

Gentian Optik Tirus untuk Pengesanan DNA Khinzir Berdasarkan Kaedah Sensor Medan Evanesen

(Tapered Optical Fiber for Porcine DNA Detection Based on Evanescent Field Sensing Method)

Ros Maria Mat Yeh^a, Nurul Huda Abd Karim^b, Mohd Zulhakimi Abd Razak^c, Mohd Azir Mahdi^d & Norhana Arsad^{a*}

^aDepartment of Electrical, Electronic and Systems Engineering, Faculty of Engineering and Built Environment,
Universiti Kebangsaan Malaysia, UKM Bangi 43600, Selangor Malaysia

^bDepartment of Science Chemistry, Faculty of Science and Technology,
Universiti Kebangsaan Malaysia, UKM Bangi 43600, Selangor Malaysia

^cInstitute of Microengineering and Nanoelectronics,
Universiti Kebangsaan Malaysia, UKM Bangi 43600, Selangor Malaysia

^dDepartment of Computer and Communication System, Faculty of Engineering
Universiti Putra Malaysia, UPM Serdang 43400, Selangor Malaysia

*Corresponding author: noa@ukm.edu.my

Received 11 July 2024, Received in revised form 22 June 2025
 Accepted 22 July 2025, Available online 30 September 2025

ABSTRAK

Kajian ini mencadangkan pembangunan gentian optik tirus untuk pengesanan DNA khinzir berdasarkan kaedah sensor medan evanesen. Pengesanan DNA merupakan kaedah yang lazim digunakan berbanding pengesanan protein kerana proses yang rumit dan protein mengalami proses denaturasi. Gentian optik mod tunggal (SMF) ditiruskan untuk menghasilkan diameter pinggang 12 μm dengan panjang rantau tirus 15 mm. Prob DNA dengan kepekatan optimum dipegunkan diatas permukaan kawasan tirus gentian optik seterusnya berlaku proses penghibridan dengan DNA target (cDNA). Eksperimen dimulakan dengan menitiskan prob DNA berkepekatan 6 μM di rantau tirus untuk proses pemegungan prob DNA. Seterusnya DNA target 4 μM dititiskan ke atas rantau tirus yang telah dipegunkan dengan prob DNA. Spektrum penghantaran sensor gentian optik pengesanan DNA diukur dalam julat panjang gelombang 1500 nm hingga 1600 nm. Peralihan panjang gelombang bagi biosensor ini adalah berkadar linear dengan peningkatan kepekatan cDNA dari 1×10^{-15} hingga 1×10^{-6} M. Julat linear sensor DNA diukur sebagai 1×10^{-10} hingga 1×10^{-6} M. Sensor ini memiliki tahap kepekaan 0.224nm/log [cDNA]M dengan had pengesanan (LOD) adalah 6.16875×10^{-11} M. Dapatan kajian mendapati, DNA khinzir berjaya dikesan menggunakan gentian optik tirus tanpa sebarang modifikasi permukaan yang melibatkan reagen kimia. Pemegungan prob DNA dan penghibridan DNA target tanpa melalui proses pemfungsian gentian optik tirus berupaya menjimatkan tempoh masa dan memudahkan proses penyediaan kerana tidak melibatkan penggunaan beberapa reagen kimia. Dapada hasil yang diperolehi, gentian optik tirus yang dicadangkan berpotensi sebagai pengesanan penghibridan DNA.

Kata kunci: Gentian optik tirus; gelombang Evanesen; indeks biasan; biosensor DNA

ABSTRACT

This paper proposes the development of tapered optical fiber for porcine DNA detection based on the evanescent field sensing method. DNA detection is most common method compared with protein detection due to complexity and denaturation of protein. Optical single mode fiber (SMF) of 125 μm diameter is tapered to produce 12 μm waist diameter and 15 mm length. Probe DNA is immobilized onto the bare tapered region and subsequently hybridized by its complementary DNA (cDNA). The experiment starts with dropping an optimum concentration probe (6 μM) and target

DNA (4 μ M) on the tapered region. The transmission spectra of the DNA-based optical fiber sensor are measured in the 1500 to 1600 nm wavelength range. It is discovered that the shift of the wavelength in the SMF sensor is linearly proportional with the increase in the cDNA concentrations from 1×10^{-15} to 1×10^{-6} M. The linear range of the sensor in the direction of DNA is measured as 1×10^{-10} to 1×10^{-6} M. This sensor has a sensitivity level of $0.224 \text{ nm/log [cDNA]M}$ with a detection limit (LOD) of 6.16875×10^{-11} M. From the result obtained, porcine DNA is detected using tapered optical fiber without any surface modification involving chemical reagents is successfully proposed and developed in this project. The probe DNA immobilization and target DNA hybridization without any surface modification from the functionalized process, it will avoid time consuming and tedious process which involved several chemicals reagents. From the result obtained, the proposed tapered optical fiber is the potential for DNA hybridization detection.

Keywords: Tapered optical fiber; Evanescent wave; refractive index; DNA biosensor

PENDAHULUAN

Gentian optik tirus atau mikrofiber mendapat banyak perhatian sejak kebelakangan ini berkenaan sensor yang sangat sensitif (Abushagur et al. 2019; Alkhabet et al. 2022). Beberapa kelebihan termasuk rintangan elektromagnet, saiz padat, keberkesanan kos, dan sangat sensitif terhadap persekitaran (Guan & Huang 2019; Taha et al. 2021). Struktur tirus ini digunakan secara meluas dalam interferometer gentian optik berasaskan sensor kerana kesan medan evanesen yang kuat secara intrinsik Single end microfiber biosensor for DNA hybridization detection (Li et al. 2019). Terdapat banyak struktur-struktur yang telah dibangunkan untuk menggalakkan interaksi cahaya termasuk gentian digilap sisi (Li et al. 2019; Taha et al. 2021), gentian berbentuk U (Yi, Wang & Li 2015), gentian parutan (Sun, Guo & Guan 2017; Wu et al. 2017) gentian optik polimer (POF) (Ping et al. 2025). Terdapat kajian mendapati bahawa mikrofiber tirus merupakan gentian yang paling berfaedah di antara struktur ini terutamanya untuk pengesanan biosensor. Biosensor ialah peranti bersepadu yang dibina menggunakan komponen sensitif biologi atau elemen pengesanan molekul dengan platform transduksi (Faddeev & Niemi 1997) dan telah terbukti sebagai calon yang menjanjikan dengan kelebihanannya (Alathari et al. 2021; Taha et al. 2021). Permintaan untuk pengesanan biomolekul adalah sangat penting untuk banyak bidang seperti penjagaan kesihatan, diagnostik perubatan, keselamatan makanan, dan pemantauan persekitaran yang memerlukan analisis yang tepat, pantas, pengesanan langsung, dan peranti kepekaan dan keselektifan yang lebih tinggi (Justino, Rocha-Santos & Duarte 2010). Pengesanan jujukan DNA yang khusus dan kuantitatif adalah sangat penting dalam industri perubatan, alam sekitar dan makanan untuk pengesanan DNA yang tepat dan kos rendah. Mekanisme pengesanan semasa memakan masa, besar, dan memerlukan banyak sumber. Biosensor DNA melibatkan beban tunggal prob DNA (ssDNA) yang tidak bergerak pada transduser yang menyebabkan penghibridan dengan sampel untai target berlaku. Baru-baru ini, pelbagai pendekatan sensor untuk mengesan

jujukan tertentu dan hibridisasi DNA telah dibangunkan termasuk kekonduksian elektrokimia (Endo et al. 2005; Huang et al. 2014; Zhang et al. 2019). Prestasi biosensor gentian optik menawarkan kelebihan hebat termasuk rintangan kepada gangguan elektromagnet, jejak kecil, dan diperbuat daripada gentian optik yang murah.

