

PENGEMBANGAN SENSOR FLUORESENSI BERBASIS CARBON QUANTUM DOTS DALAM DETEKSI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*

CICI CITRIA SAHARA¹, PUTRI ZAHRA AULIA RAMADHANI¹, ANISA OKTAVIANI¹, AZFA AULIA², SITI ALDORA SALSABILA², AYI BAHTIAR^{3,4*}

¹Program Studi Fisika, FMIPA, Universitas Padjadjaran

²Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Padjadjaran

³Departemen Fisika, FMIPA, Universitas Padjadjaran

⁴Functional Nano Powder University Center of Excellence (FiNder U CoE), Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor 45363, Sumedang, Jawa Barat

*Corresponding author

Email: ayi.bahtiar@phys.unpad.ac.id

Diserahkan: 24/11/2024

Diterima: 21/01/2025

Dipublikasikan: 06/02/2025

Abstrak. *Carbon Quantum Dots (CQDs)* adalah nanomaterial yang memiliki sifat fluoresensi yang unik. CQDs telah digunakan dalam berbagai aplikasi sensor, termasuk deteksi senyawa organik, logam berat, dan berbagai jenis mikroorganisme. Keunggulan CQDs terletak pada kemampuannya dalam berfluoresensi yang sangat sensitif dan spesifik ketika berinteraksi dengan target tertentu. Dalam penelitian ini, CQDs disintesis menggunakan metode hidotermal, dengan asam sitrat sebagai sumber karbon dan urea sebagai sumber dopan nitrogen. Doping nitrogen berfungsi untuk meningkatkan intensitas fluoresensi dari CQDs. Selanjutnya, CQDs hasil sintesis dikongjugasikan dengan peptida *cecropin P1* dan digunakan untuk mendeteksi bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu mikroorganisme patogen yang dapat menularkan berbagai penyakit bila masuk tubuh manusia melalui makanan dan minuman, salah satunya adalah diare. Hasil pengukuran spektrum fotoluminisensi menunjukkan bahwa CQDs mampu mendeteksi bakteri *Escherichia coli*, dimana intensitas fluoresensi CQDs berkurang seiring meningkatnya penambahan volume bakteri yang diberikan. Kongjugasi *cecropin P1* pada CQDs mampu meningkatkan sensitivitas CQDs 2 (dua) kali lebih tinggi dalam mendeteksi bakteri *Escherichia coli*, dibandingkan dengan CQDs saja. Hasil penelitian ini menawarkan alternatif biosensor untuk mendeteksi bakteri *Escherichia coli* yang lebih sensitif dan cepat.

Kata kunci: *Carbon Quantum Dots*, fluoresensi, *Escherichia coli*, *cecropin P1*, biosensor

Abstract. *Carbon Quantum Dots (CQDs)* are nanomaterials that have unique fluorescence properties. CQDs have been used in a variety of sensor applications, including the detection of organic compounds, heavy metals, and various types of microorganisms. The advantage of CQDs lies in their ability to fluorescence very sensitively and specifically when interacting with certain targets. In this research, CQDs were synthesized using a hydrothermal method, with citric acid as a carbon source and urea as a nitrogen dopant source. Nitrogen doped is used to increase the fluorescence intensity of CQDs. Next, the synthesized CQDs were conjugated with *cecropin P1* peptide and used to detect *Escherichia coli* bacteria. *Escherichia coli* bacteria is a pathogenic microorganism that can transmit various diseases if it enters the human body through

food and drink, one of which is diarrhea. The results of photoluminescence spectrum measurements show that CQDs are able to detect *Escherichia coli* bacteria, where the fluorescence intensity of CQDs is decreased with the increased volume of the bacteria. Conjugation of cecropin P1 to CQDs was able to increase the sensitivity of CQDs twice in detecting *Escherichia coli* bacteria higher than that of CQDs only. The results of this research offer an alternative for detecting *Escherichia coli* bacteria that is more sensitive and faster.

Keywords: Carbon Quantum Dots, fluorescence, *Escherichia coli*, cecropin P1, biosensor.

