 ppb (Paniel et al., 2010).

Wang *et al.*, 2009 melakukan penelitian tentang detektor aflatoksin M1 (AFM1) dalam susu yang didasarkan pada surface plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy (SPFS) yang telah dikembangkan menjadi long range surface plasmons (LRSP). Untuk deteksi AFM1, LRSP dikombinasikan dengan *immunoassay* penghambat. Biosensor dapat mendeteksi AFM1 dalam susu dalam waktu 53 menit pada konsentrasi paling rendah 0,6 pg/mL.

Sebuah uji immuno-kromatografi cepat dan sederhana juga telah dikembangkan untuk mendeteksi aflatoksin B1 (AFB1). Uji ini didasarkan pada penggunaan emas koloid dan poliklonal antibodi (Pab) konjugasi. Dengan metode ini, 10 mg / mL AFB1 terdeteksi dalam waktu kurang dari 10 menit. Sensor uji AFB1 yang dikembangkan juga tidak menunjukkan reaksi silang ke ochratoxin A (OTA) (Moon *et al.*, 2012).

Pengembangan *immunoassay* metode aliran-injeksi dengan deteksi amperometri untuk penentuan aflatoksin M1 (AFM1) dalam susu. Sensor menggunakan pelacak Ag*, AFM1 kovalen digabungkan ke HRP. Sensor dideteksi secara amperometri. Metode ini menunjukkan rentang dinamis konsentrasi antara 20 dan 500 AFM1 ppt, limit deteksi rendah (11 ppt), reproduktifitas baik (RSD <8%). Sampel susu yang berbeda dianalisis dan hasilnya sesuai dengan yang diperoleh oleh HPLC menggunakan metode AOAC 2.000,08 (Badea *et al.*, 2004).

Biosensor AFB1 telah dikembangkan dengan menggunakan NRL array biosensor dengan penambahan Cy5-anti-AFB1. Limit deteksi untuk AFB1 dalam buffer, 0,3 ng/ mL, mengalami peningkatan menjadi antara 1,5 dan 5,1 ng / g dan 0,6 dan 1,4 ng/g bila diukur dalam berbagai produk jagung dan kacang (Sapsford *et al.*, 2006).

Owino *et al.*, (2008) meneliti sebuah immunosensor elektrokimia untuk deteksi aflatoksin B1 (AFB1) dikembangkan berbasis imobilisasi aflatoksin B1-bovine serum albumin (AFB1-BSA) konjugat pada polythionine (PTH) / emas nanopartikel (AuNP)-dimodifikasi elektroda karbon gelas (GCE). Permukaan AFB1-BSA konjugat ditutupi dengan horseradish peroxidase (HRP). Sensor ini memiliki limit deteksi (LOD) 0,07 ng/mL AFB1.

Aplikasi Biosensor

Biosensor memberikan banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Agar memberikan peran identifikasi molekul target baik dalam penelitian maupun aplikasi komersial, biosensor harus memenuhi persyaratan berikut: ketersediaan unsur pengenalan biologis yang cocok, dan dapat digunakan sebagai sistem deteksi portabel sehingga dapat digunakan untuk berbagai sistem pengukuran laboratorium yang peka dalam beberapa situasi.

Aplikasi biosensor pada dasarnya meningkat seiring dengan berkembangnya keperluan manusia dan kemajuan iptek. Secara umum, biosensor banyak

diaplikasikan dibidang medis dan lingkungan hidup. Beberapa bidang aplikasi biosensor antara lain adalah :

- a. Bidang Medis / Farmasi
 - Monitoring glukosa darah penderita diabetes
 - Untuk keperluan dianalisis obat, enzim, dan vitamin
 - Studi Efisiensi Obat
- b. Bidang Lingkungan Hidup
 - Deteksi pencemaran pestisida pada perairan
 - Kontrol polusi
 - Monitoring senyawa toksik di udara, air, dan tanah
 - Penentuan BOD (*biological oxygen demand*)
- c. Deteksi patogen
- d. Penentuan tingkat toksisitas dari suatu bahan
- e. Deteksi dan penentuan organofosfat