Pengesanan DNA menggunakan gentian optik menggunakan kaedah medan gelombang serapan dan evanesen dikaji baru-baru ini untuk menambah baik kaedah konvensional DNA biasa. Sebagai contoh, tindak balas rantai polimerase (PCR) ialah kaedah paling konvensional untuk pengesanan DNA khinzir dalam produk makanan dan menawarkan tahap kepekaan yang tinggi (Cammà, Di Domenico & Monaco 2012; Soares et al. 2013; Socorro-Lerános et al. 2019). Kelemahan kaedah ini ialah, ia memakan masa, membosankan, dan memerlukan tenaga kerja mahir untuk menjalankan proses tersebut (Ali et al. 2012). Biosensor optik khinzir DNA dicadangkan dalam projek ini yang menawarkan kaedah pengesanan kandungan khinzir yang mudah, cepat dan ringkas. Tambahan pula, biosensor menawarkan kemungkinan pemantauan pantas dan di tapak dengan maklumat masa nyata dalam proses (Singh et al. 2016). Dalam kerja ini, pengesanan DNA khinzir menggunakan gentian optik tirus mod tunggal dengan kaedah pengesanan medan evanesen diperhatikan. Anjakan panjang gelombang diperhatikan dalam penyelidikan ini untuk mengkaji sebarang perubahan panjang gelombang pada prob, target dan gentian optik tirus.

Konsep utama sensor menggunakan gentian tirus adalah berasaskan interaksi gelombang evanesen (EW) dengan sampel analit (Qiang et al. 2014). Untuk mendapatkan prestasi sensor yang optimum, sifat dan perlakuan cahaya yang merambat didalam dan disepanjang kawasan tirus mesti difahami sepenuhnya. Kajian telah menunjukkan bahawa dimensi gentian tirus mempengaruhi perambatan cahaya di rantau tersebut (Harun et al. 2013; Qiang et al. 2014). Secara am, sifat cahaya yang merambat dalam gentian optik ditentukan oleh bentuk geometri gentian dan indeks biasan teras dan pelapisan.

Semua faktor ini mewujudkan nilai nombor V (V-number) yang menentukan bilangan mod yang boleh disokong dalam gentian optik (Fang et al. 2012). Apabila V-number ≤ 2.405 , hanya mod terendah yang merupakan mod asas disokong, dan apabila V meningkat, bilangan mod akan meningkat diwakili oleh persamaan matematik (Ahmad & Hench 2005):

$$V = \frac{2\pi a_0}{\lambda} \sqrt{n_{co}^2 - n_{cl}^2} \quad (1)$$

di mana a_0 adalah radius teras, λ adalah panjang gelombang, dan n_{co} dan n_{cl} adalah indeks biasan, masing-masing bagi teras dan lapisan pelapisan. Gentian mod tunggal (SMF) ditetapkan untuk perambatan mod asas (LP01) sementara gentian optik mod berbilang (MMF) membenarkan perambatan mod yang lebih tinggi (LP11, LP21, LP02 dan lain-lain) daripada sumber cahaya. Dengan V-number ≤ 2.405 maka SMF menyokong mod rendah, manakala mod lebih tinggi yang menyusut atau merambat ke persekitaran luar yang dirujuk sebagai EW.

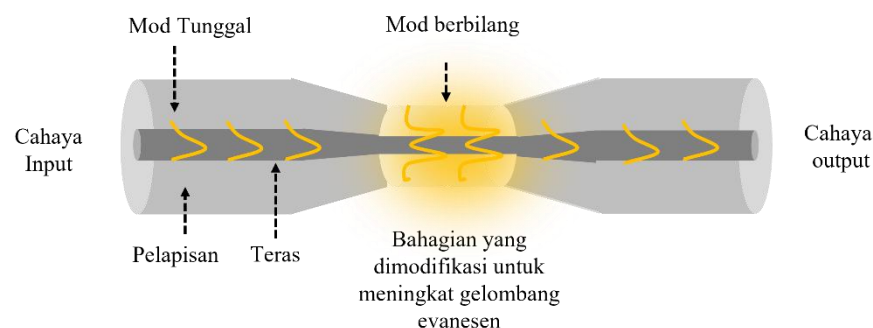
Magnitud gelombang evanesen (EW) menyusut secara eksponen ke antara muka teras-pelapisan (Povinelli et al. 2005). Manakala magnitud EW menurun secara eksponen dari permukaan teras dan merambat dalam pelapisan. Kadar cahaya yang dapat menembusi pelapisan dikenali sebagai

kedalaman penembusan (d_p) (Ahmad & Hench 2005). Kedalaman penembusan ini amat bergantung kepada indeks biasan (RI) dan sudut insiden pada antarmuka teras-pelapisan. Kedalaman penembusan (d_p) ini diberikan oleh persamaan (2)

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi(n_1^2 \sin^2 \theta_{int} - n_2^2)^{1/2}} \quad (2)$$

dimana λ adalah panjang gelombang cahaya insiden, n_1 adalah indeks biasan teras, n_2 adalah indeks biasan pelapisan, dan θ adalah sudut insiden ($^\circ$) yang diukur dari keadaan normal pada antarmuka teras dan pelapisan. Oleh kerana struktur pelapisan yang agak tebal maka medan gelombang evanesen menurun hampir ke nilai sifar pada permukaan gentian optik. Gelombang evanesen boleh dimanipulasi untuk aplikasi sensor optik dengan melakukan beberapa pengubahsuaian. Pengubahsuaian fizikal ini dilakukan bertujuan bagi meningkatkan medan gelombang evanesen di persekitaran gentian optik.

Untuk gentian tirus, pengurangan saiz teras dalam rantau tirus menghasilkan perbezaan RI yang ketara antara teras dan lapisan pelapisan dengan udara. Gandingan mod penghantaran berlaku di rantau tirus seterusnya meningkatkan magnitud EW seperti dipaparkan di Rajah 1.