1. Pendahuluan

Conference of Parties (COP26) yang diselenggarakan oleh WHO pada tahun 2021 menyatakan bahwa perubahan iklim telah berdampak pada kesehatan yang menyebabkan kematian dan penyakit dalam berbagai cara, seperti peristiwa cuaca ekstrem yang semakin sering, gangguan sistem pangan, peningkatan zoonosis dan penyakit bawaan makanan dan air. Makanan dan air yang higienis merupakan kebutuhan utama bagi kelangsungan hidup manusia. Hampir 60% kematian tahunan dilaporkan terjadi hanya karena penyakit yang ditularkan melalui air [1]. Patogen biologis, sebagai kontaminan yang masuk dalam air, merupakan salah satu faktor utama yang menyebabkan kematian pada manusia yang keberadaannya dalam air minum disebabkan oleh kurangnya pengelolaan limbah dan fasilitas sanitasi yang tepat [2]. Salah satu bakteri patogen utama dalam konteks ini adalah *Escherichia coli* (*E. coli*), yang merupakan bakteri gram-negatif yang memiliki potensi berbahaya bagi kesehatan manusia [3].

Bakteri *E. coli* merupakan salah satu mikroorganisme patogen yang dapat menularkan beragam penyakit bila masuk tubuh manusia melalui makanan dan minuman, salah satunya adalah diare. Penyebaran patogen penyebab penyakit ini dapat melalui berbagai media, salah satunya air. Air digunakan secara vital oleh manusia, salah satunya adalah sebagai air minum. Kehidupan bakteri *E. coli* juga dapat menjadi indikator kualitas air [4]. *Quantum Dots* (QDs) menawarkan potensi besar untuk meningkatkan kemampuan sensor dalam mendeteksi dan memantau polutan dengan sensitivitas yang lebih tinggi dan cepat. Penggunaan QDs dalam perangkat diagnostik biosensor telah dilakukan untuk merancang berbagai perangkat guna menghasilkan sinyal yang sebanding dengan konsentrasi analit yang diinginkan dan berfungsi sebagai alat deteksi yang efisien, cepat dan akurat [5,6]. Dalam penelitian ini, dikembangkan *Carbon Quantum Dots* (CQDs) yang merupakan QDs berbahan karbon, yang dikonjugasikan dengan peptida *cecropin* P1 dalam mendeteksi bakteri patogen *E. coli*. Pengembangan *Quantum Dots* (QDs) berbasis karbon yang dikonjugasikan dengan biomolekul diharapkan mampu meningkatkan sensitivitas CQDs [7,8].

CQDs merupakan material fluoresensi 0-dimensi (0D) dengan ukuran partikel < 10 nm, memiliki sifat-sifat fotokimia (*photobleaching*) yang stabil, memiliki biokompatibilitas yang baik, dapat didispersi dalam air, tidak beracun, mudah disintesis dengan cara yang sederhana, ramah lingkungan (*green-synthesis*), serta mudah difungsionalisasi sesuai dengan aplikasi yang digunakan [9]. Mekanisme fluoresensi pada CQDs berkaitan dengan keadaan pada permukaannya, termasuk cacat dan gugus fungsi [10]. Dalam sintesis CQDs, permukaan CQDs diselubungi oleh berbagai gugus-gugus hidrofilik seperti —OH, —C=O atau —COOH [11]. Gugus-gugus ini membuat CQDs dapat difungsionalisasi permukaannya, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi berbagai ion logam dalam bentuk *quenching fluorescence* atau menurunnya intensitas fluoresensi.

Saat ini banyak dikembangkan CQDs fluoresensi sebagai material sensor untuk mendeteksi kandungan logam berat dalam air tercemar, rekognisi sel kanker dan tinta anti pemalsuan dokumen, karena sifat unggul tersebut [12-15]. Dalam penelitian ini, CQDs digunakan dalam mendeteksi bakteri *E. coli* dalam air. Teknik yang digunakan adalah pendekatan *bottom up* yang melibatkan konjugasi dengan sampel kultur menargetkan lapisan permukaan bakteri. Penggunaan sampel kultur dalam pengenalan biomolekul akan memungkinkan penangkapan bakteri patogen dalam sampel air dan pengukuran sinyal transduksi, khususnya dalam bentuk intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh CQDs.