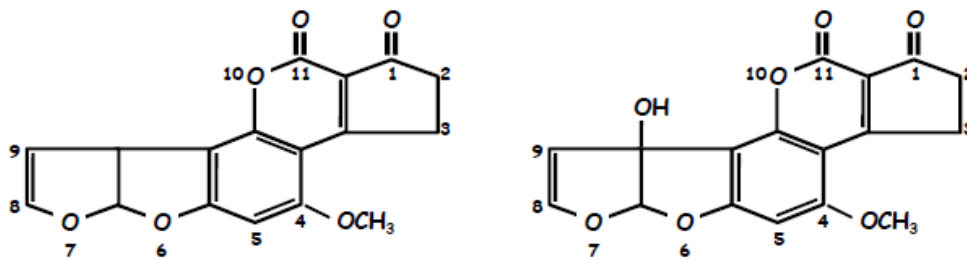
Biosensor juga dapat digunakan sebagai detektor aflatoksin. Aflatoksin merupakan salah satu contoh mikotoksin yang sering dijumpai. Aflatoksin dihasilkan oleh jamur *Aspergillus* terutama *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*. Aflatoksin terdiri dari berbagai jenis, diantaranya aflatoksin B1, B2, G1, dan G2. Spesies jamur tersebut dapat tumbuh dengan cepat pada produk-produk makanan dengan rentang perbedaan suhu dan kelembaban udara yang cukup lebar. Suhu optimal untuk produksi mikotoksin adalah 24 – 35°C. Tanaman yang tumbuh di daerah hangat dan lembab seperti di daerah tropis dan subtropis memiliki kemungkinan terkontaminasi lebih besar. Kontaminasi terhadap bahan makanan akan membahayakan manusia secara langsung karena aflatoksin bersifat mutagenik, karsinogenik, embriotoksik, teratogenik, dan oestrogenik (Hayat, 2016 dan Hayat 2019).

Aflatoksin B₁ (AFB₁) merupakan jenis aflatoksin yang paling beracun. Ketika AFB₁ tertelan oleh seekor sapi melalui pakan yang terkontaminasi, AFB₁ akan berubah bentuk menjadi aflatoksin M₁ (AFM₁) melalui reaksi hidroksilasi enzimatis AFB₁ pada posisi 9a (Gambar 5). AFM₁ akan disekresikan bersama susu yang dihasilkan oleh sapi. AFM₁ bersifat hepatotoksik dan karsinogenik, dan digolongkan ke dalam Grup 1 oleh *International Agency for the Research on Cancer* (IARC).

AFM₁ relatif stabil selama proses pasteurisasi, penyimpanan, maupun proses-proses produk susu lainnya. Hal ini mengakibatkan kontaminasi AFM₁ memberikan pengaruh cukup besar terhadap kesehatan manusia, terutama anak-anak yang merupakan konsumen susu terbesar. Untuk meminimalkan kontaminasi AFM₁ dalam produk susu, perlu dilakukan deteksi sumber kontaminasi menggunakan peralatan yang cepat, selektif, dan sensitif. Biosensor dengan *Immunochemical assay*

merupakan pilihan dengan kelebihan, cepat, sederhana, spesifik, sensitif, portabel.

Untuk deteksi aflatoksin telah dikembangkan suatu biosensor dengan menggunakan NRL array biosensor dengan penambahan Cy5-anti-AFB1. Limit deteksi untuk AFB1 dalam buffer, 0,3 ng/ mL, mengalami peningkatan menjadi antara 1,5 hingga 5,1 ng / g dan 0,6 hingga 1,4 ng / g bila diukur dalam berbagai produk jagung dan kacang (Sapsford *et al.*, 2006).



Gambar 2. (a) Aflatoxin B₁ (b) Aflatoxin M₁ (Paniel, *et al.*, 2010)

Biosensor elektrokimia telah diaplikasikan pada berbagai bidang, mulai dari pemantauan mikro-organisme dalam lingkungan tercemar hingga deteksi glukosa dalam darah. Biosensor elektrokimia telah terbukti menjadi alat yang sangat efektif untuk analisis molekul-molekul biologis. Biosensor sangat sederhana, cepat, murah, portabel, memiliki respon yang dapat diandalkan dalam rentang konsentrasi yang luas, sensitivitas instrumen yang memuaskan dan konsisten, serta memiliki potensi untuk miniaturisasi (Thevenot *et al.*, 1999).

Penelitian yang menggunakan biosensor elektrokimia dilakukan oleh Owino *et al.*, (2008) yang meneliti sebuah immunosensor elektrokimia untuk deteksi aflatoksin B1 (AFB1) dikembangkan berbasis imobilisasi aflatoksin B1-bovine serum albumin (AFB1-BSA) konjugat pada polythionine (PTH) / emas nanopartikel (AuNP) - dimodifikasi elektroda karbon gelas (GCE). Permukaan AFB1-BSA konjugat ditutupi dengan horseradish peroxidase (HRP). Sensor ini memiliki limit deteksi (LoD) 0,07 ng/mL AFB1.

