

Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan, Vol. (7) No. (1) 2023

ISSN: 2598-6015 (online)

DOI : [10.30821/kfl;jibt.v7i1.14657](https://doi.org/10.30821/kfl;jibt.v7i1.14657)



Jurnal Klorofil
Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan

Available online <http://jurnal.uinsu.ac.id/index.php/klorofil>

MINI REVIEW: PENGEMBANGAN BIOSENSOR KOLORIMETRI BERBASIS AGREGASI NANOPARTIKEL EMAS

Hana Verdiani ¹, Dinda Syafira ¹, Husna Nugrahapraja ¹

¹Program Studi Bioteknologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

*Corresponding author: nugrahapraja@sith.itb.ac.id

ABSTRACT

Gold nanoparticle (AuNP) is a material commonly used in colorimetric detection for biological sensors due to its low production cost, simplicity, and easy of use. AuNP is known to generate different colors depending on the particle aggregation level. In the last two decades, changes in AuNP aggregation status have become the basis for developing a sensor to detect analytes in the sample. The solution color changes could be observed without using sophisticated equipment, allowing more straightforward interpretation of the detection result. This review focuses on developing AuNP aggregation-based colorimetric tests for detecting various biological analytes. It discusses various mechanisms, strategies, functionalization, the latest research, and perspectives of AuNP use in colorimetric detection, which could be considered for future biosensor development. The concept of aggregation and stabilization of colloidal gold nanoparticles is emphasized in this review.

Keywords: *gold nanoparticle (AuNP), colorimetric, aggregation, stabilization*

ABSTRAK

Nanopartikel emas (AuNP) merupakan material yang saat ini banyak digunakan dalam pendeteksian kolorimetri karena biaya produksinya rendah, sederhana, serta mudah untuk digunakan. AuNP diketahui dapat menampilkan warna larutan yang berbeda bergantung dengan tingkat agregasi partikel. Dalam dua dekade terakhir, perubahan status agregasi AuNP dijadikan dasar dalam pengembangan sensor untuk mendeteksi keberadaan analit dalam sampel. Respon visual yang diperoleh berupa perubahan warna larutan yang dapat dilihat dengan mata tanpa memerlukan peralatan yang canggih memudahkan interpretasi dari hasil deteksi yang didapatkan. Reviu ini berfokus pada pengembangan uji kolorimetri berbasis agregasi AuNP untuk pendeteksian berbagai analit biologis. Dalam reviu ini dibahas berbagai mekanisme, strategi, fungsionalisasi, penelitian terkini, dan perspektif terkait penggunaan AuNP dalam deteksi kolorimetri yang dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pengembangan biosensor kedepannya. Konsep agregasi dan stabilisasi koloid nanopartikel emas ditekankan dalam reviu ini.

Kata kunci: nanopartikel emas (AuNP), kolorimetri, agregasi, stabilisasi

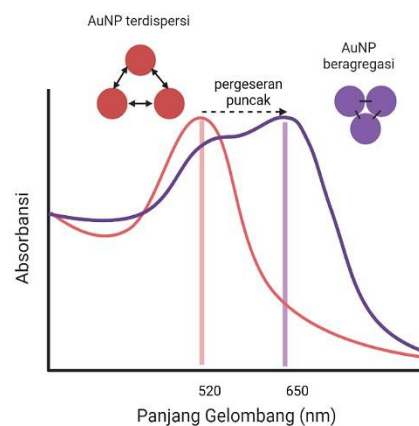
PENDAHULUAN

Metode sederhana yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi molekul kimia dan biologis sangat penting dalam diagnosis suatu penyakit. Pengembangan metode pendeteksian yang cepat dan hemat biaya dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi menjadi suatu tantangan tersendiri. Metode pendeteksian yang ada seperti halnya kromatografi, elektrokimia, field-effect transistors (FET), dan mikrogravimetri umumnya membutuhkan instrumen yang relatif mahal, rumit, serta membutuhkan profesional yang terampil dalam pengoperasiannya (Jayanthi *et al.*, 2017; Rick *et al.*, 2015). Dibandingkan dengan metode tersebut, uji kolorimetri menjadi metode yang menarik untuk dikembangkan karena sederhana, mudah diaplikasikan, serta efektif dari segi biaya (Chang *et al.*, 2016). Selain itu, respon kolorimetri mudah untuk diamati dengan mata tanpa membutuhkan peralatan canggih sehingga dapat digunakan untuk pendeteksian di tempat (Kim & Yoo, 2022). Penggunaan Nanopartikel emas (AuNP) dalam pendeteksian kolorimetri memiliki beberapa keunggulan dibandingkan nanomaterial lainnya. Pertama, sintesis dari AuNP dapat dengan mudah dilakukan dan dapat direproduksi secara umum di laboratorium kimia. Kedua, AuNP memiliki luas permukaan yang besar dan mudah untuk dimodifikasi sehingga memungkinkan AuNP dikonjugasikan dengan berbagai ligan/probe molekuler untuk mendeteksi target kimia maupun biologis (Hammami *et al.*, 2021). Ketiga, AuNP memiliki sifat optik yang bergantung pada status agregasi AuNP yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan biosensor (Aldewatchi *et al.*, 2018). Berbagai Fitur AuNP tersebut menjadi pendorong pengembangan metode deteksi kolorimetri berbasis agregasi AuNP untuk deteksi protein, asam nukleat, dan molekul berukuran kecil lainnya dalam dua dekade terakhir (Chang *et al.*, 2016). Review ini bertujuan untuk memberikan tinjauan singkat tentang perkembangan terkini dalam uji kolorimetri berbasis agregasi AuNP untuk memfasilitasi penelitian lebih lanjut tentang topik ini.