CQDs memiliki efisiensi kuantum fluoresensi (*Fluorescence Quantum Yield*, FQY) yang rendah yaitu 10 % [16]. Doping atom N mampu meningkatkan FQY menjadi 49%, sehingga CQDs banyak digunakan sebagai material untuk aplikasi piranti yang berbasis fluoresensi [7,10]. Dalam penelitian ini, disintesis CQDs dari material murah dan tersedia melimpah di pasar, yaitu asam sitrat ($C_6H_8O_7$) sebagai sumber karbon, dan urea (H_2NCONH_2) sebagai sumber dopan atom N, menggunakan metode hidrotermal. Tujuan dari penelitian adalah untuk menghasilkan CQDs yang didoping atom N atau *N-doped* CQDs, selanjutnya disebut CQDs sebagai material sensor yang dikonjugasi dengan peptida *cecropin* P1 dalam mendeteksi *E. coli* secara cepat dengan sensitifitas yang tinggi. *Cecropin* P1 merupakan peptida antibakteri kationik yang mengandung 31 asam amino dengan 10 amina bebas. *Cecropin* P1 dipilih sebagai biomolekul yang dikonjugasikan dengan CQDs, karena ia mampu mengikat sel bakteri *E. coli* [17], sehingga konjugasi CQDs dengan *cecropin* P1, diharapkan mampu meningkatkan sensitivitas CQDs dalam mendeteksi *E. coli*.

2. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam sitrat (*citric acid*, CA, massa molar 192,124 g/mol) anhidrat, urea (UR, massa molar 60,06 g/mol), 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDS), *N-hydroxysuccinimide* (NHS), natrium asetat anhidrat, *cecropin* P1 dan *nutrient broth*. Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dibuat dengan kultur murni atau isolat.

CQDs disintesis dengan melarutkan sebanyak 192 mg CA dan 228 urea Asam sitrat dalam *deionized water* (DI-*water*), kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 12 jam sampai menghasilkan larutan homogen. Larutan yang sudah homogen, kemudian dimasukkan ke dalam *teflon autoclave* dan dimasukkan ke dalam tungku pemanas (*furnace*) silinder. Proses hidrotermal dilakukan pada suhu 160°C selama 4 jam. Laju pemanasan dari suhu ruang sampai suhu hidrotermal dilakukan dengan kenaikan 5°C/menit. Sedangkan proses pendinginan setelah hidrotermal dilakukan secara alamiah. Setelah proses hidrotermal, larutan ditambahkan dengan etanol dan dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Larutan kemudian disaring dengan 0,22 μ m *microsyringe filter*.

Pembuatan kultur cair bakteri *E. coli*, diawali dengan mempersiapkan bahan untuk membuat medianya yaitu dengan menimbang bubuk media 2,6 gram *nutrient broth* dengan 200 mL akuades. Selanjutnya, dihomogenkan diatas *hot plate* dan *stirrer*. Setelah homogen, media dipindahkan ke gelas *beaker* kecil, kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian media disterilisasi dengan autoklaf. Setelah steril, dilakukan inokulasi bakteri *E. coli* ke dalam media cair dengan keadaan steril untuk mencegah

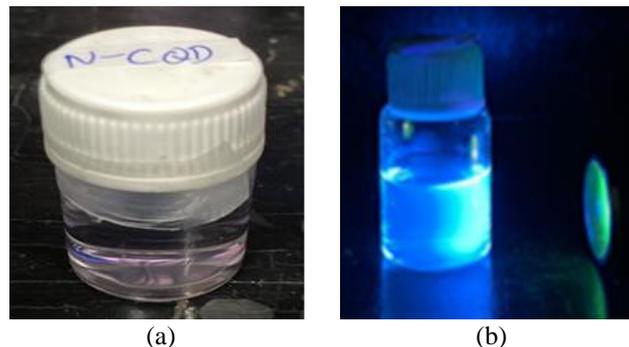
kontaminasi. Setelah semuanya selesai, kultur cair *E. coli* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Dalam uji deteksi bakteri *E. coli*, CQDs dikonjugasikan dengan cecropin P1, melalui pencampuran 1 mL CQDs, 1 mL EDC, dan 1 mL NHS. Campuran tersebut, kemudian dibiarkan bereaksi selama 30 menit pada suhu ruang, dan dilakukan pengadukan ringan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 180 rpm. Kemudian, ditambahkan 2 mL *cecropin* P1 dan larutan dibiarkan bereaksi lagi pada suhu ruang dan *distirrer* pada 180 rpm selama 2 jam. Larutan selanjutnya diencerkan dengan 2 mL *buffer* natrium asetat. Dalam uji deteksi bakteri *E. coli*, CQDs yang belum dan sudah dikonjugasi dengan *cecropin* P1, masing-masing ditambahkan bakteri *E. coli* sebanyak 200 μL , 300 μL dan 600 μL .