RAJAH 1. Perambatan Cahaya dalam Gentian Optik Tirus Mod Tunggal (SMF)

Gelombang evanesen yang merambat di persekitaran gentian optik yang ditiruskan menjadikan rantau tirus ini amat sesuai digunakan dalam aplikasi sensor. Kawasan tirus ini yang asalnya merupakan antara muka pelapisan telah bertukar menjadi teras yang baru. Oleh itu, gelombang evanesen dipertingkatkan pada antara muka teras baru. Hasilnya, interaksi cahaya yang dihantar dengan medium sekitarnya dipertingkatkan di rantau yang ditiruskan. Apabila cahaya kembali merambat di rantau yang tidak ditirus, kedua-dua mod asas dan tinggi mula bergabung semula dengan keamatan yang dikurangkan. Mod asas dan tinggi tiada lagi dalam fasa ini.

Rantau tirus yang direndam dengan analit menghasilkan interaksi EW dengan sebatian biokimia sama ada menyerap atau menyebabkan gelombang terserak ke arah yang berbeza. Gelombang ini akan menembusi semula antarmuka pelapisan teras dan bersatu semula dengan mod yang lebih rendah yang merambat dalam teras sebaik sahaja mereka mencapai zon peralihan rantau tidak tirus. Gandingan belakang dan gandingan seterusnya antara mod menghasilkan ayunan dalam sambutan spektrum. Ayunan atau tingkah laku berkala spektrum output dikenali sebagai corak interferometrik (Mach-Zehnder interferometer) dan boleh diperhatikan menggunakan penganalisis spektrum

optik (Zibaii et al. 2010). Sambutan spektrum output gentian optik yang ditirus boleh dijelaskan dari segi keamatan output yang dinyatakan oleh persamaan (3) (Yadav et al. 2014):

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\Phi) \quad (3)$$

di mana I_1 dan I_2 adalah masing-masing keamatan mod asas dan peringkat tinggi, $\Delta\Phi$ adalah anjakan fasa antara kedua-dua mod yang boleh dikira menggunakan rumus (4):

$$\Delta\Phi = \left[\frac{2\pi(\Delta n_{\text{eff}})L_w}{\lambda} \right] \quad (4)$$

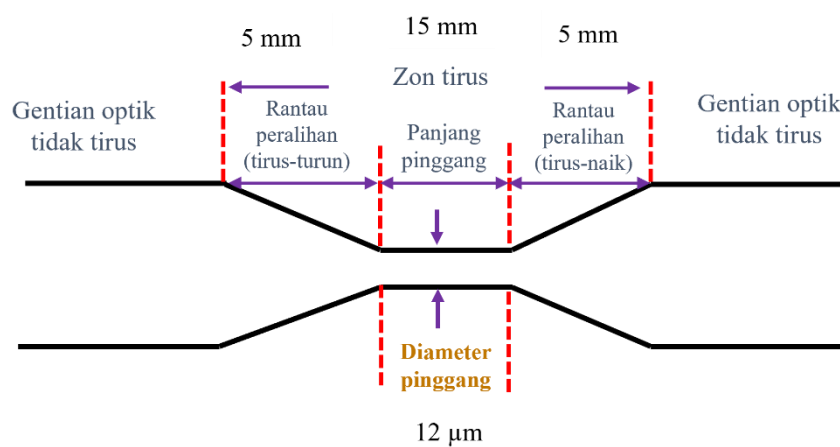
di mana Δn_{eff} adalah perbezaan antara indeks biasan berkesan bagi teras baru (antara muka di kawasan tirus) dan pelapisan sepanjang pinggang kawasan tirus ($n_{\text{co}} - n_{\text{cl}}$) dan L_w adalah panjang pinggang. Manakala λ adalah panjang gelombang pusat cahaya. Corak gangguan EW juga disebabkan jarak pinggir (Λ). Jarak pinggir adalah jarak antara dua puncak atau lembah bersebelahan. Corak spektrum antara dua corak gangguan diberikan oleh persamaan (5).

$$\Lambda = \frac{\lambda^2}{\Delta n_{\text{eff}} L_w} \quad (5)$$

Persamaan (5) ini menyokong secara teori tentang idea kepada pengesanan bahawa sebarang manipulasi indeks biasan di persekitaran luaran atau pelapisan akan memberi kesan kepada peralihan fasa, anjakan pinggir, serta keamatan output yang terhasil. Oleh itu, apabila sampel atau analit target diuji kepada sistem, berlakunya perubahan indeks biasan iaitu peralihan corak gangguan antara spektrum, serta perbezaan keamatan output.

METODOLOGI

SMF dengan dimensi teras dan pelapisan 8 μm dan 125 μm ditiruskan menggunakan pemproses kaca Vytran GPX- 3400. Rajah 2 menunjukkan skema gentian optik tirus dengan diameter pelapisan awal 125 μm gentian optik tirus hingga 12 μm dengan panjang pinggang tirus ditetapkan pada 15 mm. Profil dan dimensi tirus dirujuk kepada kerja sebelumnya yang telah dioptimumkan untuk interaksi protein target ligan (Mustapha Kamil et al. 2015).



RAJAH 2. Profil gentian optik tirus mod tunggal

Sistem sensor gentian optik tirus yang digunakan dalam pencirian ini adalah seperti dalam Rajah 3. Kawasan tirus gentian optik diletakkan dalam alur yang direka pada pemegang sensor optik yang direka khas. Pemegang sensor ini dilengkapi dengan alur dengan rekabentuk untuk memudahkan kerja merendam gentian optik kedalam larutan analit di mana larutan analit ini akan dialirkan secara perlahan-lahan ke alur yang kosong. Sistem sensor

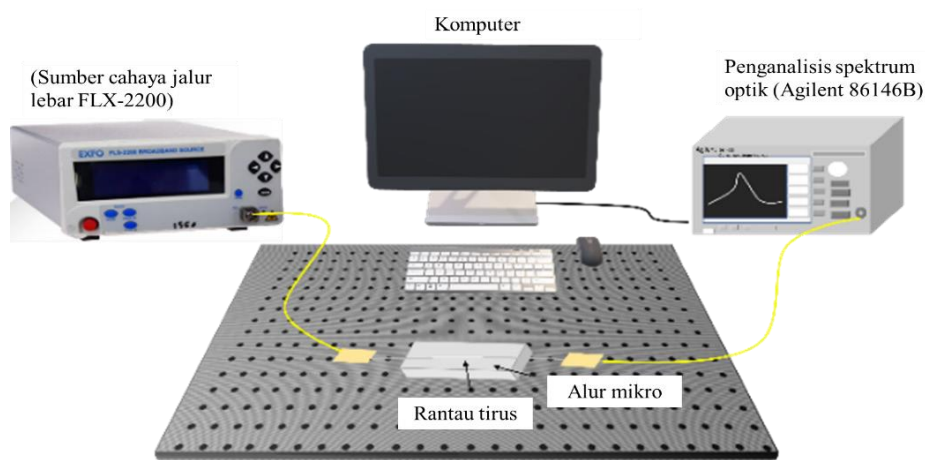
yang dibangunkan dilengkapi dengan terminal input dan output. Kedua-dua hujung gentian optik akan dipotong dan diraut menggunakan *cleaver* pada sudut 90° dan disambung pada kabel gentian optik mod tunggal FC / PC (kabel pigtail) menggunakan *fusion splicer*. Kabel input disambung kepada sumber cahaya jalur lebar EXFO (FLS-2200) dengan panjang gelombang 1550 nm. Manakala kabel output ditetapkan kepada penganalisis spektrum optik

(Agilent 86146B) bagi mengukur tindak balas penghantaran yang diwakili oleh spektrum output berbentuk sinus.