LSPR DARI AuNP

Nanopartikel emas banyak digunakan sebagai sensor kolorimetri karena memiliki sifat optik yang unik yaitu resonansi plasmon permukaan lokal (LSPR) yang mempresentasikan warna pada panjang gelombang serapan maksimal (Dileseigres *et al.*, 2022). Konsep dasar yang mendasari warna merah yang tampak dari AuNP adalah osilasi koheren dari elektron bebas pada permukaan AuNP yang diinduksi oleh medan elektromagnetik pada panjang gelombang yang spesifik (Aldewatchi *et al.*, 2018). Ketika AuNP disinari oleh cahaya tampak, maka panjang gelombang resonansi akan

diserap oleh AuNP dan menyebabkan osilasi elektron permukaan AuNP menyerap cahaya hijau pada ~ 520 nm dari spektrum cahaya tampak. Oleh karena itu, larutan koloidal nanopartikel emas tampak berwarna merah (Dileseigres *et al.*, 2022). Pada kondisi ini nanopartikel emas berada dalam keadaan terdispersi (Gambar 1 garis merah). Namun, ketika setiap individu nanopartikel bergabung membentuk struktur molekul yang besar, maka profil puncak plasmon akan mengalami penurunan secara bertahap dan memunculkan puncak baru antara ~ 600 - 700 nm dengan perubahan warna larutan nanopartikel menjadi ungu (Aldewatchi *et al.*, 2018). Gambar 1 garis ungu menunjukkan skema pergeseran pola spektrum absorptansi nanopartikel emas. Sensitivitas dari sensor kolorimetri sangat bergantung pada konsentrasi dan ukuran AuNP yang ditentukan oleh koefisien molar ekstingsinya (Xia *et al.* 2019). Ukuran yang lebih besar dan konsentrasi AuNP yang lebih tinggi dapat meningkatkan sensitivitas sensor karena koefisien ekstingsi dari permukaan plasmon yang lebih tinggi (Aldewatchi *et al.*, 2018). Penelitian yang disajikan oleh Xia *et al.* (2019) menunjukkan peningkatan sensitivitas sensor pada konsentrasi AuNP yang lebih tinggi dalam mendeteksi kreatinin. Penentuan status agregasi dari spektrum absorptansi dapat ditentukan berdasarkan rasio perbandingan absorptansi dari kemunculan puncak baru dibandingkan dengan puncak awal. Rasio absorptansi (A_{650}/A_{520}) banyak digunakan sebagai indikator derajat agregasi (Njoroge *et al.*, 2015; Qin *et al.*, 2022; Moabelo *et al.*, 2022).



Gambar 1. Properti kolorimetri AuNP. Ketika terdispersi, terbentuk puncak 520 nm (merah). Ketika teragregasi, puncak absorptansi mengalami pergeseran dan warna AuNP berubah menjadi ungu.

STABILISASI AuNP

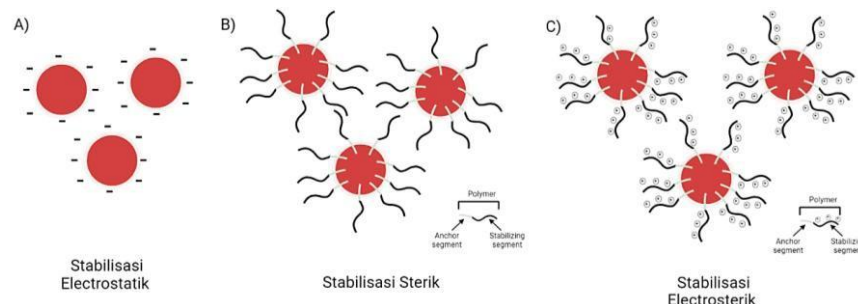
Hal dasar yang penting dalam perancangan deteksi kolorimetri berbasis agregasi AuNP adalah mencegah terjadinya agregasi AuNP ketika tidak terdapat analit

target dalam reaksi. Gaya yang terlibat dalam mengatur stabilitas koloid dan cara pengontrolannya merupakan hal yang penting untuk dipertimbangkan. Fenomena stabilisasi koloid AuNP secara umum dijelaskan oleh teori Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek (DLVO). Berdasarkan teori DLVO, energi potensial yang terjadi antara dua partikel merupakan resultan dari gaya tarik van der Waals dan gaya tolakan yang dihasilkan dari interaksi elektrostatis: $\Delta G = \Delta G_{\text{Van der Waals}} + \Delta G_{\text{elektrostatis}}$ (Guven, 2020; Jiang *et al.*, 2020). Besarnya energi potensial yang dihasilkan dari kombinasi dari gaya Van der Waals dan interaksi elektrostatis ini akan menentukan apakah koloid AuNP akan stabil atau mengalami agregasi (Aldewatchi *et al.*, 2018). Semakin besar energi potensial pada permukaan partikel AuNP, semakin besar pula repulsi antar partikel sehingga AuNP akan semakin stabil (Zhou *et al.*, 2009).

Dalam larutan, AuNP yang tidak bermuatan cenderung membentuk agregat karena adanya gaya tarik Van der Waals (Pamies *et al.*, 2014; M. Khavani *et al.*, 2019). Stabilitas larutan AuNP dapat diperoleh dengan menambahkan molekul stabilisator yang dapat berinteraksi dengan permukaan AuNP. Stabilisator ini dapat berupa molekul kecil bermuatan, polimer, polielektrolit, maupun biomolekul seperti halnya peptida, asam nukleat, dan protein yang dapat meningkatkan repulsi antar partikel AuNP (Bahadur *et al.*, 2014). Stabilisasi dapat dilakukan baik dengan mekanisme elektrostatis, sterik, maupun kombinasi keduanya (Amina & Guo, 2020).