Pengujian emisi secara visual CQDs dilakukan dengan penyinaran larutan CQDs menggunakan Laser UV 365 nm di Laboratorium Optik, Departemen Fisika Universitas Padjadjaran. Absorbansi larutan CQDs tanpa dan dengan *E. coli* diukur dengan spektrometer UV-Vis di Laboratorium Fisika Material, Departemen Fisika Universitas Padjadjaran, dan spektrum emisinya diukur dengan spektrometer fluoresensi Shimadzu RF-6000 di *Functional Nano Powder University Center of Excellence* (FiNder U CoE) Universitas Padjadjaran.

3. Hasil dan Pembahasan

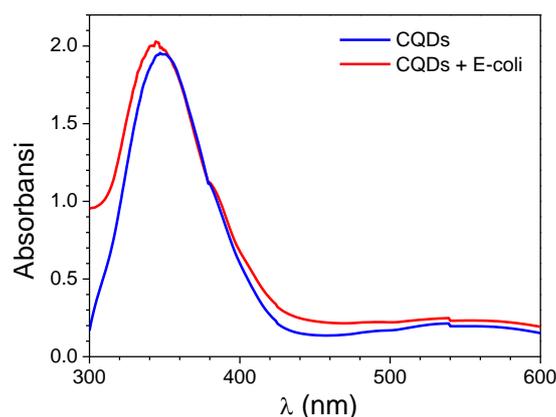
Larutan *N-doped* CQDs hasil sintesis hidrotermal dalam kondisi tanpa dan disinari dengan laser UV 365 nm, diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Foto larutan CQDs (a). Setelah sintesis dan tanpa disinari, (b). Ketika disinari laser UV 365 nm

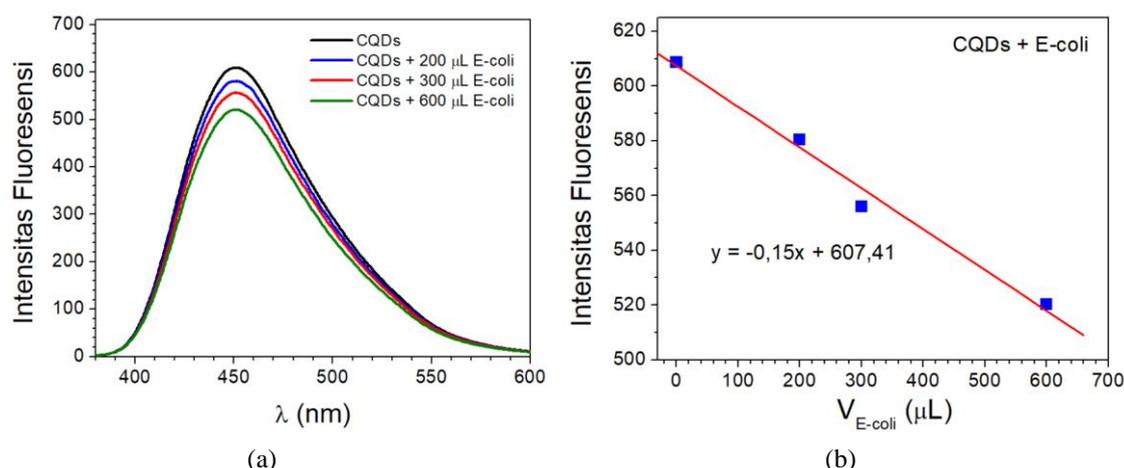
Dalam keadaan di bawah sinar lampu penerangan biasa, larutan tidak berwarna atau bening [Gambar 1(a)]. Namun, larutan memancarkan warna *tosca* jika disinari laser 365 nm [Gambar 1(b)]. Hasil pengukuran HR-TEM yang dilakukan Saputra [18] menunjukkan bahwa emisi CQDs berwarna *tosca*, menunjukkan bahwa CQDs memiliki ukuran partikel sebesar 6,29 nm.

