

Penentuan Konsentrasi Optimum Anti Protein Spesifik Susu Sapi 208 kDa pada Sensor QCM

Nur Chabibah^{1)*}, Setyawan P. Sakti²⁾, Masdiana Ch. Padaga³⁾, Johan A.E.Noor²⁾
Fenny Irawati¹⁾, Farida Wahyuni¹⁾

¹⁾ Program Studi Magister Ilmu Fisika, Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

²⁾ Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

³⁾ Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

Diterima 11 Februari 2014, direvisi 24 Maret 2014

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah memanfaatkan sensor QCM (Quartz Crystal Microbalance) untuk menentukan konsentrasi optimum immobilisasi anti protein spesifik susu sapi dengan berat molekul 208 kDa (anti PSS 208 kDa). Sensor QCM dilapisi polistiren 5% kemudian dioven pada suhu 200 °C. Selama pengukuran, sensor QCM dihubungkan dengan perangkat akuisisi data dan *software QCM-Box*. Setelah frekuensi stabil tris-Cl dicapai, sensor QCM ditetesi anti PSS 208 kDa sebanyak 30 µL dengan variasi konsentrasi antara 200 mg/L sampai 1400 mg/L. Perubahan frekuensi dari sensor QCM dicatat sebagai fungsi perubahan konsentrasi anti PSS 208 kDa. Perubahan frekuensi akibat adanya anti PSS 208 yang terdeposisikan pada permukaan QCM tidak terjadi secara spontan namun membutuhkan waktu untuk mencapai keadaan stabil. Semakin tinggi konsentrasi anti PSS 208 kDa yang diberikan maka semakin tinggi perubahan frekuensinya hingga mulai mencapai titik saturasi pada konsentrasi 1000 mg/L. Persentase massa anti PSS yang terdeposisi pada permukaan QCM berbanding terbalik dengan konsentrasi anti PSS. Sehingga konsentrasi optimum anti PSS 208 kDa untuk immobilisasi ditentukan pada saat perubahan frekuensi mulai mencapai titik saturasi, yaitu pada konsentrasi 1000 mg/L dengan nilai sebesar 267 ± 5 Hz.

Kata kunci : Sensor QCM, anti PSS 208 kDa.

ABSTRACT

The purpose of the research is to detect optimum concentration of immobilization of anti protein cow's milk with 208 kDa molecular weight's (anti PSS 208 kDa) by utilizing QCM (*Quartz Crystal Microbalance*) sensor. The purpose of research is to detect optimum concentration of immobilization of specific anti protein cow's milk with 208 kDa molecular weight's (anti PSS 208 kDa) by utilizing QCM (*Quartz Crystal Microbalance*) sensor. QCM sensor had been coated by polystyrene solution of 5% which is heated until 200 °C. During measurement, QCM sensor place on data acquisition and QCM-Box measurement. 30 µL Anti PSS 208 kDa with concentration varied between 200 mg/L up to 1400 mg/L was dropped to QCM sensors. Frequency changes were recorded as a function of concentration of anti PSS 208 kDa. The frequency changes due to presence of anti PSS 208 kDa deposited on the surface of QCM sensor were not spontaneous, but takes time to reach steady state. As the concentration of anti PSS 208 kDa increased, so is the frequency change until it reach saturation point at 1000 mg/L. The mass percentage of anti PSS 208 kDa deposited on QCM sensor surface is decreased with increasing anti PSS 208 kDa concentration. Therefore optimum immobilization concentration of anti PSS 208 kDa is define on frequency changes at first saturation point, that is at 1000 mg/L concentration namely 267 ± 5 Hz.

Keywords : QCM Sensor, anti PSS 208 kDa.

*Corresponding author :
E-mail: nh_bie@yahoo.com

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan pangan alami yang mempunyai nutrisi lengkap dan banyak dikonsumsi oleh seluruh lapisan masyarakat. Akhir-akhir ini susu kambing lebih banyak digemari bila dibandingkan susu sapi karena susu kambing lebih banyak mengandung vitamin A, B, mengandung unsur Ca, P, K, mempunyai tekstur yang lembut, mudah dicerna, tercampur secara homogen, tidak menyebabkan alergi [1]. Selain itu susu kambing dapat digunakan sebagai alternatif bagi penderita yang alergi susu sapi [2].