Pada stabilisasi elektrostatis (Gambar 2A), molekul dengan muatan serupa teradsorpsi pada permukaan

AuNP dan membentuk lapisan ganda elektrik yang menghasilkan gaya tolak antar partikel. Gaya tolak antar partikel yang dihasilkan mencegah agregasi nanopartikel dalam fase larutan. Stabilisasi elektrostatis umumnya melibatkan penggunaan stabilisator berupa agen capping bermuatan seperti halnya sodium sitrat, polioksianion, dan karboksilat. Stabilisasi ini dapat dikontrol dengan mengendalikan variabel tertentu seperti pH, konsentrasi, dan suhu (Amina & Guo, 2020). Pada stabilisasi sterik (Gambar 2B), ligan yang diserap atau diikat di permukaan AuNP akan membentuk penghalang fisik yang mencegah AuNP beragregat. Efek stabilitas dari mekanisme ini sangat ditentukan oleh ukuran molekuler dan kepadatan ligan. Umumnya, stabilisasi sterik partikel koloid dapat diperoleh dengan mengikat makromolekul seperti halnya polimer ke permukaan AuNP baik dengan cara grafting ataupun adsorpsi kimia (Wang *et al.*, 2020). Mekanisme elektrostatis dan sterik diketahui dapat dikombinasikan untuk meningkatkan stabilitas AuNP yang dikenal dengan stabilisasi elektrosterik (Gambar 2C) (Benelmekki, 2019). Stabilisasi tipe ini menggunakan polielektrolit sebagai surfaktan polimer yang memberikan efek gabungan tolakan elektrostatis dan sterik dalam satu molekul. Polielektrolit yang digunakan sedikitnya harus memiliki satu jenis gugus yang dapat terionisasi seperti halnya seperti karboksilat atau gugus asam sulfonat (Piacenza *et al.*, 2018). Polielektrolit seperti halnya *polystyrene sulfonic acid* (PSS), *polyvinyl sulfonic acid* (PVSA), *polyacrylic acid* (PAA) dan *polyethyleneimine* (PEI) bisa menjadi stabilisator yang efektif dalam mekanisme ini (Chavalitku *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Raja *et al.*, 2022).



Gambar 2. Skema representasi stabilisasi koloidal nanopartikel emas melalui A) molekul bermuatan kecil pada permukaan AuNP (Stabilisasi elektrostatis); B) Konjugasi polymers (stabilisasi sterik) dan C) Polimer bermuatan (elektrosterik stabilisasi).

MEKANISME PENGUJIAN BERBASIS AGREGASI NANOPARTIKEL EMAS

Pendekatan metode kolorimetri berbasis agregasi nanopartikel emas merupakan salah satu jenis metode deteksi yang cepat dan ramah pengguna. Metode ini menarik karena pengembangan sensor hanya

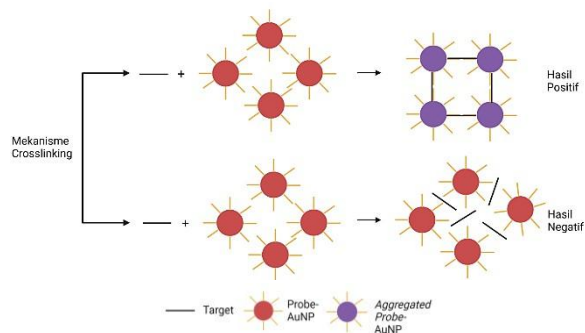
memanfaatkan perubahan warna larutan koloidal nanopartikel emas dari merah menjadi ungu/biru dan pergeseran pita plasmon permukaan (surface plasmon band shift). Secara umum, uji kolorimetri berbasis agregasi secara umum dapat dibagi menjadi 2 mekanisme yaitu *cross-linking* dan *non-cross linking* (Gambar 3).



Gambar 3. Konsep pendeteksian kolorimetri berbasis agregasi AuNP

Mekanisme cross-linking

Pada mekanisme *cross-linking*, partikel AuNP membentuk agregat melalui perantara analit yang berperan sebagai *crosslinker*. Analit ini biasanya memiliki dua situs pengikatan yang menghubungkan partikel AuNP satu dan lainnya. Mekanisme *cross-linking* diaplikasikan pada penelitian yang dilakukan oleh Heidari *et al.* (2021) untuk mendeteksi RNA dari bovin virus. Pada penelitian ini RNA target memiliki dua situs yang berkomplemen dengan probe yang terimobilisasi pada permukaan AuNP. Hibridisasi molekul target dengan probe-AuNP akan menyebabkan AuNP mengalami agregasi dan mengalami perubahan warna larutan menjadi keunguan. Namun, partikel AuNP akan tetap menyebar dan berwarna kemerahan apabila tidak terdapat RNA target di dalam sampel (Gambar 4).

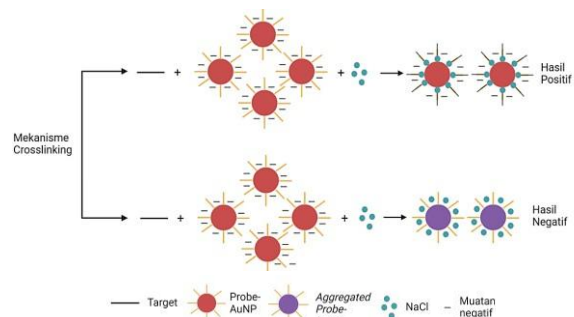


Gambar 4. Mekanisme *cross-linking* pada pengujian berbasis agregasi AuNP.

