

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang Masalah

Urea merupakan molekul dari amonia yang dibentuk pada proses deaminasi asam amino dalam hati (Khairi, 2005). Urea juga dikenal dalam istilah carbamide. Pada dasarnya urea merupakan limbah yang dihasilkan oleh metabolisme didalam tubuh manusia (metabolisme protein). Dari uraian metabolisme asam amino diketahui bahwa  $\text{NH}_3$  dapat dilepaskan dari asam amino melalui reaksi transaminasi, deaminasi, dan dekarboksilasi. Pada reaksi transaminasi gugus  $\text{NH}_2$  yang dilepaskan diterima oleh asam keto, sehingga terbentuk asam amino baru dan asam keto lain. Sedangkan pada reaksi deaminasi, gugus  $\text{NH}_2$  dilepaskan dalam bentuk ammonia yang kemudian dikeluarkan dari dalam tubuh dalam bentuk urea dalam urine. Hans Krebs dan Kurt Henseleit pada tahun 1932 mengemukakan serangkaian reaksi kimia tentang pembentukan urea, yang mereka namakan siklus urea. Urea ditemukan pertama kali oleh Rooelle pada tahun 1773 dalam urin. Menurut Dahliani (1995), kadar urea dalam darah orang dewasa adalah 1,8 – 4,0 mg/L. Selain dalam darah urea dapat ditentukan dalam serum dan urin (Cik, dkk. 2007). Kadar urea yang berlebihan dapat mengganggu proses kerja ginjal, atau dalam istilah kedokteran dikenal dengan “gagal ginjal”. Oleh karena itu analisis kandungan urea dalam tubuh sangat diperlukan (Khairi, 2003).

Dahliani (1995), mengemukakan bahwa penentuan urea dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri dan potensiometri. Hasil hidrolisis urea dengan urease menghasilkan amonia dan karbondioksida. Ion amonium yang terbentuk bereaksi dengan hipoklorit dan salisilat membentuk larutan kuning kehijau-hijauan yang dapat diukur secara spektrofotometri. Menurut Situmorang, dkk (2010) dalam penelitiannya analisis secara spektrofotometri kurang sensitif karena sulit memilih senyawa kimia pengabsorpsi yang tepat. Zat atau senyawa kimia pengabsorpsi kebanyakan bersifat karsinogenik sehingga tidak aman bagi pengguna di laboratorium. Metode spektrofotometri juga cenderung kurang

selektif karena pengukuran spektrofotometri akan memberikan respon terhadap senyawa berwarna dan senyawa organik yang mengakibatkan hasil analisis cenderung kurang akurat. Teknik analisis secara spektrofotometri pada umumnya sangat lambat dan proses pelaksanaannya juga sangat kompleks. Cara lain untuk mengetahui kadar urea adalah dengan metode potensiometri secara elektroda selektif ion (ESI). Metoda ESI yang dikembangkan untuk penentuan kadar urea adalah dengan menggunakan biosensor urea dan polimer konduktif, yang biasa digunakan pada metode ini adalah polipirol dan polianilin karena mudah disintesis dan kestabilan sifat-sifatnya (Colin dan Petit, 2002). Potensiometri merupakan salah satu cara pemeriksaan fisikokimia yang menggunakan peralatan listrik untuk mengukur potensial elektroda indikator. Besarnya potensial elektroda indikator ini bergantung pada kepekatan ion-ion tertentu dalam larutan (Day dan Underwood, 2002). Menurut penelitian Khairi (2005) mengenai perbandingan metode potensiometri menggunakan biosensor urea dengan metode spektrofotometri untuk penentuan urea diperoleh bahwa kadar urea yang terukur dengan metode potensiometri adalah 4,28 ppm, lebih tinggi dibandingkan metode spektrofotometri. Namun metode ini memiliki kelemahan yaitu enzim urease hanya dapat digunakan sekali dan selanjutnya akan dibuang bersama sampel setelah selesai proses analisis (Eggins, 1999). Untuk mengatasi permasalahan di atas, maka dilakukan rekayasa enzim melalui teknik imobilisasi.

Enzim adalah suatu senyawa protein yang dapat mempercepat atau mengkatalisis reaksi kimia. Enzim dapat mengubah laju reaksi, sehingga kecepatan reaksi yang dihasilkan dapat dijadikan ukuran keaktifan enzim. Enzim yang terimobilisasi adalah enzim yang secara fisik dan kimia tidak bebas bergerak sehingga dapat dikendalikan kapan enzim tersebut kontak dengan substrat. Enzim dilekatkan pada permukaan suatu bahan yang tidak larut dengan menggunakan suatu matriks atau membran. Enzim yang terimobilisasi dapat dipakai berulang karena stabilitasnya lebih terjaga. Selain itu enzim menjadi lebih mudah dipisahkan dari larutan pereaksi karena enzim tidak larut (Eggins, 1999). 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.

