

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Urea adalah senyawa kimia yang dapat terbentuk secara biologis dalam tubuh makhluk hidup, baik manusia, hewan maupun tumbuhan (Khairi, 2003). Dalam tubuh manusia pembentukan urea terjadi sebagai produk akhir dari metabolisme protein yang menghasilkan urea. Senyawa ini digunakan dalam pembentukan asam-asam amino sebagai unsur-unsur protein yang berguna bagi tubuh. Kadar urea pada tubuh manusia memiliki batas yang telah ditetapkan yaitu 1,8 – 4,0 mg/L pada darah (Khairi, 2005).

Asam amino, yang dihasilkan dari pencernaan protein makanan, diserap melalui sel epitel usus dan masuk ke dalam darah. Berbagai sel mengambil asam amino ini yang kemudian masuk menjadi simpanan di dalam sel. Asam amino tersebut digunakan untuk membentuk protein dan senyawa lain yang mengandung nitrogen, atau dioksidasi untuk menghasilkan energi. Hati adalah tempat utama oksidasi asam amino. Sebelum rangka karbon pada asam amino dioksidasi, nitrogen terlebih dahulu harus dikeluarkan. Nitrogen asam amino membentuk amonia, yang bersifat toksik bagi tubuh. Di hati, amonia dan gugus amonia dari asam amino diubah menjadi urea, yang bersifat nontoksik, larut dalam air, dan mudah dikeluarkan melalui urin. Perubahan nitrogen asam amino menjadi urea terutama berlangsung di hati. Urea terbentuk dalam siklus urea dari NH_4^+ , CO_2 dan ATP bereaksi menghasilkan karbamoil fosfat, yang akan bereaksi dengan ornitin untuk membentuk sitrulin. Aspartat kemudian bereaksi dengan sitrulin membentuk argininosuksinat, yang membebaskan fumarat dan membentuk arginin. Akhirnya arginin diuraikan oleh arginase untuk membebaskan urea dan membentuk kembali ornitin (Marks, dkk. 2000).

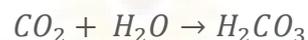
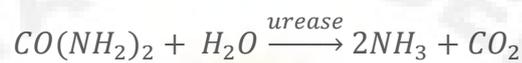
Untuk kepentingan diagnosis dalam bidang kesehatan, dilakukan penentuan kadar urea pada serum atau urin. Pada umumnya penentuan urea dilakukan dengan biosensor dengan enzim. Penentuan ini dapat dilakukan dengan metode

spektrofotometri dan juga secara elektrokimia yang disebut dengan biosensor. Pengembangan biosensor saat ini merupakan salah satu penelitian yang sedang berkembang dalam berbagai bidang, salah satunya dibidang kimia analitik. Sensor adalah perangkat yang menggabungkan elemen pengakuan dengan transduser sinyal. Sensor kimia dapat didefinisikan sebagai alat untuk mengubah bentuk informasi kimia antara suatu konsentrasi kimia kedalam bentuk signal. Perangkat sensor kimia adalah sebuah alat yang mengubah informasi kimia mulai dari konsentrasi komponen menjadi sinyal analitik. Dalam bidang kimia, sensor dikembangkan secara elektrokimia, dimana elektroda digunakan sebagai elemen transduksi, mewakili turunan penting dari sensor kimia (Wahab dan Nafie, 2014).

Biosensor pertama kali diperkenalkan ditahun 1962 oleh Clark dan Lyons, yang telah mengimobilisasi enzim glukosa oksidase (GOD) dengan membran semipermeabel dialisis pada permukaan elektroda oksigen dengan tujuan untuk menghitung langsung konsentrasi sampel secara amperometri. Mereka memaparkan bagaimana membuat sensor elektrokimia (pH, polarografi, potensiometri, atau konduktometri) lebih baik dengan menggunakan enzim pada transduser sebagai membran yang diselipkan. Perangkat biosensor terdiri dari Bioreseptor yaitu komponen biologis yang terimobilisasi (contohnya enzim, DNA) dan transduser yang mengubah sinyal kimia hasil dari interaksi analit dengan bioreseptor kedalam suatu alat elektronik (contohnya potensiostat) (Koyun, dkk, 2010).