Pengembangan uji agregasi dengan mekanisme *cross-linking* memiliki beberapa kelemahan. Tipe pengujian ini terbatas pada kasus analit yang memiliki setidaknya minimal dua situs pengikatan ligan (Xu *et al.*, 2022). Selain itu, proses agregasi AuNP yang diinduksi oleh *crosslinker* terkadang membutuhkan waktu yang cukup lama untuk AuNP dapat sepenuhnya teragregasi (Lam *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2014; Valentini & Pompa, 2013). Interaksi ini juga dapat terhambat jika ligan memiliki situs pengikatan target yang sulit diakses. Hal ini dapat memperpanjang waktu deteksi karena reaksi kinetika yang lambat (Aldewachi *et al.*, 2018).

Mekanisme non-crosslinking (NCL)

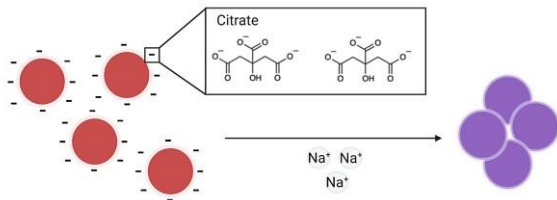
Untuk mengatasi kendala mekanisme CL, saat ini dikembangkan alternatif dalam mengontrol fenomena agregasi AuNP melalui mekanisme *non cross linking*. Tidak seperti metode CL, NCL tidak membutuhkan analit yang berperan sebagai *crosslinker* untuk menghubungkan partikel AuNP dalam untuk menginduksi fenomena agregasi. Pada mekanisme ini, agregasi AuNP diinduksi oleh adanya penambahan larutan garam dalam reaksi. Hibridisasi molekul target dengan probe akan melindungi AuNP dari agregasi yang diinduksi larutan garam sehingga larutan akan tampak berwarna merah (Gambar 5) (Heidari *et al.*, 2021).



Gambar 5. Mekanisme *non-crosslinking* pada pengujian berbasis agregasi AuNP.

Kebanyakan penelitian yang berbasis NCL memanfaatkan kondisi stabilisasi nanopartikel dengan capping ion sitrat pada permukaannya (Tabel 1). Larutan koloidal nanopartikel emas yang berwarna merah distabilisasi secara elektrostatik oleh adanya gugus bermuatan kecil dari sitrat. Muatan negatif dari sitrat dapat menyelubungi permukaan nanopartikel, membuatnya tetap dalam kondisi terdispersi. Peristiwa agregasi sendiri dapat diinisiasi oleh adanya perubahan stabilitas AuNP akibat adanya penambahan larutan garam seperti NaCl yang menyebabkan netralisasi muatan negatif dari ion sitrat (Gambar 6). Adanya modifikasi yang menyebabkan perubahan muatan pada permukaan nanopartikel berdampak pada terjadinya penurunan gaya tolakan elektrostatik diantara nanopartikel emas. Akibatnya, terjadi penurunan jarak antar partikel yang ditunjukkan dengan pembentukan agregat nanopartikel. Ukuran partikel yang membesar menyebabkan pergeseran pita plasmon dengan perubahan warna larutan koloidal nanopartikel emas dari merah menjadi ungu (Aldewatchi *et al.*, 2018). Strategi ini diaplikasikan dalam pengembangan biosensor oleh Zhu *et al.* (2018) untuk mendeteksi A β 1–40 oligomers (A β O) yang merupakan biomarker dalam memonitor perkembangan penyakit Alzheimer. Selanjutnya, He *et al.* (2020) juga menggunakan pendekatan yang sama untuk diaplikasikan dalam

memonitor konsentrasi ochratoxin A (OTA) yang keberadaannya dapat menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Aplikasi dari metode agregasi untuk mendeteksi analit target ini, dilakukan dengan membandingkan perbedaan kondisi larutan koloidal nanopartikel yang teragregasi dan tidak teragregasi.

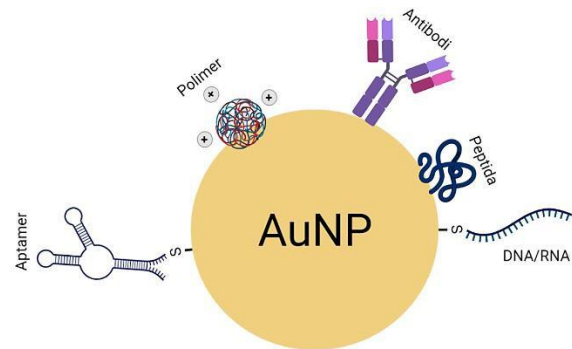


Gambar 6. Representasi skema umum netralisasi ion sitrat oleh ion natrium menyebabkan perubahan warna dari anggur merah menjadi ungu.