Memperhatikan sisi positif di atas, saat ini banyak industri yang memanfaatkan susu kambing dalam berbagai bentuk olahan sehingga menyebabkan harga susu kambing lebih mahal jika dibandingkan dengan susu sapi. Perbedaan harga susu kambing dengan susu sapi yang cukup besar, disertai sulitnya membedakan secara fisik dengan panca indra manusia menyebabkan adanya pemalsuan susu kambing oleh susu sapi. Pemalsuan dilakukan dengan mencampurkan susu sapi ke dalam produk susu kambing. Hal ini sangat merugikan konsumen. Kerugian tidak hanya pada sisi ekonomi tetapi juga pada sisi kesehatan ketika susu kambing dimanfaatkan untuk keperluan kesehatan [3].

Upaya untuk mendeteksi pemalsuan susu kambing oleh susu sapi perlu dilakukan. Dari berbagai macam metode yang mungkin dilakukan, Biosensor berbasis QCM immunosensor merupakan salah satu perangkat alternatif yang dapat dikembangkan untuk mendeteksi adanya susu sapi pada susu kambing berdasarkan reaksi spesifik antara antigen (protein spesifik susu sapi berat molekul 208 kDa/ PSS 208 kDa) dengan antibodi (anti Protein spesifik susu sapi berat molekul 208 kDa/ anti PSS 208 kDa) [4]. Biosensor merupakan alat pendeteksi yang menggabungkan komponen biologis dan transduser untuk menghasilkan sinyal yang terukur yang dapat mendeteksi, mencatat, dan mengirimkan informasi secara cepat [5]. Sedangkan Immunosensor merupakan alat yang digunakan untuk mendeteksi banyaknya molekul target yang berinteraksi berdasarkan reaksi antigen-antibodi [6]. Salah satu contoh

biosensor yang berbasis immunosensor adalah QCM.

QCM (*Quartz Crystal Microbalance*) merupakan sensor massa yang sangat sensitif, bekerja berdasarkan prinsip kristal piezoelektrik. Perubahan massa pada permukaan QCM dapat dideteksi sampai orde nanogram. QCM dapat digunakan secara langsung untuk mengukur interaksi spesifik antara molekul yang diimmobilisasi dengan analitnya pada larutan. Ikatan antara analit dan ligan yang terimmobilisasi menyebabkan pergeseran frekuensi resonansi. Adanya pergeseran frekuensi resonansi dapat menghasilkan sinyal yang dapat direkam dengan menggunakan pencacah frekuensi resolusi tinggi [4].

Ketika sebuah massa dideposisikan pada permukaan QCM maka QCM akan mengalami pergeseran frekuensi sebesar Δf , hal ini sesuai dengan persamaan Sauerbrey [7,8]:

$$\Delta f_m = - \frac{2f_o^2}{\sqrt{\rho_q \mu_q}} \frac{\Delta m}{A} \quad (1)$$

dimana:

- Δf : Perubahan frekuensi (Hz)
- Δm : Perubahan massa (g)
- f_o : Frekuensi resonansi pada kristal (Hz)
- A : Luas permukaan elektroda (cm²)
- ρ_q : Density kristal kuarsa (2,648 g/ cm³)
- μ_q : Modulus shear dari kristal (2,947 × 10¹¹ g/cm s²).

Persamaan ini hanya dapat menjelaskan penambahan massa yang rigid yang terdeposisikan pada permukaan QCM [7], seperti pada kasus reaksi imunologi antara anti PSS 208 kDa (antibodi) dengan PSS 208 kDa (antigennya). PSS 208 kDa merupakan protein spesifik susu sapi yang mempunyai berat molekul 208 kDa. Sedangkan anti PSS 208 kDa merupakan antibodi yang dihasilkan oleh hewan coba (kelinci) yang telah diinjeksi PSS 208 kDa [3].

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ayu [3] berhasil mengembangkan antibodi protein spesifik susu sapi dengan berat molekul 208 kDa. Antibodi protein spesifik susu sapi 208 kDa dapat digunakan sebagai bahan dasar *sensitif layer* untuk mendeteksi campuran susu sapi dalam susu kambing dengan menggunakan metode *dot blot* [3]. Tetapi konsentrasi optimum anti PSS 208 kDa untuk immobilisasi masih belum diteliti. Tujuan Penelitian ini

adalah memanfaatkan sensor QCM untuk menentukan konsentrasi optimum immobilisasi anti PSS 208 kDa.