Sistem ini menggunakan EW yang merambat melalui gentian optik tirus berdasarkan pendekatan interferometri. Prob DNA menangkap dan mengikat urutan tertentu yang sepadan dengan urutan masing-masing. Bebenang DNA target mewujudkan nukleotida yang ditambah dengan DNA prob bebenang tunggal (s s DNA) melalui proses penghibridan membentuk molekul dupleks baru, yang kemudiannya boleh dikesan. Ujikaji dimulakan dengan memegunkan prob DNA berkepekatan optimum $6 \mu\text{M}$ kawasan zon tirus selama 60 minit. Seterusnya DNA target berkepekatan optimum $4 \mu\text{M}$ dijatuhkan di tempat prob DNA dipegunkan bagi proses penghibridan selama 60 minit pada suhu bilik. (Zainuddin et al. 2018).

Seterusnya, kedua-dua hujung gentian tirus disambungkan kepada gentian optik dan sumber cahaya

jalur lebar (Sumber cahaya jalur lebar FLX-2200) dan OSA (Agilent 86146B) untuk mengesan DNA khinzir seperti ditunjukkan dalam Rajah 3. Input sumber cahaya ditetapkan pada 1550 nm , OSA ditetapkan sebagai output, dan gentian tirus sebagai bahagian transduksi. Sistem ini menggunakan EW yang merambat melalui mikrofiber berdasarkan pendekatan interferometri. Dalam kerja ini, gentian optik tirus imobilisasi fizikal untuk mengesan DNA khinzir digunakan. Prob kepekatan optimum ($6 \mu\text{M}$) dan DNA target ($4 \mu\text{M}$) digunakan dalam eksperimen ini. Prob dan target dijatuhkan pada permukaan gentian optik tirus. Prob kepekatan $6 \mu\text{M}$ dijatuhkan pada gentian optik tirus dan dibiarkan kering selama 60 minit pada suhu bilik. Kemudian, DNA target $4 \mu\text{M}$ dijatuhkan pada prob dan dikeringkan selama 1 jam pada suhu bilik. Dalam makalah ini, prob DNA beramina digunakan untuk kestabilan pelekatan seterusnya berfungsi mengikat DNA target dengan lebih berkesan.



RAJAH 3. Sistem biosensor gentian optik untuk mengesan penghibridan DNA

Penyediaan $6 \mu\text{M}$ prob DNA khinzir adalah dengan melarutkan $60 \mu\text{L}$ dari larutan stok prob DNA khinzir ($100 \mu\text{M}$) ke dalam $940 \mu\text{L}$ larutan penimbal K-fosfat (pH 7.4) dengan isipadu keseluruhan $1000 \mu\text{L}$. Manakala $4 \mu\text{M}$ DNA

target khinzir disediakan dengan melarutkan $40 \mu\text{L}$ dari larutan stok DNA target khinzir ($100 \mu\text{M}$) ke dalam $960 \mu\text{L}$ larutan penimbal K-fosfat (pH 7.4) dengan isipadu keseluruhan $1000 \mu\text{L}$.

JADUAL 1. Prob dan jujukan oligonukleotida target

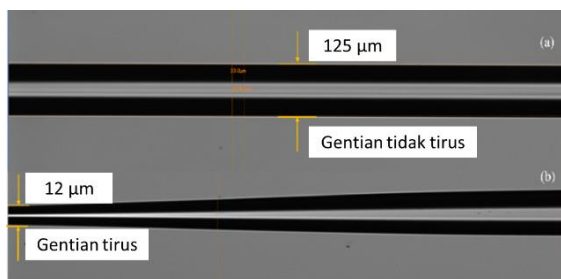
DNA khinzir sintetik	Urutan oligonukleotida
Prob	[AmC3] GAG ATG TAC GGCT GCG GAG GGC GGTA
Target	TAC CGC CCT CGC AGC CGT ACA TCTC

Senarai susunan oligonukleotida dijadualkan dalam Jadual 1 untuk prob dan target untuk DNA khinzir sintetik. Spektrum keluaran penghantaran pemegungan prob DNA dan penghibridan DNA target direkodkan melalui penganalisis spektrum optik (Agilent 86146B). Seterusnya biosensor berasaskan gentian ini menghasilkan anjakan

panjang gelombang yang berbeza apabila terdedah kepada beberapa kepekatan DNA target. Prestasi anjakan panjang gelombang akan diplot untuk menunjukkan prestasi biosensor dari segi had minima pengesanan dan julat linear yang berjaya dicapai.

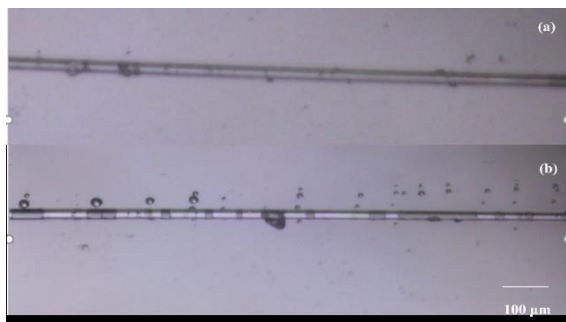
KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Paparan imej gentian optik tirus yang difabrikasi menggunakan pemproses kaca gentian optik (Vytran GPX- 3400) adalah seperti dalam Rajah 4. Gentian optik dengan diameter asal bersaiz $125\mu\text{m}$ telah ditiruskan membentuk rantau tirus bersaiz $12\mu\text{m}$ untuk digunakan dalam kajian ini.



RAJAH 4. Imej mikroskopik (a) SMF sebelum tirus; (b) SMF selepas tirus

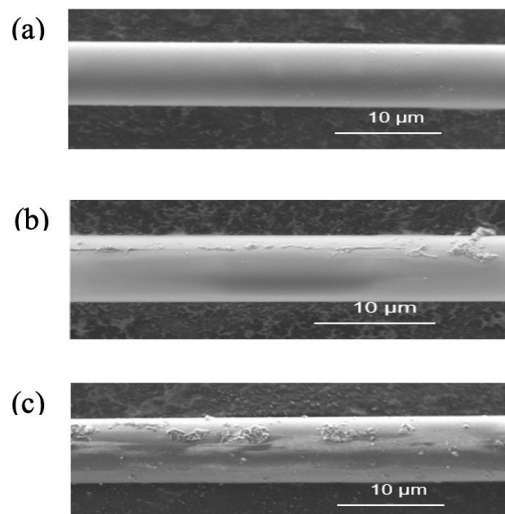
Gentian optik tirus dipegunkan dengan prob DNA dan seterusnya penghibridan berlaku dengan DNA target. Mikroskop Dyno dan Mikroskopi Elektron Pengimbas Pancaran Medan (FESEM) digunakan untuk memerhatikan morfologi permukaan gentian optik tirus yang tidak dirawat dengan sebarang bahan kimia. Pemerhatian selepas prob DNA dipegunkan dan dihibridkan dengan DNA target seperti yang digambarkan dalam Rajah 5 dan Rajah 6.