FUNGSIONALISASI AuNP

Perkembangan bioteknologi memunculkan berbagai inovasi pengembangan alat biosensor kolorimetri berbasis nanopartikel emas yang dapat mendeteksi berbagai jenis target. Rasio permukaan-volume yang besar, memungkinkan nanopartikel emas untuk difungsionalisasikan dengan berbagai macam ligan pada permukaannya (Aldewatchi *et al.*, 2018). Selain itu, penempelan ligan pada permukaan AuNP dapat membantu meningkatkan stabilitas koloid dengan memberikan tambahan gaya tolakan elektrostatis, sterik ataupun kombinasi keduanya sehingga dapat membantu meningkatkan stabilitas sistem koloid dalam kondisi garam yang tinggi serta meningkatkan kinerja dari sensor (Yu *et al.*, 2019). Adsorpsi ligan ke permukaan nanopartikel emas dapat terjadi melalui adsorpsi pasif ataupun dengan bantuan penambahan gugus thiol. Gugus thiol dapat memberikan afinitas pengikatan yang kuat pada permukaan nanopartikel emas. Gugus thiol dan ligan dapat menempel ke permukaan nanopartikel emas melalui interaksi kovalen (Yu *et al.*, 2019). Gambar 7 menunjukkan fungsionalisasi biosensor kolorimetri berbasis nanopartikel emas yang dimodifikasi dengan berbagai ligan pada permukaan AuNP. Fungsionalisasi AuNP dengan ligan dapat dilakukan dengan mengkonjugasikan biomolekul seperti peptida, oligonukleotida untai tunggal, aptamer, polimer, antibodi.

Ligan yang berbeda dapat mendeteksi berbagai macam target molekul seperti ion toksik, obat, protein, asam nukleat hingga cemaran pada makanan. Berbagai studi yang mengembangkan metode deteksi ini dirangkum pada Tabel 1.



Gambar 7. Permukaan nanopartikel emas dapat dikonjugasikan dengan berbagai macam ligan baik melalui perantara gugus thiol ataupun dengan adsorpsi secara pasif.

Jenis ligan yang banyak digunakan dalam pengembangan biosensor kolorimetri berbasis AuNP adalah antibodi dan aptamer. Fungsionalisasi AuNP dengan imobilisasi antibodi (Abs) pada permukaannya, memanfaatkan mekanisme biologi yaitu interaksi antibodi-antigen. Antibodi diketahui memiliki kemampuan pengenalan antigen yang sangat spesifik sehingga banyak digunakan dalam pengembangan alat deteksi (Liu *et al.*, 2015). Penelitian yang disajikan oleh Larossi *et al.* (2018), menggunakan poliklonal *antibuman immunoglobulin G* (IgG) yang terimobilisasi pada permukaan AuNP untuk mendeteksi keberadaan antigen di beberapa situs pengikatan (*epitope*). Dalam sistem ini, antigen berperan sebagai *linker* diantara kompleks Antibodi-AuNP. Agregasi dari AuNP diinduksi oleh keberadaan linker antigen yang menyebabkan pembentukan kluster nanopartikel. Pembentukan agregat menyebabkan perubahan warna larutan menjadi ungu. Lesniewski *et al.* (2014) juga memanfaatkan prinsip pendeteksian yang sama untuk mendeteksi keberadaan T7 Bakteriofaga oleh anti-T7 antibodi. Penelitian Larossi *et al.*, Lesniewski *et al* dan pada kebanyakan penelitian fungsionalisasi nanopartikel emas dengan antibodi, menggunakan metode imobilisasi Abs pada permukaan yang dihubungkan dengan linker atau mediator. Namun, metode ini seringkali membutuhkan prosedur kimiawi yang cukup panjang. Selain itu, pengembangan dan manufaktur antibodi monoklonal membutuhkan waktu yang lama dengan biaya produksi yang sangat mahal. Jika digunakan antibodi poliklonal biaya produksi lebih cepat dan murah namun kemungkinan interaksi *non*-spesifik target dan reaksi silang positif palsu menjadi lebih meningkat (Voskuil *et al.*, 2014).

Strategi yang juga tidak kalah menarik dan menjadi populer saat ini memanfaatkan biosensor aptamer. Aptamer merupakan oligonukleotida tunggal pendek

dengan panjang 20-100 mer yang banyak diaplikasikan sebagai alat biosensor (Katiyar *et al.*, 2013). Dibandingkan dengan antibodi, aptamer lebih mudah dan lebih efektif dari segi biaya untuk diproduksi melalui sintesis secara kimiawi (Gan *et al.*, 2022). Sama halnya seperti antibodi, aptamer memiliki kemampuan pengikatan dengan afinitas yang tinggi terhadap target juga fleksibilitas dalam mendeteksi berbagai jenis molekul target. Spesifisitas terhadap target tertentu ditentukan oleh desain dari aptamer tersebut. Nanopartikel emas yang dikonjugasikan dengan aptamer mampu meningkatkan kinerja sensor dan sensitivitas alat deteksi (Nguyen *et al.*, 2021). Aptamer dapat berinteraksi dengan molekul target melalui pembentukan struktur sekunder yang spesifik.