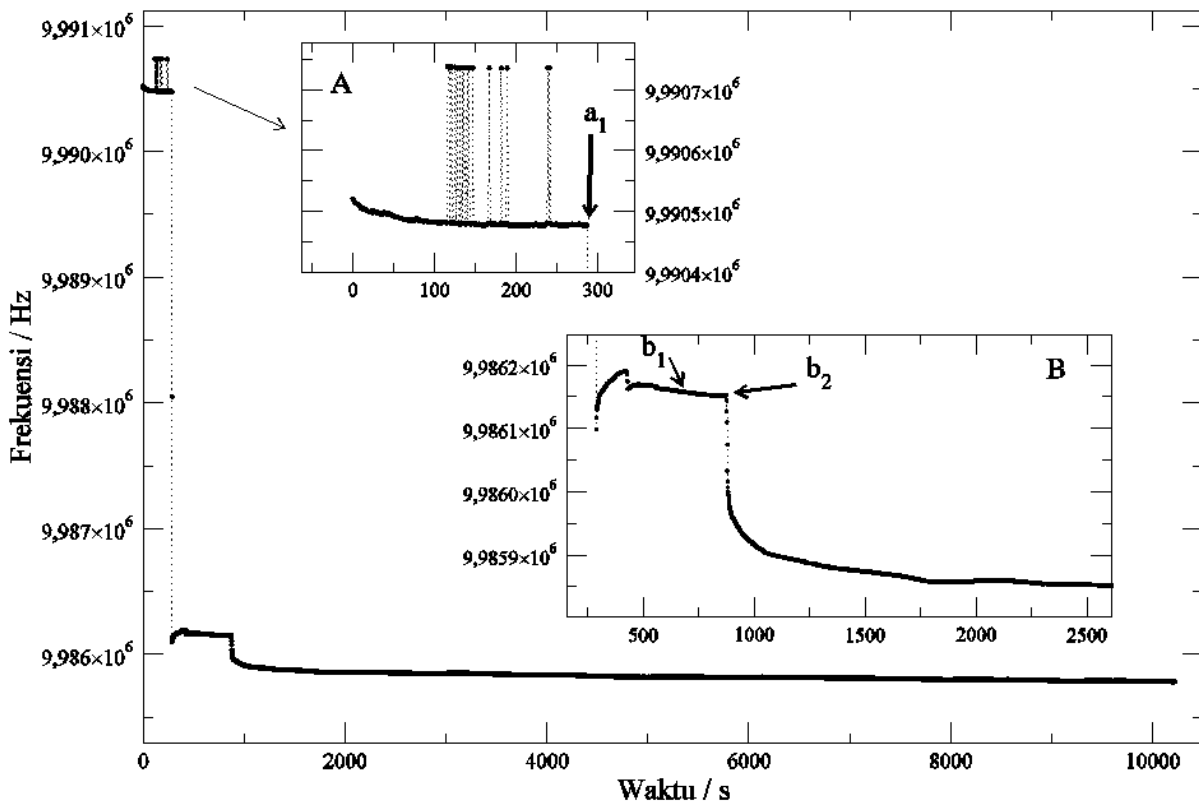
METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini digunakan sensor QCM (*Quartz Crystal Microbaance*) dan anti protein spesifik susu sapi berat molekul 208 kDa. Polistiren dilarutkan dengan kloroform pada konsentrasi 5 % menggunakan *ultrasoundbath Bronson 2510*. Larutan polisriten digunakan untuk melapisi permukaan sensor QCM dengan metode *spin coating* pada kedua sisinya. Setelah kering dioven sampai suhu 200 °C. PSS 208 kDa diperoleh dari isolasi susu sapi murni, kemudian di analisis melalui metode SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphat Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) untuk menentukan pita target, yaitu protein spsifik

susu sapi berat molekul 208 kDa. Pita target dipurifikasi dengan metode *elektroelusi* untuk mendapatkan PSS 208 kDa. PSS 208 disuntikkan pada kelinci, pada *bleeding* ke delapan diambil serum darahnya kemudian dipurifikasi untuk mendapatkan anti PSS 208 kDa.

Immobilisasi anti PSS 208 kDa dilakukan dengan melakukan pelapisan polistiren 5% pada sensor QCM, kemudian dioven pada suhu 200 °C selama 30 menit. Sensor QCM tersebut diletakkan pada konstruksi sel yang telah terhubung dengan sistem akuisisi data dan *software QCM-Box*. Setelah frekuensi sensor QCM stabil pada lingkungan udara, Tris-Cl sebanyak 100 µL diinjeksikan tepat ditengah permukaan QCM. Penginjeksian tris-Cl akan menyebabkan penurunan frekuensi QCM.