Spektrum absorbansi UV-Vis larutan CQDs tanpa dan dengan penambahan 200 μL *E. coli* diperlihatkan pada Gambar 2.



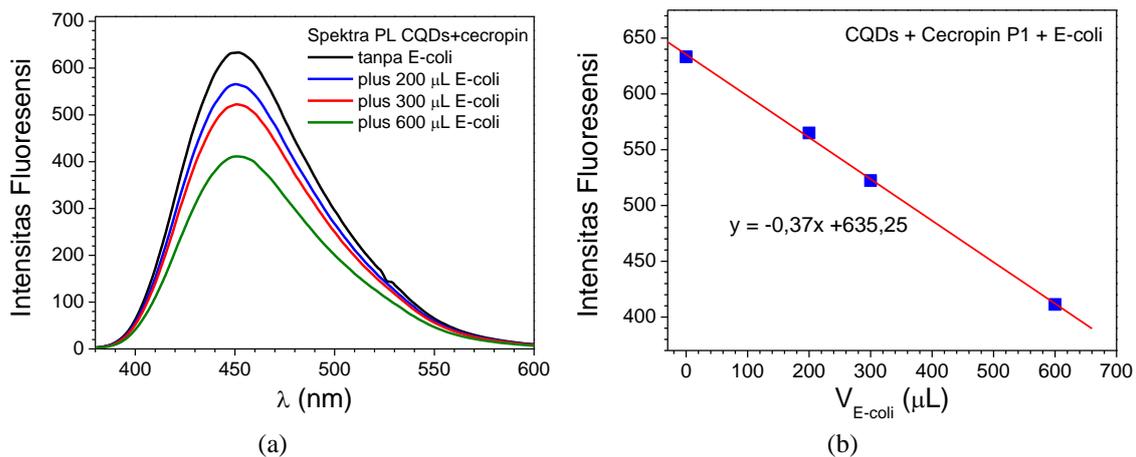
Gambar 2 Spektra absorptansi UV-Vis larutan CQDs tanpa dan dengan penambahan 200 µL *E. coli*

CQDs memiliki puncak absorptansi maksimum pada panjang gelombang 347 nm, diakibatkan oleh transisi dari tingkatan keadaan di permukaan (*surface states*), akibat doping atom N. Penambahan *E. coli* meningkatkan absorptansi, akibat penambahan densitas larutan dan menggeser puncak absorptansi ke panjang gelombang yang lebih kecil, yaitu pada panjang gelombang 343 nm.



Gambar 3 (a). Spektra fluoresensi CQDs tanpa dan dengan penambahan *E. coli* yang dieksitasi pada panjang gelombang 365 nm, (b). Plot linieritas perubahan intensitas fluoresensi CQDs terhadap volume *E. coli*.

Gambar 3(a) memperlihatkan spektra fluoresensi dari larutan CQDs tanpa dan dengan penambahan bakteri *E. coli* dengan konsentrasi yang berbeda. CQDs memiliki puncak emisi pada panjang gelombang 451 nm, jika dieksitasi pada panjang gelombang 365 nm. Hal ini sesuai dengan pengamatan secara visual, bahwa CQDs memancarkan warna *tosca* ketika disinari dengan laser 365 nm [Gambar 1(b)]. Intensitas fluoresensi menurun seiring dengan penambahan volume bakteri *E. coli*, tanpa perubahan panjang gelombang puncak emisinya. Hal ini dimungkinkan oleh tertutupnya CQDs oleh bakteri, sehingga intensitas fluoresensinya berkurang. Perubahan intensitas fluoresensi terhadap volume bakteri *E. coli* diperlihatkan pada Gambar 3(b). Tampak bahwa perubahan intensitas berbanding linier dengan penambahan volume *E. coli* dengan gradien -0.15. Hasil ini menunjukkan bahwa CQDs mampu mendeteksi bakteri *E. coli* dalam volume yang kecil, yaitu 100 mikroliter dan akurat.