RAJAH 5. Imej mikroskopik (a) selepas pemegunan prob, (b) selepas penghibridan DNA target

Pemerhatian mikroskopik melalui Mikroskop Dyno tidak menggambarkan dengan jelas aktiviti penyerapan fizikal pada permukaan gentian optik tirus semasa pemegunan prob DNA dan penghibridan DNA target. Ketiadaan perubahan pada bentuk morfologi adalah disebabkan oleh gentian optik tirus tidak dirawat menggunakan bahan kimia seperti proses pemfungsian. Begitu jua imej FESEM tidak menunjukkan sebarang perubahan pada permukaan fizikal gentian optik. Namun

paparan FESEM seperti di Rajah 6 memaparkan kehadiran bentuk yang tidak seragam yang meliputi permukaan gentian optik tirus. Penjelasan lanjut akan menggunakan dapatan Analisis Spektrum Pemetaan FESEM-EDX bagi pembuktian bahawa proses pemegunan prob DNA dan penghibridan DNA target berjaya dijalankan.

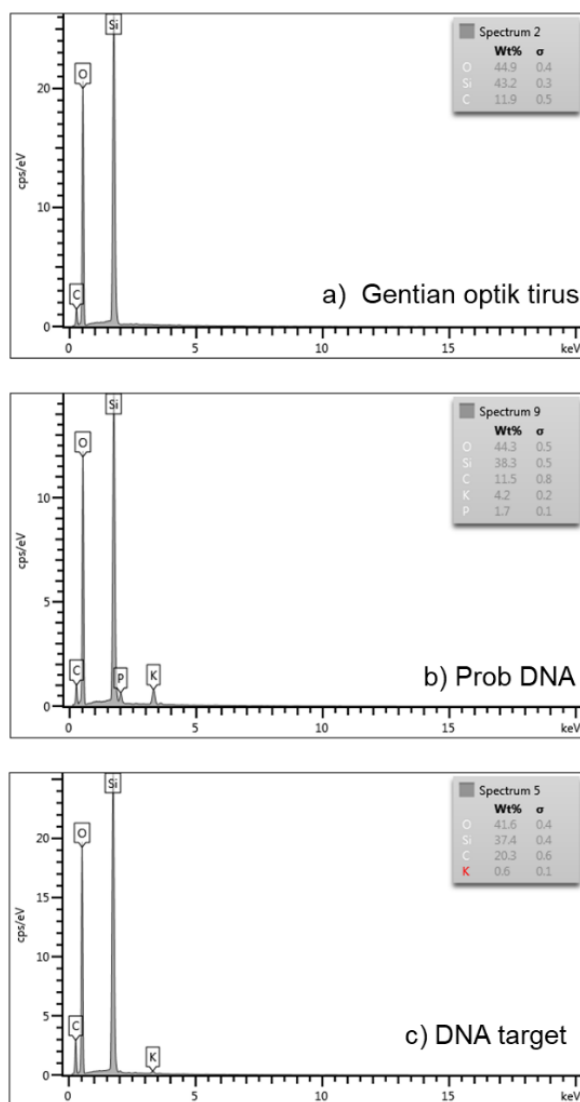


RAJAH 6. Morfologi permukaan (a) gentian optik tirus, (b) gentian optik tirus selepas proses pemegunan prob, (c) gentian optik tirus selepas proses penghibridan DNA

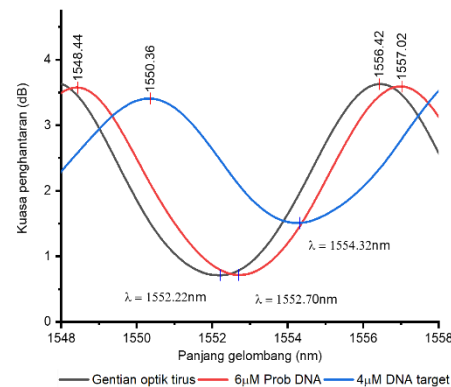
Analisis pemetaan FESEM-EDX digunakan untuk melihat morfologi permukaan bahan pemegun apabila berinteraksi dengan DNA atau analit. Analisis FESEM - EDX (mikroskopi imbasan elektron pancaran medan dengan spektroskopi serakan tenaga sinar-X) dilakukan bagi mengkaji morfologi dan mengenal pasti komposisi unsur bagi biosensor DNA selepas pemegunan prob amina dan penghibridan dengan pasangan DNA. Rajah 7 menunjukkan komposisi molekul yang bagi gentian optik tirus kosong, gentian optik tirus dipegunkan dengan prob DNA dan gentian optik tirus prob DNA dihibridisasi dengan DNA target. Setiap lapisan yang meliputi gentian optik tirus mengandungi molekul karbon (C), oksigen (O), and silika (Si). Molekul-molekul ini menandakan sebarang perubahan unsur pada permukaan gentian optik tirus bagi mendedahkan permukaan sebagai persediaan untuk pelekatan DNA.

Berdasarkan Rajah 7, jelas menunjukkan bahawa hanya unsur karbon (C), oksigen (O) dan silika (Si) sahaja yang hadir pada sampel yang mewakili bahan pemegun sensor di atas gentian optik silika oksida. Seterusnya, dengan penambahan prob DNA khinzir (b), dapat dikesan kehadiran unsur larutan penimbal kalium fosfat membentuk unsur Karbon(C), Oksigen (O), Silika (Si), Kalium (K) dan Fosfat (P). Kehadiran unsur larutan penimbal adalah disebabkan oleh setiap proses tidak dibilas menggunakan

larutan penimbal atau air suling. Kajian ini tidak melibatkan sebarang penggunaan interkelator sebagai penanda DNA. Akhir sekali, DNA target dimasukkan (c) bagi membenarkan penghibridan berlaku dan didapati unsurnya masih sama dengan kehadiran unsur (C, O, Si dan K). Unsur kalium (K) sangat kecil peratusnya dan unsur fosfat (P) tiada dalam paparan ini. Ini mungkin disebabkan oleh kedua-dua unsur ini telah terkeluar semasa proses penyimpanan dan hanya terdapat perubahan dari segi morfologi permukaan yang membuktikan bahawa fabrikasi sensor berjaya dilakukan. Pencirian ini seperti yang dilakukan oleh (Hida & Zainuddin 2019) di mana analisis pemetaan FESEM-EDX dijalankan bagi melihat perbezaan morfologi permukaan biosensor DNA.