Kemudian setelah frekuensi sensor QCM kembali stabil, anti PSS 208 kDa sebanyak 30 µL diinjeksikan pada permukaan sensor QCM.



Gambar 1. Grafik perubahan frekuensi terhadap waktu yang ditempuh selama proses immobilisasi. Insert A merupakan grafik perubahan frekuensi ketika QCM di running pada udara. Titik a_1 merupakan titik ketika sensor QCM ditetesi tris-Cl dan titik ketika mulai terjadinya perubahan frekuensi sensor QCM akibat ditetesi tris-Cl. Insert B menunjukkan grafik perubahan frekuensi QCM setelah ditetesi tris-Cl dan mencapai kestabilan mulai dari titik b_1 . Setelah frekuensi stabil tercapai, maka QCM ditetesi anti PSS 208 kDa, yaitu pada titik b_2 . Proses immobilisasi anti PSS

Penginjeksian anti PSS 208 kDa juga akan menyebabkan perubahan frekuensi sensor QCM, akan tetapi frekuensinya akan kembali stabil setelah anti PSS 208 kDa terimmobilisasi pada permukaan sensor QCM. Perubahan frekuensi (Δf) diperoleh dari selisih frekuensi akhir ketika frekuensi sensor QCM setelah diinjeksi anti PSS 208 kDa stabil dikurangi frekuensi awal, ketika diinjeksi anti PSS 208 kDa. Nilai perubahan frekuensi disimpan dan di analisa lebih lanjut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

QCM bekerja berdasarkan prinsip perubahan massa yang terdeposisi pada permukaannya. Ketika ada massa yang terdeposisikan pada permukaan, QCM akan mengalami perubahan frekuensi sebesar Δf .

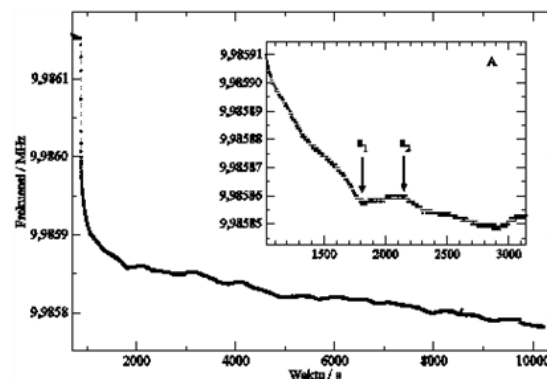
Gambar 1 merupakan perubahan frekuensi (sumbu y) sensor QCM selama proses immobilisasi (sumbu x). Insert Gambar A menunjukkan kondisi perubahan frekuensi sensor QCM ketika dihubungkan dengan peralatan akuisisi data dan perangkat *software QCM-Box*. Sensor QCM di *running* pada lingkungan udara tanpa diinjeksi bahan apapun. Setelah frekuensi sensor QCM stabil pada lingkungan udara kurang lebih sekitar 100 detik, sensor QCM diinjeksi larutan tris-Cl. Titik a_1 merupakan titik ketika sensor QCM diinjeksi Tris-Cl sebanyak 100 μL . Pada titik tersebut merupakan titik mulai terjadinya perubahan frekuensi akibat diinjeksi tris-Cl.

Insert Gambar B merupakan grafik perubahan frekuensi sensor QCM setelah diinjeksi tris-Cl dan mencapai kestabilan mulai titik B. Setelah perubahan frekuensinya mencapai stabil hingga 200 detik (mulai titik b_1), anti PSS 208 kDa sebanyak 30 μL diinjeksikan pada permukaan QCM (titik b_2).

Ketika anti PSS 208 kDa diinjeksikan pada permukaan sensor QCM akan terjadi perubahan frekuensi sebesar Δf ($\Delta f_{\text{tris-cl, anti PSS 208 kDa}}$). Nilai Δf diperoleh dari selisih frekuensi akhir dikurangi frekuensi awal (f_o). Frekuensi awal (f_o) ditentukan dari titik pertama mulai merambatnya anti PSS 208 kDa (titik B2), sedangkan frekuensi akhir diperoleh pada titik ketika frekuensi immobilisasi stabil.