Secara spektrofotometri, kadar urea ditentukan dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer. Pengukurannya didasarkan pada reaksi enzimatik urease yang spesifik terhadap urea dengan dietilmonoksim. Reaksi ini menghasilkan larutan kuning dan ditentukan absorbansinya (Khairi, 2003). Sedangkan secara elektrokimia (potensiometri) penentuan urea dilakukan berdasarkan reaksi antara urea dengan urease membentuk ammonium hidroksida. Urease diimobilisasi/diikat pada permukaan kawat logam dan digunakan juga elektroda referensi dimana keduanya adalah untuk menentukan potensial dari reaksi. Prinsip deteksinya adalah hidrolisis urea menggunakan katalis urease

untuk menghasilkan ion amonium, hidroksida dan karbondioksida. Reaksi enzimasi tersebut menghasilkan ion NH_4^+ yang berasal dari hasil reaksi substrat, kemudian dapat dideteksi dengan elektroda secara potensiometri (Situmorang, 2010). Persamaan reaksi enzimasi tersebut adalah sebagai berikut:



Didalam pengembangan biosensor urea secara potensiometri, hal yang menjadi parameter utama adalah bagaimana teknik imobilisasi urease yang baik pada elektroda agar diperoleh waktu respon yang cepat dan sensitivitas yang tinggi terhadap urea. Dengan itu biosensor tersebut akan mampu menentukan urea pada sampel biologis dengan optimum (Gupta, dkk, 2010).

Enzim terimobilisasi merupakan enzim yang dilekatkan pada permukaan suatu bahan tidak larut dengan menggunakan suatu matriks atau membran. Enzim terimobilisasi ini akan lebih tahan terhadap perubahan pH dan suhu. Karena telah dilekatkan, sistem imobilisasi ini akan membuat enzim tetap berada pada tempat tertentu (Wikipedia, 2015). Secara elektrokimia, potensiometri misalnya imobilisasi enzim pada elektroda ini bertujuan agar elektroda yang dibuat dapat digunakan berulang kali dan enzim urease yang digunakan tetap berada disekitar elektroda kerja.

Imobilisasi enzim urease yang relevan pada suatu permukaan elektroda merupakan salah satu langkah penting. Kualitas ataupun kemampuan biosensor yang dibuat dengan imobilisasi enzim ini sangat dipengaruhi oleh teknik imobilisasi dan pemilihan matriks yang digunakan (Fauziah, 2012). Terdapat beberapa metode imobilisasi yang telah diketahui baik digunakan. Beberapa metode tersebut adalah metode adsorpsi, cross linking, entrapment, microencapsulation, dan covalen attachment. Metode-metode tersebut adalah metode terbaik yang sudah digunakan dalam pengembangan biosensor saat ini (Koyun, dkk, 2012).

Beberapa penelitian sebelumnya telah menggunakan beberapa jenis material pendukung (matriks) untuk imobilisasi urease pada permukaan suatu elektroda.

Begun Fauziah (2012) dalam penelitiannya Optimasi Biosensor Urea dengan mengimobilisasi urease menggunakan membran Polianilin (PAn). Imobilisasi Urease dalam matrik PAn ini memiliki waktu respon biosensor 20 menit dengan stabilitasnya sampai 7 hari. Sensitivitas yang dihasilkan yaitu 0,0445.

Mulyasuryani, A dkk (2010) menggunakan membran kitosan sebagai matriks untuk mengimobilisasi urease dan dengan menggunakan H_3O^+ sebagai elektroda transduser. Dalam penelitian itu diperoleh faktor nernst pada uji respon biosensor secara potensiometri 28,47 mV/decade, waktu respon 280 sekon (4 menit 40 sekon) dan range konsentrasi sekitar 0,1 hingga 6,0 ppm. Urease tersebut diimobilisasi pada membran kitosan yang telah dilarutkan dengan asam asetat dengan pH 4.

Selain menggunakan membran kitosan dan PAn, beberapa penelitian sebelumnya juga menggunakan polimer PVC dan Glutaraldehyd sebagai matriks untuk imobilisasi urease. Khairi (2003) melaporkan penggunaan PVC sebagai matriks untuk mengimobilisasi urease secara entrapmen pada kawat tembaga (transduser), diperoleh sensitivitas 47,8 mV/decade dengan waktu respon 135 sekon dan stabilitasnya 14 hari. Hasil ini lebih baik daripada menggunakan membran kitosan seperti yg dilaporkan oleh Mulyasuryani, A, dkk. Penelitian tersebut dilakukan dengan metode potensiometri secara selektif ion.