RAJAH 7. Spektrum EDS bagi a) (a) gentian optik tirus, (b) gentian optik tirus selepas proses pemegunan prob, (c) gentian optik tirus selepas proses penghibridan DNA

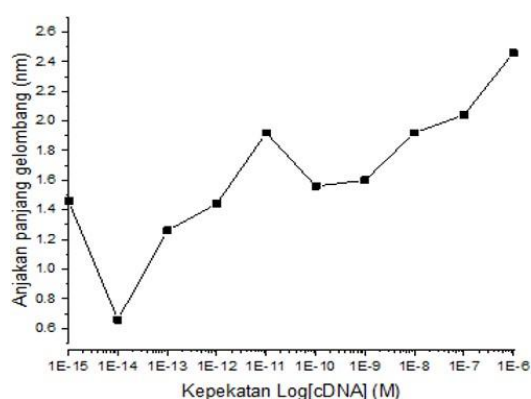


RAJAH 8. Spektra penghantaran gentian optik tirus, gentian optik tirus selepas proses pemegunan prob DNA dan gentian optik tirus selepas proses penghibridan dengan DNA target.

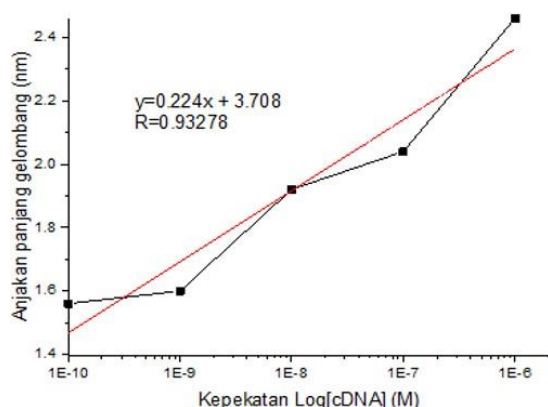
Pemegunan prob DNA pada permukaan gentian optik tirus dilakukan secara penyerapan fizikal tanpa melibatkan sebarang reagen kimia. Penghibridan DNA adalah pembentukan DNA heliks ganda dua daripada dua bebenang tunggal (dalam kajian ini DNA khinzir target dan prob DNA) melalui ikatan hidrogen Watson-Crick. Kesan daripada pengikatan prob DNA pada gentian optik tirus dan pengikatan DNA target dengan prob DNA telah menyebabkan peningkatan RI berkesan di kawasan permukaan gentian tirus. Fenomena ini ditunjukkan dalam Rajah 8 yang menunjukkan peralihan merah pada tindak balas spektrum penghantaran. Spektrum junaman gentian optik tirus yang dipegunkan prob DNA mengalami anjakan panjang gelombang 0.48 nm ke kanan dari spektrum junaman gentian tirus kosong dengan peningkatan 0.00381 dBm. Spektrum junaman DNA target didapati mengalami anjakan panjang gelombang 1.62 nm ke kanan dari spektrum junaman prob DNA dengan peningkatan kuasa penghantaran 0.79271 dB. Anjakan panjang gelombang spektrum junaman dan perubahan parameter kuasa penghantaran mengesahkan walau tanpa pengubahsuaian permukaan gentian optik tirus, prob DNA berjaya mengikat DNA target yang disasarkan.

Julat linear kepekatan dan had pengesanan (LOD) DNA dilakukan dengan memerhati perubahan anjakan panjang gelombang bagi bahan sensor pada keadaan optimum. Keadaan optimum dalam kajian ini adalah dalam 0.05 M penimbal k-fosfat (pH 7.4), 6 μM prob DNA dalam tempoh 60 minit masa penghibridan dengan DNA target. Julat kepekatan DNA target digunakan dalam kajian ini daripada $1 \times 10^{-15} \text{ M}$ hingga $1 \times 10^{-6} \text{ M}$. Eksperimen telah diulang beberapa kali dan keputusan kajian linear tidak mencapai ekspektasi yang diharapkan seperti paparan Rajah 8. Keadaan ini mungkin disebabkan

beberapa faktor antaranya penggunaan bahan sensor yang tidak menyeluruh di kawasan tirus (penggunaan hanya 5µL bagi prob DNA dan DNA target), instrumen yang digunakan terlalu lama dan tidak dapat memberi prestasi yang baik dalam tempoh masa yang lama (keseluruhan eksperimen memerlukan lebih 6 bulan bagi melengkapkan kajian pengoptimuman biosensor ini).



RAJAH 9. Anjakan Panjang Gelombang bahan sensor DNA dalam 0.05 M penimbal k-fosfat (pH7.4) dengan kepekatan 6 µM prob DNA, 4 µM DNA target dan 60 minit penghibridan DNA khinzir dari julat kepekatan $1.0 \times 10^{-15} \text{M}$ hingga $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$



RAJAH 10. Anjakan Panjang Gelombang bahan sensor DNA dengan kepekatan 6 µM prob DNA, 4µM DNA menunjukkan julat linear dari kepekatan $1 \times 10^{-10} \text{M}$ hingga $1 \times 10^{-6} \text{M}$

Hasil kajian mendapati anjakan panjang gelombang berkadar terus dengan kepekatan DNA target pada julat kepekatan $1 \times 10^{-15} \text{M}$ hingga $1 \times 10^{-6} \text{M}$. Hal ini menunjukkan semakin tinggi kepekatan DNA target, semakin meningkat kadar anjakan panjang gelombang. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh gentian optik tirus yang dipegunkan dengan prob DNA tidak dicuci terlebih dahulu sebelum DNA target diletakkan untuk proses penghibridan. Keadaan ini telah mengubah indeks biasan (RI) dipermukaan kawasan tirus menyebabkan anjakan panjang gelombang berkadar terus dengan kepekatan

DNA target. Dapatan kajian ini berbeza dengan dapatan kajian terdahulu (Ismail 2022) walaupun menggunakan bancuhan DNA yang sama kerana menggunakan kaedah keamatan pantulan dimana semakin cair semakin tinggi kadar pantulan. Maka, bahagian linear ini diplot semula seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 10 dan garis lurus yang diperoleh daripada plot ini diterjemahkan dalam persamaan $y = 0.224x + 3.708$ dengan pekali kolerasi $R^2 = 0.93278$. Maka kepekatan sistem daripada kecerunan graf adalah $0.224 \text{nm/Log[cDNA]}$.