Immobilisasi anti PSS 208 kDa pada permukaan sensor QCM terhadap waktu yang

ditempuh dapat dilihat Gambar 2.



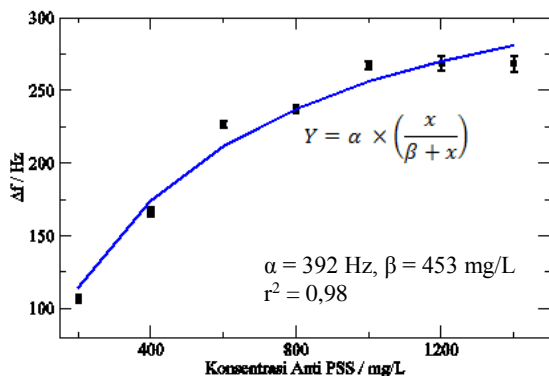
Gambar 2. Immobilisasi anti PSS 208 kDa pada permukaan QCM

Anti PSS 208 kDa diimmobilisasikan pada permukaan QCM selama sekitar 10.000 detik. Proses terjadinya immobilisasi dapat diketahui dari mulai merambatnya anti PSS 208 kDa secara pelan-pelan sampai terbentuk grafik melengkung kemudian stabil mulai titik a_1 hingga titik a_2 kemudian membentuk pola *plateau* (insert A Gambar 2). Frekuensi akhir (f_o) ditentukan dari titik terakhir pada perubahan frekuensi yang stabil, yaitu titik a_2 . Kriteria stabil disini adalah perubahan frekuensi setelah ditetesi anti PSS 208 kDa setelah selama 300 detik yang pertama perbedaan frekuensinya sekitar 3 Hz.

Nilai Δf yang didapat dari grafik seperti pada Gambar 2 dilakukan lima kali ulangan pada konsentrasi yang sama dan pada beberapa variasi konsentrasi anti PSS 208 kDa. Setelah diperoleh nilai Δf pada berbagai variasi konsentrasi dapat diplot grafik hubungan perubahan frekuensi sebagai sumbu Y terhadap variasi konsentrasi anti PSS 208 kDa sebagai sumbu X. Pola perubahan frekuensi terhadap variasi konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Perubahan frekuensi sensor QCM akibat immobilisasi anti PSS 208 kDa berbanding lurus dengan variasi konsentrasi anti PSS 208 kDa. Semakin besar konsentrasi anti PSS 208 kDa maka perubahan frekuensi QCM akibat immobilisasi anti PSS 208 kDa juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan persamaan Sauerbrey [8] dan dapat dilihat juga pada Gambar 3 dimana grafik perubahan frekuensi akibat immobilisasi anti PSS 208 kDa terhadap variasi konsentrasi polanya berbentuk linear. Pada konsentrasi 200 – 1000 mg/L pola perubahan frekuensi anti PSS 208 kDa yang

terimmobilisasi linear, sedangkan mulai konsentrasi 1000 – 1400 mg/L perubahan frekuensinya mencapai titik saturasi, yaitu mencapai puncak pada konsentrasi 1000 mg/L kemudian landai untuk konsentrasi selanjutnya.



Gambar 3. Grafik hubungan perubahan frekuensi sensor QCM terhadap variasi konsentrasi akibat immobilisasi anti PSS 208 kDa. Y merupakan persamaan kurva *fitting saturation growth-rate*. α merupakan nilai saturasi variabel Y (Δf maksimum). β adalah posisi X saat Y mencapai setengah dari nilai α (laju saturasi).

Trend data seperti pada Gambar 3 menunjukkan adanya fenomena saturasi dari perubahan frekuensi, karena itu digunakan persamaan *saturation growth-rate* (persamaan pada Gambar 3) sebagai acuan fitting data. Dalam persamaan ini α adalah nilai maksimum perubahan frekuensi akibat terjadinya saturasi deposisi massa anti PSS 208 kDa di permukaan sensor QCM. Sedangkan β menunjukkan laju perubahan frekuensi dalam mencapai nilai α , dalam hal ini nilai β adalah nilai konsentrasi anti PSS 208 kDa saat perubahan frekuensi mencapai setengah dari nilai α . Melalui kurva fitting regresi non-linier didapatkan nilai $\beta = 453$ mg/L, yang mana dengan asumsi laju linear, nilai ini menyarankan perubahan frekuensi optimum dicapai saat konsentrasi anti PSS 208 kDa bernilai $2\beta = 906$ mg/L.