Selain PVC dan Glutaraldehyda yang telah banyak diteliti sebagai matriks, polimer PVA juga telah digunakan sebagai matriks pada pengembangan biosensor. Menurut Jha, dkk (2007) telah menggunakan PVA sebagai matriks untuk imobilisasi urease untuk menentukan kadar urea darah *blood urea nitrogen* (BUN). Sensor tersebut bekerja pada 1-1000 mM urea dan waktu respon 120 sekon. biosensor tersebut menunjukkan korelasi yang baik dengan reagen metode BUN komersial yang menggunakan analiser kimiawi klinis. PVA adalah salah satu polimer yang berfungsi sebagai perekat yang baik tetapi masih jarang digunakan/diteliti sebagai matriks untuk imobilisasi urease pada pengembangan biosensor urea. PVA larut dalam air, sehingga harus dilakukan iradiasi pada proses imobilisasi. Jha, dkk (2007) melakukan iradiasi dengan γ -rays (sinar

gamma). Iradiasi PVA ini juga dapat dilakukan dengan *microwave* dengan daya 8-15 W.

Pemilihan matriks ini sangat penting karena berhubungan dengan stabilitas. Matriks dapat berupa polimer atau gel. Untuk menghasilkan matriks dengan keterulangan pemakaian yang tinggi, maka sangat baik menggunakan polimer melalui teknik elektropolimerisasi karena akan menghasilkan lapisan yang homogen dan merata. Elektroda yang digunakan sebagai transduser berbeda-beda tetapi memiliki fungsi yang sama. Elektroda ammonia, elektroda oksigen, dan elektroda logam yang meliputi tembaga, antimoni, iridium, wolfram (tungsten), dan PAN semikonduktor. Elektroda tersebut telah digunakan untuk pengembangan biosensor pestisida, glukosa, kolesterol dan urea (Emr dan Yacynych, 1995).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk mengembangkan lebih lanjut biosensor urea melalui imobilisasi urease dengan matriks polimer PVA (polyvinil alcohol), dan elektroda Wolfram dipilih sebagai transduser. Imobilisasi urease dengan PVA dilekatkan pada permukaan Wolfram. Dengan penggunaan matriks dan elektroda tersebut diharapkan dapat mengembangkan biosensor urea yang lebih baik untuk penentuan urea. Peneliti mengangkat judul **“Immobilisasi Enzim Urease Untuk Pembuatan Sensor Kimia Dalam Penentuan Urea”** untuk penelitian ini.

1.2. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada:

1. Teknik immobilisasi enzim urease untuk pembuatan biosensor urea dalam deteksi potensiometri pada elektroda wolfram menggunakan matriks polimer polivinil alkohol (PVA)
2. Kondisi optimum elektroda wolfram yang telah diimmobilisasi enzim urease sebagai biosensor pada analisis urea secara potensiometri meliputi jenis larutan buffer, pH larutan buffer, konsentrasi larutan buffer, larutan elektrolit dan senyawa pengganggu.
3. Uji aktivitas enzim meliputi sensitivitas, waktu respon dan jangkauan pengukuran.

1.3. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana teknik yang baik untuk mengimmobilisasi enzim urease di dalam matriks polimer polivinil alkohol (PVA) pada kawat wolfram untuk membuat biosensor urea dalam deteksi potensiometri.
2. Bagaimana kondisi optimum elektroda wolfram yang telah diimmobilisasi enzim urease sebagai biosensor pada analisis urea secara potensiometri meliputi jenis larutan buffer, pH larutan buffer, konsentrasi larutan buffer, larutan elektrolit dan senyawa pengganggu.
3. Bagaimana menguji aktivitas enzim yang meliputi sensitivitas, waktu respon dan jangkauan pengukuran.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan teknik yang baik untuk mengimmobilisasi enzim di dalam matriks polimer polivinil alkohol (PVA) pada kawat wolfram untuk membuat biosensor urea dalam deteksi potensiometri.
2. Menentukan kondisi optimum elektroda wolfram yang telah diimmobilisasi enzim urease sebagai biosensor pada analisis urea secara potensiometri meliputi jenis larutan buffer, pH larutan buffer, konsentrasi larutan buffer, larutan elektrolit dan senyawa pengganggu.
3. Menentukan sensitivitas, waktu respon dan jangkauan pengukuran.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui teknik yang baik untuk mengimmobilisasi enzim urease di dalam matriks polimer polivinil alkohol (PVA) pada kawat wolfram untuk membuat biosensor urea dalam deteksi potensiometri.
2. Mengetahui Kondisi optimum elektroda wolfram yang telah diimmobilisasi enzim urease sebagai biosensor pada analisis urea secara potensiometri meliputi jenis larutan buffer, pH larutan buffer, konsentrasi larutan buffer, larutan elektrolit dan senyawa pengganggu.
3. Mengetahui aktivitas enzim yang meliputi sensitivitas, waktu respon dan jangkauan pengukuran.