Baru-baru ini, Aithal *et al.* (2022) melaporkan metode sederhana dan sensitif untuk mendeteksi protein spike dari SARS-CoV-2. Dilaporkan bahwa berdasarkan spektrum absorbansi plasmon, aptasensor yang dikembangkan memiliki batas minimum dalam mendeteksi target hingga 16 nM. Aptamer yang berikatan dengan target menempel pada permukaan AuNP dibantu oleh penambahan gugus thiol pada ujung aptamer. Keberadaan protein memberikan muatan tambahan pada nanopartikel sehingga meningkatkan stabilisasi sterik dan elektrostatis dan mencegah terjadinya agregasi. Sebaliknya saat tidak ada protein spike, maka penambahan garam akan menyebabkan AuNP kehilangan stabilitasnya dan terjadi agregasi. Biosensor berbasis aptamer ini dapat mendeteksi target protein spike dari SARS-CoV-2 secara spesifik. Kejadian pandemik COVID-19, mendesak berbagai pengembangan alat diagnosis virus. Diagnosis yang tepat waktu dan akurat merupakan mata rantai penting dalam mengendalikan penyakit menular. Kolorimetri aptasensor berbasis nanopartikel emas merupakan salah satu alternatif alat deteksi sederhana, cepat dan hemat biaya dengan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi. Diagnosis berbasis aptamer dapat menjadi alternatif yang menjanjikan dalam mendeteksi berbagai molekul dan menanggulangi kejadian luar biasa seperti pandemi di masa mendatang. Di sisi lain, Zu *et al.* (2018) mengembangkan kolorimetri aptasensor untuk mendeteksi protein A β O_s (A β 1–40) dengan mengamati perbedaan spektrum absorbansi UV-Vis pada kondisi agregasi (tidak ada target) dan stabilisasi (ada target). Aptasensor yang diusulkan ini berhasil mendeteksi target protein dengan rentan 1-600 nM dan LOD 0.56 nM. Pengembangan pengujian kolorimetri dengan aptasensor ini merupakan salah satu terobosan yang menjanjikan untuk memberikan informasi yang dapat diterapkan dalam diagnosis dini penyakit Alzheimer.

Tabel 1. Fungsionalisasi kolorimetri AuNP dengan berbagai ligan dan analit yang dideteksi.

Penulis	Tahun	Ukuran dan <i>Capping</i> NP	Analit Target	Fungsionalisasi	LOD
Aithal <i>et al</i>	2022	AuNP 20 nm	Spike protein	Aptamer	16 nM
Chen <i>et al</i>	2021	AuNP <i>citrate capping</i>	Protein BSA, HRP, Pep, Hem, EA, Try, Myo, Cyt-C, Con	SsDNA	20 nM
Antonio <i>et al</i>	2020	AuNP <i>citrate capping</i>	C-reactive protein	Aptamer	1.2 μ g/mL
Zhu <i>et al</i>	2018	AuNP 15 nm, <i>citrate capping</i>	A β 1-40 oligomers	Aptamer	0.56 nM
Larossi <i>et al</i>	2018	AuNP 40 nm, <i>citrate capping</i>	Antigen	Polyclonal antihuman Immunoglobulin G (IgG)	700 pM
Mondal <i>et al</i>	2018	AuNP 20 nm	Staphylococcal Enterotoxin B	Aptamer	50 ng/mL
Wang <i>et al</i>	2017	AuNP 13.5 nm, <i>citrate capping</i>	Abcisic acid (ABA)	Aptamer	0.33 μ M
Ahn <i>et al</i>	2016	AuNP 12 nm	Protein SPL-12	SsDNA	
Delkhahi <i>et al</i>	2016	AuNP 13 nm, <i>citrate capping</i>	miR-137 Alzheimer	SsDNA	0.25 nM
Liu <i>et al</i>	2015	AuNP 13 nm, <i>citrate capping</i>	Influenza A virus	Antibody	7.8 units
Chen <i>et al</i>	2014	AuNP <i>citrate capping</i>	Protease	Peptide	
Lesniewski <i>et al</i>	2014	AuNP 30 nm	T7 Bacteriophage	Anti-T7 antibody	18 pM
Choi <i>et al</i>	2013	AuNP <i>citrate capping</i>	PSA (Prostate-specific antigen)	Peptide	10 pM
Shwetha <i>et al</i>	2013	AuNP 10 nm, <i>citrate capping</i>	p53 protein	Aptamer	0.2 ng/ml

KESIMPULAN

Kami telah merangkum kemajuan terbaru dalam pengembangan biosensor kolorimetri berbasis agregasi nanopartikel emas. Kunci dalam pengujian dengan pendekatan kolorimetri ini adalah strategi pengendalian agregasi dan dispersi koloidal nanopartikel emas. Saat AuNP berada dalam kondisi terdispersi, larutan koloidal nanopartikel emas distabilisasi oleh adanya molekul stabilisator berupa molekul kecil bermuatan. Pada kondisi ini larutan koloidal nanopartikel emas tampak berwarna merah. Namun, ketika individu nanopartikel bergabung membentuk struktur molekul yang besar, maka akan terjadi perubahan warna larutan menjadi ungu. Rasio absorbansi A₆₅₀/A₅₂₀ banyak digunakan sebagai indikator untuk menentukan tingkat agregasi AuNP. Strategi stabilisasi dengan mekanisme elektrostatis, sterik, maupun elektrosterik dapat digunakan untuk mencegah terjadinya agregasi AuNP ketika tidak terdapat analit target dalam reaksi. Parameter muatan pada permukaan (jumlah dan kerapatan muatan) dan jenis ligan yang dikonjugasikan pada permukaan sangat penting dalam menentukan mekanisme agregasi crosslinking antar partikel maupun mekanisme agregasi non crosslinking.