Kondisi maksimum immobilisasi dicapai ketika seiring dengan penambahan konsentrasi anti PSS 208 kDa tidak menyebabkan adanya perubahan frekuensi. Pada konsentrasi 1000 – 1400 mg/L penambahan konsentrasi tidak menyebabkan perubahan frekuensi yang signifikan. Nilai perubahan frekuensi pada konsentrasi 1000 mg/L sekitar 267 ± 3 Hz, sedangkan pada konsentrasi 1200 dan 1400 nilai perubahan frekuensinya sekitar 269 ± 5

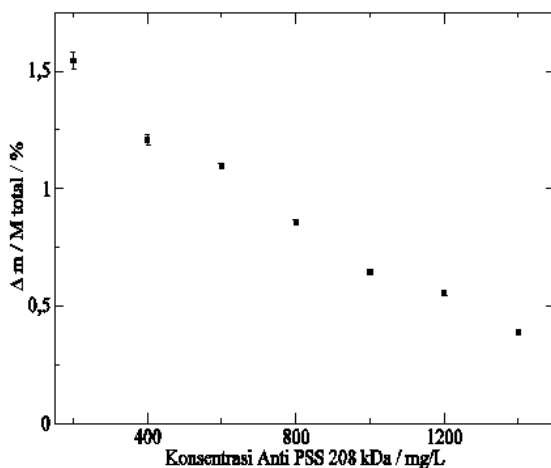
Hz. Selisih perubahan frekuensi pada konsentrasi 1000 – 1400 mg/L hampir sama yaitu sekitar ± 3 Hz, sementara seperti yang dijelaskan di awal kriteria stabil pada penelitian ini adalah perubahan frekuensi setelah di immobilisasi anti PSS 208 kDa setelah selama 300 detik yang pertama perbedaan frekuensinya sekitar ± 3 Hz.

Konsentrasi optimum immobilisasi dicapai ketika perubahan frekuensinya maksimum pada konsentrasi minimum. Konsentrasi optimum immobilisasi pada penelitian ini adalah konsentrasi 1000 mg/L. Dipilih konsentrasi tersebut karena perubahan frekuensinya pertama mencapai puncak sebelum landai dan pada kondisi dimana konsentrasi minimum pada perubahan frekuensi maksimum. Diharapkan dengan menggunakan konsentrasi minimum dihasilkan perubahan frekuensi yang maksimum, sehingga anti PSS 208 kDa dapat dimanfaatkan secara efisien. Selain itu anti PSS 208 kDa dapat menempel maksimum pada permukaan sensor QCM yang dilapisi polistiren sehingga memudahkan untuk mendeteksi PSS 208 kDa.

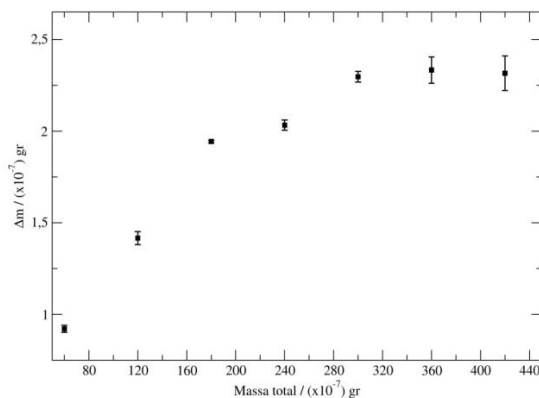
Konsentrasi optimum immobilisasi anti PSS 208 kDa yang ditentukan dari Gambar 3 dengan membandingkan hasil fitting persamaan *saturation growth-rate* dengan perubahan frekuensi pada tiga titik terakhir, yaitu dari konsentrasi 1000 - 1400 mg/L. Nilai konsentrasi optimum yang didapat dari hasil fitting data adalah 906 mg/L, sementara data perubahan frekuensi tidak diambil pada nilai tersebut, karena itu nilai konsentrasi optimum anti PSS 208 kDa dipilih pada konsentrasi yang terdekat dengan nilai tersebut diantara rentang 1000 – 1400 mg/L, yaitu 1000 mg/L. Diharapkan dengan menggunakan konsentrasi optimum Diharapkan dengan menggunakan konsentrasi optimum anti PSS 208 kDa, dapat dihasilkan perubahan frekuensi yang optimum pula pada saat pengukuran PSS 208 kDa. Selain itu anti PSS 208 kDa dapat dimanfaatkan secara efisien, hanya digunakan sebanyak yang dapat menempel di permukaan QCM.