LOD merupakan had kepekatan DNA target paling rendah yang boleh dikesan oleh biosensor DNA khinzir yang telah dibangunkan. Prestasi sensor yang baik adalah berdasarkan nilai LOD yang rendah. LOD ditakrifkan sebagai (White & Fan 2008):

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{R}{S} \\ &= \frac{0.06 \times 10^{-9} \text{m}}{972644376.9 \times 10^{-9} \text{m/M}} \\ &= 6.16875 \times 10^{-11} \text{M} \end{aligned} \quad (6)$$

di mana S adalah kepekatan yang dikira pada had paling rendah dalam julat linear iaitu $1 \times 10^{-10} \text{M}$ dan R adalah resolusi pengesan. Nilai LOD mencerminkan prestasi sensor refraktometrik di mana perubahan kecil indeks biasan suatu sampel boleh diukur dengan tepat. Penganalisis Spektrum Optik OSA (Agilent 86146B) adalah alat pengukur untuk merekod dapatan spektrum dalam kajian ini, maka LOD akan ditentukan oleh resolusi yang dipilih dari OSA yang digunakan.

Selain itu, nilai LOD bagi sensor optik ini juga dibandingkan dengan kajian-kajian lepas seperti yang dinyatakan dalam Jadual 1. Menurut Jadual 1, biosensor DNA yang dibangunkan ini dapat menunjukkan prestasi yang setanding dengan biosensor yang menggunakan pelbagai teknologi dan bahan kimia sensor. Namun begitu, memandangkan pekali kolerasi adalah $R^2 = 0.93278$ maka kajian ini perlu diulang ditambah baik pada masa akan datang bagi mendapatkan hasil yang lebih baik.

Anjakan panjang gelombang yang berlaku apabila gentian optik tirus menukar sensor medan evanesen akibat manipulasi indeks biasan (RI) dicadangkan untuk pembangunan biosensor DNA khinzir. Teknik paling mudah untuk menyelidik pemegungan DNA pada permukaan sensor gentian optik tirus, yang tidak memerlukan sebarang reagen kimia dan pengubahsuaian permukaan gentian optik tirus dicadangkan dalam kajian ini. Kelebihan teknik ini adalah, dapat mengurangkan kerumitan dan tempoh masa memandangkan penyerapan fizikal DNA sebagai kaedah pemegungan alternatif telah diterokai pada akhir penyelidikan ini.

JADUAL 2. Perbandingan Nilai Julat Linear dan LOD Biosensor Menggunakan Pelbagai Teknologi Sensor

Teknologi Sensor	Pemegun	Bahan sensor	Julat Linear (M)	Had Pengesanan (LOD) (M)	Rujukan
Optikal pantulan	Polimer mikrosfera akrilik nBA-NAS	Kompleks fenolbenzimidazol	1×10^{-16} – 1×10^{-19}	1.58×10^{-22}	(Ismail, Norazmi & Karim 2022)
Optikal pantulan	Polimer mikrosfera akrilik nBA-NAS	Kompleks platinum (II) Salfen – N,N'-bis-5 (hiroksisalisilidena) fenilenadiamina-platinum(II)	1×10^{-15} – 1×10^{-9}	5.93×10^{-17}	(Norhidayah Selamat 2017)
Optikal pendarfluor	Polimer mikrosfera akrilik nBA-NAS	Kompleks platinum (II) Salfen – N,N'-bis-[4-[[1-(3-hidroksipropoksi)] salisidena] fenilenadiamina-platinum(II)	1×10^{-5} – 1×10^{-2}	2.50×10^{-6}	(Shahratul Ain Mohd Sukri 2017)
Elektrokimia DPV	Elektrod karbon (SiNWs/PtNPs-SPCE)	Kompleks ferosenil Naftalin diimida (FND)	3×10^{-9} – 3×10^{-5}	2.40×10^{-9}	(Kusnin et al. 2020)
Elektrokimia DPV	SPE- SiNSs/ AuNPs-GA	HexaFc complex	1×10^{-12} – 1×10^{-9}	4.83×10^{-14}	(Ariffin et al. 2021)
Gentian optik	Gentian optik tirus	Tiada	1×10^{-10} – 1×10^{-6}	6.17×10^{-11}	Kajian ini

KESIMPULAN

Pembangunan gentian optik tirus untuk pengesanan DNA khinzir dijalankan menggunakan kaedah serapan fizikal berdasarkan kaedah sensor medan evanesen. Pemegunan DNA dilakukan secara terus ke atas permukaan gentian optik tirus yang tidak difungsikan dengan sebarang reagen kimia. Pengesanan ini menggunakan kepekatan larutan penimbal dan prob DNA dan DNA target yang telah dioptimumkan. Kepekatan prob yang digunakan adalah 6 μ M dan kepekatan DNA target adalah 4 μ M untuk penghibridan DNA berlaku adalah selama 60 minit. Setelah itu, ujian analisis prestasi biosensor dijalankan pada keadaan optimum di mana biosensor optik ini mampu mengesan DNA khinzir serendah 6.16875×10^{-11} M dengan julat linear sensor diukur sebagai 1×10^{-10} hingga 1×10^{-6} M. Biosensor ini memiliki tahap kepekaan 0.224nm/log[cDNA] M. Walaupun prestasi sensor yang dibangunkan ini tidak setanding dengan biosensor dipasaran yang menggunakan pelbagai teknologi dan bahan kimia sensor namun pekali kolerasi kajian ini $R^2=0.93278$ membuka peluang kajian ditambah baik pada masa akan datang. Menggunakan teknik pemegunan DNA paling mudah pada permukaan sensor gentian optik tirus, yang tidak memerlukan sebarang reagen kimia dan pengubahsuaian

permukaan gentian optik tirus dicadangkan dalam kajian ini. Tambahan pula, DNA khinzir dikesan menggunakan gentian optik tirus tanpa sebarang penglibatan bahan kimia berjaya dicadangkan dan dibangunkan dalam projek ini dapat mengurangkan kerumitan dan tempoh masa seterusnya penyerapan fizikal DNA sebagai kaedah pemegunan alternatif telah diterokai pada akhir penyelidikan ini.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini telah dibiayai oleh Kementerian Pendidikan Tinggi (MoHE) melalui Inisiatif Belanjawan 2025: Peningkatan AI dengan nombor geran WARISAN-2025-023.

PENGISYTIHARAN KEPENTINGAN BERSAING

Tiada.