Gambar 4 (a). Spektra fluoresensi CQDs yang dikonjugasi dengan *cecropin* P1 tanpa dan dengan penambahan *E. coli*, (b). Plot linieritas perubahan intensitas fluoresensi CQDs plus *cecropin* P1 terhadap volume *E. coli*.

Spektra fluoresensi CQDs yang dikonjugasikan dengan *cecropin* P1 tanpa dan dengan penambahan bakteri *E. coli* ditunjukkan pada Gambar 4(a). Tampak bahwa penambahan *cecropin* P1 tidak mengubah panjang gelombang puncak emisi CQDs, yaitu tetap pada 351 nm. Intensitas fluoresensi berkurang secara linier seiring dengan penambahan volume *E. coli*. Melalui plot grafik perubahan intensitas fluoresensi terhadap volume *E. coli*, tampak bahwa konjugasi CQDs dengan *E. coli* menghasilkan gradien dua kali lebih besar yaitu -0,37, seperti diperlihatkan pada Gambar 4(b). Hal ini berarti konjugasi dengan *cecropin* P1, mampu meningkatkan sensitivitas CQDs 2 (dua) kali lebih tinggi dalam mendeteksi bakteri *E. coli*. Peptida *cecropin* P1 merupakan biomolekul yang umum digunakan untuk mengikat bakteri *E. coli*, karena mengandung 33 asam amino dengan 10 amina bebas [19]. Pengikatan CQDs ke *cecropin* P1 terjadi melalui pengikatan atau penempelan gugus karboksil pada struktur tepi CQDs ke gugus amina yang ada pada *cecropin* P1. Pembentukan ikatan amida tersebut dimungkinkan dengan adanya NHS dan EDC yang mengaktifkan gugus karboksil CQDs, sehingga reaksi konjugasi dapat berlangsung. Akibatnya, penambahan atau konjugasi CQDs dengan *cecropin* P1 mampu meningkatkan sensitivitas CQDs dalam mendeteksi bakteri patogen *E. coli* dan mampu mendeteksi bakteri *E. coli* secara cepat dan akurat. Dengan demikian biosensor berbasis CQDs menawarkan solusi inovatif untuk masalah kesehatan dan lingkungan yang terkait dengan keberadaan bakteri patogen.

4. Simpulan

Carbon Quantum Dots (CQDs) doping atom N telah berhasil disintesis dengan metode hidrotermal. Pengamatan secara visual menunjukkan bahwa CQDs menghasilkan emisi warna *tosca* jika disinari dengan Laser UV 365 nm. Hasil ini dikonfirmasi dengan hasil pengukuran spektrum fluoresensi yang menghasilkan puncak emisi pada panjang gelombang 451 nm. Intensitas fluoresensi CQDs berkurang seiring dengan penambahan bakteri *E. coli* secara linier. Konjugasi CQDs dengan *cecropin* P1, mampu meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi *E. coli* dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan CQDs saja, akibat dari kemampuan *cecropin* dalam mengikat bakteri dan penempelan gugus amida dan gugus karboksil dalam CQDs. Hasil penelitian ini, membuka peluang untuk pengembangan sensor deteksi *E. coli* yang lebih sensitif dan akurat serta cepat.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Skema PKM-Riset Eksakta, dan Bantuan PKM Universitas Padjadjaran Skema Pendanaan Tahun 2024, Nomor: 007/E2/PPK/SPPK/PKM/2024, Tanggal 30 April 2024.