Imobilisasi ligan pada permukaan AuNP dapat meningkatkan stabilitas koloidal AuNP secara signifikan. Berbagai jenis ligan telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi berbagai jenis target biomolekul. Fungsionalisasi AuNP dengan antibodi dan aptamer menunjukkan pengikatan terhadap target dengan afinitas yang kuat dengan spesifisitas yang tinggi. Dibandingkan dengan antibodi aptamer memiliki keunggulan dari sisi pengembangan yang cepat dan biaya yang murah. Dari berbagai penelitian menunjukkan kemampuan aptamer yang sensitif dan spesifik dalam mendeteksi molekul target membuatnya cocok untuk dikembangkan sebagai biosensor. Di akhir, kami mendorong peneliti untuk mengembangkan metode kolorimetri berbasis aptamer yang difungsionalisasikan dengan aptamer.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J., Choi, Y., Lee, A. R., Lee, J. H., & Jung, J. H. (2016). A duplex DNA-gold nanoparticle probe composed as a colorimetric biosensor for sequence-specific DNA-binding proteins. *Analyst*, 141(6), 2040-2045.
- Aithal, S., Mishriki, S., Gupta, R., Sahu, R. P., Botos, G., Tanvir, S., ... & Puri, I. K. (2022). SARS-CoV-2 detection with aptamer-functionalized gold nanoparticles. *Talanta*, 236, 122841.
- Aldewachi, H., Chalati, T., Woodroffe, M. N., Bricklebank, N., Sharrack, B., & Gardiner, P. (2018). Gold nanoparticle-based colorimetric biosensors. *Nanoscale*, 10(1), 18-33.
- Amina, S. J., & Guo, B. (2020). A review on the synthesis and functionalization of gold nanoparticles as a drug delivery vehicle. *International journal of nanomedicine*, 15, 9823.
- António, M., Ferreira, R., Vitorino, R., & Daniela-da-Silva, A. L. (2020). A simple aptamer-based colorimetric assay for rapid detection of C-reactive protein using gold nanoparticles. *Talanta*, 214, 120868.
- Bahadur, K. C., Thapa, B., & Bhattarai, N. (2014). Gold nanoparticle-based gene delivery: Promises and challenges. *Nanotechnology Reviews*, 3(3), 269-280. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2013-0026.aldw>
- Benelmekki, M. (2019). *Nanomaterials: the original product of nanotechnology*. Morgan & Claypool Publishers.
- Chang, C. C., Chen, C. P., Wu, T. H., Yang, C. H., Lin, C. W., & Chen, C. Y. (2019). Gold nanoparticle-based colorimetric strategies for chemical and biological sensing applications. *Nanomaterials*, 9(6), 861.
- Chang, D., Zakaria, S., Deng, M., Allen, N., Tram, K., & Li, Y. (2016). Integrating deoxyribozymes into colorimetric sensing platforms. *Sensors*, 16(12), 2061.
- Chavalitkul, J., Sirikoom, P., Thadasri, P., & Dubas, S. T. (2021). Study on the Effect of Poly (Styrene 4-Sulfonic Acid-co-Maleic Acid) Toward Metallization and Plasmonic Tuning of Silver Nanoparticle Thin Films. *Plasmonics*, 16(5), 1817-1825.
- Chen, G., Xie, Y., Zhang, H., Wang, P., Cheung, H. Y., Yang, M., & Sun, H. (2014). A general colorimetric method for detecting protease activity based on peptide-induced gold nanoparticle aggregation. *RSC advances*, 4(13), 6560-6563.
- Choi, J. H., Kim, H. S., Choi, J. W., Hong, J. W., Kim, Y. K., & Oh, B. K. (2013). A novel Au-nanoparticle biosensor for the rapid and simple detection of PSA using a sequence-specific peptide cleavage reaction. *Biosensors and Bioelectronics*, 49, 415-419.
- Delkhahi, S., Rahaie, M., & Rahimi, F. (2017). Design and fabrication a gold nanoparticle-DNA based nanobiosensor for detection of microRNA involved in Alzheimer's disease. *Journal of fluorescence*, 27(2), 603-610.
- Dileseigres, A. S., Prado, Y., & Pluchery, O. (2022). How to Use Localized Surface Plasmon for Monitoring the Adsorption of Thiol