RUJUKAN

- Abushagur, A.A.G., Arsad, N., Mokhtar, M.H.H. & Bakar, A.A.A. 2019. High Sensitive Microsurgical Force Sensor Using Spectral-Width of Tapered Fiber Bragg Gratings. *2019 IEEE International Conference on BioPhotonics, BioPhotonics 2019*, hlm. .
- Ahmad, M. & Hench, L.L. 2005. Effect of taper geometries and launch angle on evanescent wave penetration depth in optical fibers. *Biosensors and Bioelectronics* 20(7).
- Alathari, M.J.A., Mashhadany, Y. Al, Mokhtar, M.H.H., Burham, N., Zan, M.S.D. Bin, Bakar, A.A.A. & Arsad, N. 2021. Human body performance with COVID-19 affectation according to virus specification based on biosensor techniques.
- Ali, M.E., Hashim, U., Mustafa, S., Che Man, Y.B. & Islam, K.N. 2012. Gold nanoparticle sensor for the visual detection of pork adulteration in meatball formulation. *Journal of Nanomaterials* 2012.
- Alkhalaf, M.M., Girei, S.H., Ismail, A.H., Paiman, S., Arsad, N., Mahdi, M.A. & Yaacob, M.H. 2022. Room Temperature Hydrogen Sensing Based on Tapered Optical Fiber Coated with Polyaniline (PANI).
- Ariffin, E.Y., Zakariah, E.I., Ruslin, F., Kassim, M., Yamin, B.M., Heng, L.Y. & Hasbullah, S.A. 2021. Hexaferrocenium tri[hexa(isothiocyanato)iron(III)] trihydroxonium complex as a new DNA intercalator for electrochemical DNA biosensor. *Scientific Reports* 11(1).
- Cammarota, D., Domenico, M. & Monaco, F. 2012. Development and validation of fast Real-Time PCR assays for species identification in raw and cooked meat mixtures. *Food Control* 23(2).
- Endo, T., Kerman, K., Nagatani, N., Takamura, Y. & Tamiya, E. 2005. Label-free detection of peptide nucleic acid-DNA hybridization using localized surface plasmon resonance based optical biosensor. *Analytical Chemistry* 77(21).
- Faddeev, L. & Niemi, A.J. 1997. Stable knot-like structures in classical field theory. *Nature* 387(6628).
- Guan, B.O. & Huang, Y. 2019. Interface sensitized optical microfiber biosensors. *Journal of Lightwave Technology* 37(11).
- Harun, S.W., Lim, K.S., Tio, C.K., Dimiyati, K. & Ahmad, H. 2013. Theoretical analysis and fabrication of tapered fiber. *Optik* 124(6).
- Hida, N. & Zainuddin, B. 2019. Sensitive Leptospira Dna Detection Using Tapered Optical Fiber Sensor Coated With Carbon Quantum Dots.
- Huang, K.J., Liu, Y.J., Wang, H.B., Gan, T., Liu, Y.M. & Wang, L.L. 2014. Signal amplification for electrochemical DNA biosensor based on two-dimensional graphene analogue tungsten sulfide-graphene composites and gold nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 191.
- Ismail, N.F., Norazmi, N.A.Z. & Karim, N.H.A. 2022. Synthesis and Characterization of Phenolbenzimidazole Complexes and Interaction Studies with CT-DNA. *Sains Malaysiana* 51(11): 3689–3702.
- Justino, C.I.L., Rocha-Santos, T.A. & Duarte, A.C. 2010. Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical applications.
- Kusnin, N., Yusof, N.A., Abdullah, J., Sabri, S., Mohammad, F., Mustafa, S., Ab Mutalib, N.A., Sato, S., Takenaka, S., Parmin, N.A. & Al-Lohedan, H.A. 2020. Electrochemical sensory detection of: Sus scrofa mtDNA for food adulteration using hybrid ferrocenylnaphthalene diimide intercalator as a hybridization indicator. *RSC Advances* 10(46).
- Li, Y., Fang, F., Tan, S., Yang, L. & Sun, Q. 2019. Single end microfiber biosensor for DNA hybridization detection. *OECC/PSC 2019 - 24th OptoElectronics and Communications Conference/International Conference Photonics in Switching and Computing 2019*, hlm. .
- Mustapha Kamil, Y., Abu Bakar, M.H., Mustapa, M.A., Yaacob, M.H., Syahir, A. & Mahdi, M.A. 2015. Sensitive and Specific Protein Sensing Using Single-Mode Tapered Fiber Immobilized With Biorecognition Molecules. *IEEE Photonics Journal*.
- Norhidayah Selamat. 2017. Sintesis pencirian kompleks platinum(II) salfen dan platinum(II) bipiridina sebagai bahan sensor optik bagi pengesanan DNA khinzir.
- Ping, C.S., Amzar Muzaffar, M.A., Supian, L.S., Wan Faiza, W.F.N., Mardhiah Zainuddin, N.A. & Mokhtar, A.S. 2025. Detection of Benzoic Acid Using Tapered Surface Plasmon Resonance Polymer Fiber. *Jurnal Kejuruteraan* 37(2): 895–907.
- Qiang, Z., Junyang, L., Yanling, Y., Libo, G. & Chenyang, X. 2014. Micro double tapered optical fiber sensors based on the evanescent field-effect and surface modification. *Optik* 125(17).
- Shahratul Ain Mohd Sukri. 2017. Sintesis pencirian dan kajian kompleks platinum(II) dan zink(II) salfen sebagai bahan sensor bagi pembangunan biosensor bagi pembangunan biosensor optik DNA khinzir. Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Singh, P.K., Jairath, G., Ahlawat, S.S., Pathera, A. & Singh, P. 2016. Biosensor: an emerging safety tool for meat industry.
- Soares, S., Amaral, J.S., Oliveira, M.B.P.P. & Mafra, I. 2013. A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed poultry meat products. *Meat Science* 94(1).
- Socorro-Lerános, A.B., Santano, D., Del Villar, I. & Matias, I.R. 2019. Trends in the design of wavelength-based optical fibre biosensors (2008–2018).
- Sun, D., Guo, T. & Guan, B.O. 2017. Label-free detection of DNA hybridization using a reflective microfiber bragg grating biosensor with self-assembly technique. *Journal of Lightwave Technology* 35(16).

- Taha, B.A., Ali, N., Sapiee, N.M., Fadhel, M.M., Mat Yeh, R.M., Bachok, N.N., Al Mashhadany, Y. & Arsad, N. 2021. Comprehensive review tapered optical fiber configurations for sensing application: Trend and challenges.
- Wu, J., Zhang, X., Liu, B., Zhang, H. & Song, B. 2017. Square-microfiber-integrated biosensor for label-free DNA hybridization detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 252.
- Yi, C., Wang, L. & Li, Y. 2015. Energy Efficient Transmission Approach for WBAN Based on Threshold Distance. *IEEE Sensors Journal* 15(9).
- Zainuddin, N.H., Chee, H.Y., Ahmad, M.Z., Mahdi, M.A., Abu Bakar, M.H. & Yaacob, M.H. 2018. Sensitive Leptospira DNA detection using tapered optical fiber sensor. *Journal of Biophotonics* 11(8): 1–12.
- Zhang, X., Liu, B., Zhang, H., Zheng, X., Song, B., Wu, J. & Duan, S. 2019. Label-free detection of DNA hybridization utilizing dual s-Tapered thin-core fiber interferometer. *Journal of Lightwave Technology* 37(11).
- Zibaii, M.I., Latifi, H., Karami, H., Gholami, M., Hosseini, S.M. & Ghezelayagh, M.H. 2010. Non-adiabatic tapered optical fiber sensor for measuring the interaction between α -amino acids in aqueous carbohydrate solution. *Measurement Science and Technology* 21(10).