Persentase jumlah massa yang menempel pada permukaan sensor QCM dapat dihitung dari rasio jumlah massa yang menempel dengan massa total. Jumlah massa yang menempel pada permukaan sensor QCM adalah Δm yang dihitung dari persamaan Sauerbrey, persamaan 1 [7], sementara massa total didapat dari

konsentrasi dan volume anti PSS 208 kDa yang diimmobilisasi. Grafik persentase massa, yang ditunjukkan pada Gambar 4 memperlihatkan penurunan rasio jumlah massa anti PSS 208 kDa dengan massa total seiring dengan peningkatan nilai konsentrasi. Hal ini dapat dipahami bila kita mengingat bahwa saturasi perubahan frekuensi yang ditunjukkan pada Gambar 3 juga mengindikasikan saturasi jumlah massa yang dapat menempel, yaitu seperti ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 4. Grafik hubungan variasi konsentrasi terhadap prosentase massa yang terdeposisi pada permukaan sensor QCM.



Gambar 5. Grafik jumlah massa yang terdeposisi pada permukaan sensor QCM dengan massa total.

Karena terjadi saturasi massa yang dapat menempel pada permukaan sensor QCM, sementara konsentrasi anti PSS 208 kDa semakin ditingkatkan, maka akan terbentuk pola penurunan rasio seperti pada gambar 4. Pola penurunan nilai persen massa yang menempel tersebut mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi anti PSS yang diberikan, semakin banyak pula massa anti PSS

yang tidak menempel di permukaan QCM, dan karenanya tidak dapat berfungsi sebagai antibodi pengikat antigen (PSS 208 kDa) serta akan terbuang setelah proses *washing*. Analisis ini memperkuat alasan pemilihan konsentrasi 1000 mg/L sebagai konsentrasi optimum immobilisasi anti PSS 208 kDa.

KESIMPULAN

Deposisi massa dalam proses immobilisasi anti PSS 208 kDa pada permukaan sensor QCM mencapai nilai maksimum dalam rentang frekuensi 1000 – 1400 mg/L. Pada rentang konsentrasi tersebut perubahan frekuensi adalah sebesar 267 ± 3 Hz. Kurva *fitting* regresi non linear dengan menggunakan persamaan *saturation growth-rate* menunjukkan bahwa konsentrasi optimum dicapai pada konsentrasi 906 mg/L. Hasil perhitungan persentase massa yang menempel pada permukaan QCM menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi optimum anti PSS 208 kDa, maka semakin banyak massa yang tidak menempel. Oleh karena itu nilai konsentrasi optimum dipilih dari perubahan frekuensi maksimum pada konsentrasi minimum dalam rentang 1000 – 1400 mg/L dan mendekati 906 mg/L, yaitu 1000 mg/L .

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M., dan Haenlein, G. F. W. (2007). "Physico-Chemical Characteristics of Goat and Sheep Milk." *Small Ruminant Research* **68**: 88-113.
- [2] Tay, E. P., dan Gam, L. H. (2011). "Proteomics of Human and The Domestic Bovine and Caprine Milk." *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol* **19**: 45-53.
- [3] Ayu, S. P. (2011). Pengembangan Antibodi Terhadap Protein Susu Sapi Sebagai Bahan Dasar Sensitif Layer Untuk Deteksi Campuran Susu Sapi Dalam Susu Kambing. *Thesis Program Pasca Sarjana, Fakultas MIPA Malang, Universitas Brawijaya*.
- [4] Hauck, S., Drost, S., Prohaska, E., Wolf, H., and Dubel, S. (2002). *Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning*

- Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [5] D'Souza, S. F. (2001). "Microbial Biosensor." *Biosensor & Bioelectronics* **16**: 337-353.
- [6] Kumar, A. (2000). "Biosensor Based on Piezoelectric Crystal Detector: Theory and Application." *JOM-e* **52**: 454-458
- [7] Sakti, S. P., Hauptmann, P., Zimmermann, B., Buhling, F., Ansorge, S. (2001). "Disposable HSA QCM-Immunesensor for Practical Measurement In Liquid " *Sensor and Actuator B*(78): 257-262.
- [8] Sauerbrey, G. J. P., 155, 260 (1959). "Use of Vibrating Quartz for Thin Weighing and Microweighing." *J. Physics* **155**: 206-222.