Daftar Pustaka

1. J. H. Lee, H. H. Kim, Y. H. Cho, T. S. Koo, G. W. Lee, Development and evaluation of raloxifene-hydrochloride-loaded supersaturatable SMEDDS containing an acidifier, *Pharmaceutics* Vol 10 (2018), p. 78.
2. M. E. E. Alahi, S. C. Mukhopadhyay, Detection methodologies for pathogen and toxins: A review, *Sensors* Vol. 17 (2017), p. 1885.
3. N. Bhardwaj, S. K. Bhardwaj, D. Bhatt, D. K. Lim, K.-H. Kim, A. Deep, Optical detection of waterborne pathogens using nanomaterials, *TrAC, Trends Anal. Chem.* Vol. 113 (2019), pp. 280-300.
4. W. Zikra, A. Amir, A. A. Putra, Identifikasi bakteri *Escherichia coli* (*E. Coli*) pada air minum di Rumah Makan dan Cafe di Kelurahan Jati serta Jati Baru Kota Padang, *Jurnal Kesehatan Andalas* Vol. 7 (2018), halaman 212-216.
5. B. D. Mansuriya, Z. Altintas, Applications of graphene quantum dots in biomedical sensors, *Sensors* Vol. 20 (2020), p. 1072.
6. T. Li, Z. Li, T. Huang, L. Tian, Carbon quantum dot-based sensors for food safety, *Sensor Actuat. A-Phys.* Vol. 331 (2021), p. 113003.
7. M.A. Farzin, H. Abdoos, A critical review on quantum dots: From synthesis toward applications in electrochemical biosensors for determination of disease-related biomolecules, *Talanta* Vol. 224 (2021), 121828.
8. Y. Liu, H. Zhang, Y. Xu, Quantum Dots for pathogenic bacterial monitoring and combating, *Adv. Opt. Mater.* Vol. 11 (2023), p. 2201826.
9. M. Pan, X. Xie, K. Liu, J. Yang, L. Hong, S. Wang, Fluorescent carbon quantum dots: Synthesis, functionalization and sensing application in food analysis, *Nanomaterials* Vol. 10 (2020), p. 930.
10. R. Wang, K. Q. Lu, Z. R. Tang, Y. J., Recent progress in carbon quantum dots: synthesis, properties and applications in photocatalysis, *J. Mater. Chem. A* Vol. 5 (2017), pp. 3717–3734.
11. H. Ding, X. H. Li, X. B. Chen, J. S. Wei, X. B. Li, H. M. Xiong, Surface states of carbon dots and their influences on luminescence, *J. Appl. Phys.* Vol. 127 (2020), p. 231101.
12. N. T. N. Anh, A. D. Chowdhury, R.-an Doong, Highly sensitive and selective detection of mercury ions using N, S-codoped graphene quantum dots and its paper strip based sensing application in wastewater, *Sens. Actuators B Chem.* Vol. 252 (2017), pp. 1169–1178.
13. L. Li, L. Shi, J. Jia, O. Eltayeb, W. Lu, Y. Tang, C. Dong, S. Shuang, Dual photoluminescence emission carbon dots for ratiometric fluorescent GSH sensing and cancer cell recognition, *ACS Appl. Mater. Interfaces* Vol. 12 (2020), pp. 18250–18257.

14. S. Kalytchuk, Y. Wang, K. Polakova, R. Zboril, Carbon dot fluorescence-lifetime-encoded anti-counterfeiting, *ACS Appl. Mater. Interfaces* Vol. 10 (2018), pp. 29902–29908.
15. S. J. Eda, M. Putriyani, N. O. Azhari, A. Bahtiar, Sintesis tinta printer berfluoresensi berbasis carbon quantum dots berbiaya murah untuk anti pemalsuan dokumen, *Jurnal Ilmu dan Inovasi Fisika (JIIF)*, Vol. 08 (2023), halaman 17-26.
16. J. Liu, R. Li, B. Yang, Carbon dots: A new type of carbon-based nanomaterial with wide applications, *ACS Cent. Sci.* Vol. 6 (2020), pp. 2179–2195.
17. H. G. Boman, B. Agerberth, A. Boman, Mechanisms of action on *Escherichia Coli* of Cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from Pig Intestine, *Infect. Immun.* Vol. 61 (1993), pp. 2978–2984.
18. R. N, Saputra, Pembuatan dan karakterisasi *Carbon Nano Dots* (CND) dari limbah filter rokok, Skripsi, 2021, Program Studi Fisika FMIPA Universitas Padjadjaran.
19. J. A. Bruce, J. C, Clapper, Conjugation of carboxylated graphene quantum dots with cecropin P1 for bacterial biosensing applications, *ACS Omega* Vol. 5 (2020), pp. 26583–26591.