- Molecules on Gold Nanoparticles². *Nanomaterials*, 12(2), 292.
- Gan, Z., Roslan, M. A. M., Abd Shukor, M. Y., Halim, M., Yasid, N. A., Abdullah, J., ... & Wasoh, H. (2022). Advances in Aptamer-Based Biosensors and Cell- Internalizing SELEX Technology for Diagnostic and Therapeutic Application. *Biosensors*, 12(11), 922.
- Güven, O. (2020). Application of DLVO Theory on the Interaction Forces for Rheology of Coal-Water Slurries. *Modern Concepts in Material Science*, 2(5), 1–8.
<https://doi.org/10.33552/mcms.2020.02.000548>
- Hammami, I., Alabdallah, N. M., jomaa, A. Al, & kamoun, M. (2021). Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University - Science*, 33(7).
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101560>.
- He, Y., Tian, F., Zhou, J., Zhao, Q., Fu, R., & Jiao, B. (2020). Colorimetric aptasensor for ochratoxin A detection based on enzyme-induced gold nanoparticle aggregation. *Journal of hazardous materials*, 388, 121758.
- Heidari, Z., Rezatofghi, S. E., & Rastegarzadeh, S. (2021). Development and comparison of *cross-linking* and *non-crosslinking* probe-gold nanoparticle hybridization assays for direct detection of unamplified bovine viral diarrhoea virus-RNA. *BMC biotechnology*, 21(1), 1-12.
- Iarossi, M., Schiattarella, C., Rea, I., De Stefano, L., Fittipaldi, R., Vecchione, A., ... & Ventura, B. D. (2018). Colorimetric immunosensor by aggregation of photochemically functionalized gold nanoparticles. *ACS omega*, 3(4), 3805-3812.
- Jayanthi, VSPK Sankara Aditya, Asim Bikas Das, and Urmila Saxena. "Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers." *Biosensors and Bioelectronics* 91 (2017): 15-23.
- Jiang, L., Rahnama, M., Zhang, B., Zhu, X., Sui, P. C., Ye, D. D., & Djilali, N. (2020). Predicting the interaction between nanoparticles in shear flow using lattice Boltzmann method and Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek (DLVO) theory. *Physics of Fluids*, 32(4), 043302.
- Khavani, M., Izadyar, M., & Housaindokht, M. R. (2019). A molecular approach on the ability of functionalized gold nanoparticles for selective sensing of Hg²⁺. *Journal of Molecular Liquids*, 292, 111461.
- Piacenza, E., Presentato, A., & Turner, R. J. (2018). Stability of biogenic metal (loid) nanomaterials related to the colloidal stabilization theory of chemical nanostructures. *Critical reviews in biotechnology*, 38(8), 1137-1156.
- Kim, D. M., & Yoo, S. M. (2022). Colorimetric Systems for the Detection of Bacterial Contamination: Strategy and Applications. *Biosensors*, 12(7).
<https://doi.org/10.3390/bios12070532>
- Lesniewski, A., Los, M., Jonsson-Niedziółka, M., Krajewska, A., Szot, K., Los, J. M., & Niedziółka- Jonsson, J. (2014). Antibody modified gold nanoparticles for fast and selective, colorimetric T7 bacteriophage detection. *Bioconjugate Chemistry*, 25(4), 644-648.
- Li, R., Zhang, C., Wang, C., Cheng, Y., & Hu, D. (2021). Study on the mechanism of the reversible color change of polyacrylic acid modified gold nanoparticles responding to ph. *Materials*, 14(13).
<https://doi.org/10.3390/ma14133679>.
- Liu, Y., Zhang, L., Wei, W., Zhao, H., Zhou, Z., Zhang, Y., & Liu, S. (2015). Colorimetric detection of influenza A virus using antibody-functionalized gold nanoparticles. *Analyst*, 140(12), 3989-3995.
- Liu, Y., Zhang, L., Wei, W., Zhao, H., Zhou, Z., Zhang, Y., & Liu, S. (2015). Colorimetric detection of influenza A virus using antibody-functionalized gold nanoparticles. *Analyst*, 140(12), 3989-3995.
- Moabelo, K. L., Lerga, T. M., Jauset-Rubio, M., Sibuyi, N. R., O'Sullivan, C. K., Meyer, M., & Madiehe, A. M. (2022). A Label-Free Gold Nanoparticles-Based Optical Aptasensor for the Detection of Retinol Binding Protein 4. *Biosensors*, 12(12), 1061.
- Mondal, B., Ramlal, S., Lavu, P. S., & Kingston, J. (2018). Highly sensitive colorimetric biosensor for staphylococcal enterotoxin B by a label-free aptamer and gold nanoparticles. *Frontiers in microbiology*, 9, 179.
- Nguyen, D. K., & Jang, C. H. (2021). A simple and ultrasensitive colorimetric biosensor for anatoxin-a based on aptamer and gold nanoparticles. *Micromachines*, 12(12), 1526.
- Njoroge, J. (2015). Bio Focus: Gold nanoparticles enable instant colorimetric hydrasion sensor. *MRS Bulletin*, 40(11), 899-899.
- Pamies, R., Cifre, J. G. H., Espín, V. F., Collado-González, M., Baños, F. G. D., & de la Torre, J. G. (2014). Aggregation behaviour of gold nanoparticles in saline aqueous media. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(4), 1-11.
- Qin, Y., Bubiájaer, H., Yao, J., & Zhang, M. (2022). Based on Unmodified Aptamer-Gold Nanoparticles Colorimetric Detection of Dexamethasone in Food. *Biosensors*, 12(4), 242.
- Raja, D. A., Shah, M. R., & Malik, M. I. (2022).

- Polyethyleneimine stabilized silver nanoparticles as an efficient and selective colorimetric assay for promethazine. *Analytica Chimica Acta*, 1223, 340216.
- Rick, J., Tsai, M. C., & Hwang, B. J. (2015). Biosensors incorporating bimetallic nanoparticles. *Nanomaterials*, 6(1), 5.
- Voskuil, J. L. A. (2014). Commercial antibodies and their validation. *F1000Research*, 3.
- Wang, S., Li, W., Chang, K., Liu, J., Guo, Q., Sun, H., ... & Hu, J. (2017). Localized surface plasmon resonance-based abscisic acid biosensor using aptamer-functionalized gold nanoparticles. *PloS one*, 12(9), e0185530.
- Wang, Y., Quinsaat, J. E. Q., Ono, T., Maeki, M., Tokeshi, M., Isono, T., Tajima, K., Satoh, T., Sato, S. ichiro, Miura, Y., & Yamamoto, T. (2020). Enhanced dispersion stability of gold nanoparticles by the physisorption of cyclic poly(ethylene glycol). *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19947-8>.
- Xia, Y., Zhu, C., Bian, J., Li, Y., Liu, X., & Liu, Y. (2019). Highly Sensitive and Selective Colorimetric Detection of Creatinine Based on Synergistic Effect of PEG/Hg²⁺-AuNPs. *Nanomaterials*, 9(10), 1424.
- Yu, L., & Li, N. (2019). Noble metal nanoparticles-based colorimetric biosensor for visual quantification: A mini review. *Chemosensors*, 7(4), 53.
- Zhu, X., Zhang, N., Zhang, Y., Liu, B., Chang, Z., Zhou, Y., ... & Xu, M. (2018). A sensitive gold nanoparticle-based aptasensor for colorimetric detection of A β 1-40 oligomers. *Analytical Metho*