KESIMPULAN

Aflatoxin merupakan cemaran alami yang berbahaya bagi manusia dan hewan karena bersifat karsinogenik. Salah satu metode analisis aflatoxin yang dapat digunakan adalah dengan aplikasi biosensor. Aplikasi biosensor tersebut adalah biosensor dengan *Immunochemical assay*, biosensor dengan menggunakan NRL array, dan biosensor dengan immunosensor elektrokimia. Pemilihan aplikasi biosensor untuk deteksi aflatoxin dapat disesuaikan dengan ketelitian yang dibutuhkan dan kemampuan laboratorium yang dimiliki.

DAFTAR PUSTAKA

- Badea, M., L. Micheli, M.C. Messia, T. Candigliota, E. Marconi, T. Mottram, M.Velasco-Garcia, D. Moscone, G. Palleschi. 2004. *Aflatoxin M1 determination in raw milk using a flow-injection immunoassay system*. Analytica Chimica Acta 520 141–148
- Bennett, J. W., Klich, M.. 2003. *Mycotoxins*. Clinical Microbiology Reviews, vol. 16, no. 3, pp. 497–516.
- F.R. Simões, M.G. Xavier. 2017. *Nanoscience and its Applications*, William Andrew Pub. Boston.
- Hayat, M., E Saepudin, Y Einaga, TA Ivandini. 2019. *CdS Nanoparticle-based Biosensor Development for Aflatoxin Determination*. International Journal of Technology 10 (4), 787-797.
- Hayat, M., TA Ivandini, E Saepudin, Y Einaga. 2016. *Anodic stripping voltammetry of synthesized CdS nanoparticles at boron-doped diamond electrodes*. AIP Conference Proceedings 1729 (1), 020052 2
- International Agency for Research on Cancer. 2002. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. IARC Lyon, vol. 82, pp. 171–274.
- Ismail, A.A., J. Papenbrock. 2015. *Mycotoxins: Producing Fungi and Mechanisms of Phytotoxicity*. Agriculture, 5, pp. 492-537
- Jianlu Zhang, Huamin Zhang, Jinfeng Wu, JiuJun Zhang. 2013. *PEM Fuel Cell Testing and Diagnosis*. Elsevier. amsterdam
- Liu, Y, Z. Qin, X. Wu, H. Jiang. 2006. *Immune-biosensor for aflatoxin B1 based biocatalytic reaction on micro-comb electrode*. J. Biochemical Engineering. 32 211–217

- Martins, M.L., Martins, H.,M. 2000. *Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal*. Food Additives and Contaminants, 17, 871-874.
- Paniel, N., A. Radoi and J. Marty. 2010. *Development of an Electrochemical Biosensor for the Detection of Aflatoksin M1 in Milk*. Sensors 2010, 10, 9439-9448
- Saini, S.S., A. Kaur. 2012. *Aflatoksin B1: Toxicity, characteristics and analysis:Mini review*. Journal of Chemistry and Material Science Vol. 1(4) pp. 063-070
- Sapsford, K. E., C.R. Taitt, S. Fertig, M.H. Moore, M.E. Lassman, C.M. Maragos, L.C. Shriver-Lake. 2006. *Indirect competitive immunoassay for detection of aflatoxin B1 in corn and nut products using the array biosensor*. Biosensors and Bioelectronics 21 2298–2305
- Sharma, A., Z. Matharu, G. Sumarna, P.R. Solanki, C.G. Kim, B.D. Malhotra. 2010. *Antibody immobilized cysteamine functionalized-gold nanoparticles for aflatoxin detection*. Thin Solid Film, vol. 519 issue 3 pp 1213 – 1218
- Thévenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson, G.S., (1999), *Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification*. Pure and applied chemistry, 71, 2333-2348.
- Tothill, I.E. 2011. *Biosensors and Nanomaterials and their Application for Mikotoksin Determination*. World Mikotoksin Journal, 4 (4) 361-374
- Wacoo, A.P., Wendi, D., Vuzi, P.C., Hawumba, J.F.. 2014. *Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops*. Journal of Applied Chemistry, vol. 2014.
- Wang, L., J. Dostálek, W. Knoll. 2009. *Long range surface plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy for the detection of aflatoxin M1 in milk*. J. Biosensors and Bioelectronics. 24 2264–2267
- Yogesh S. Choudhary, Lavanya Jothi and Gomathi Nageswaran. 2017. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. Elsevier. Amsterdam