Urease merupakan enzim yang spesifik mengkatalisis reaksi hidrolisis urea yang menghasilkan ammonia dan karbon dioksida. Karena itu enzim urease sering dimanfaatkan sebagai pembuatan biosensor. Dalam pengembangan biosensor urea, enzim urease dapat diimobilisasi dalam suatu matriks dengan berbagai teknik seperti adsorpsi fisik, *entrapment*, ikatan kovalen, *cross linking*, dan enkapsulasi (Fauziyah, 2012). Metode-metode tersebut adalah metode terbaik yang sudah digunakan dalam pengembangan biosensor saat ini (Koyun, dkk. 2012). Teknik imobilisasi yang paling baik untuk dipilih adalah yang memenuhi kriteria utama yakni tidak terjadi perubahan konformasi enzim dan tidak mengganggu gugus fungsi di pusat aktif enzim sehingga enzim tetap dapat berfungsi. Metode penjebakan enzim lebih banyak digunakan karena enzim ada dalam keadaan bebas dan tidak terikat pada bahan pendukung sehingga secara relatif fungsi katalitik dan struktur alami molekul enzim tidak mengalami gangguan guncangan. 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 (Fauziyah, 2012).

Penentuan urea melalui imobilisasi enzim urease dengan metode potensiometri sering dikenal dengan nama biosensor urea. Biosensor didefinisikan sebagai suatu perangkat sensor yang menggabungkan senyawa biologi dengan transduser. Elektroda adalah komponen potensiometri sebagai detektor analit yang menghasilkan beda potensial. Sensitivitas dan selektivitas metode ini ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Elektroda kerja berfungsi untuk merespon analit sehingga sinyal yang terukur akan dipengaruhi oleh aktivitas atau konsentrasi analit. Dalam peralatan biosensor kawat logam berfungsi sebagai transduser (konduktor). Ditinjau dari pemakaian elektrodanya penentuan urea secara potensiometri adalah penentuan potensial elektroda kerja relatif, terhadap elektroda pembanding yang dapat menghasilkan potensial elektroda sebanding

dengan konsentrasi urea. Dengan demikian di dalam sistem pengukuran tersebut diperlukan suatu sel volta atau sel galvanik dengan elektroda kerja yang mampu merespon spesi hasil penguraian urea, yaitu ammonium dan karbondioksida (Cik, dkk. 2007).

Penentuan urea secara potensiometri menggunakan prinsip kerja biosensor telah banyak dilakukan oleh peneliti terdahulu. Khairi pada tahun 2003, telah berhasil mengembangkan Pembuatan Biosensor Urea dengan Transduser Tembaga menggunakan matriks PVC dengan 5 kali pencelupan, sensitivitasnya 47,8 mV/decade, waktu respon terbaik 135 detik, dan stabil selama 14 hari. Pada penelitian Cik pada tahun 2007, mengenai Pengaruh Komposisi Membran Elektroda dalam Penentuan Urea, hasil penelitiannya menunjukkan bahwa elektroda kerja dengan komposisi kawat platina, selulosa asetat, glutaraldehyd dan urease dengan kinerja elektroda sensitivitas 46,4 mV/decade, batas deteksi  $10^{-6}$  M, waktu tanggap < 2 menit, dan usia elektroda 45 hari. 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. Pengembangan biosensor urea saat ini sedang intens dengan tipe kawat terlapis disebabkan bentuknya kokoh, simpel pembuatannya, waktu respons cepat, ekonomis, sampel tanpa pemisahan dan miniatur tetapi waktu hidupnya (stabilitasnya) terbatas (Alexander, 1981). Jha, dkk (2007) telah menggunakan PVA dan polyacrylamide (PAA) 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. Begun Fauziyah (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. Jha, dkk (2007) melakukan iradiasi dengan  $\gamma$ -rays (sinar gamma). Iradiasi PVA ini juga dapat dilakukan dengan *microwave* dengan daya 8-15 W.

Dalam pembuatan sensor urea, polimer atau membran yang digunakan sangat berpengaruh terhadap kinerja elektroda. Keunggulan dari polimer adalah tidak memerlukan pemeliharaan pada suhu tinggi secara periodik, sedikit ketergantungan terhadap suhu, proses pembuatannya sederhana sehingga biaya produktif lebih murah (Simanjuntak, 2008). 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 (hidrofilik), sehingga harus dilakukan iradiasi pada proses imobilisasi. Polimer ini tidak berwarna, tidak toksik, non karsinogenik, mempunyai ketercampuran hayati yang baik dan memiliki sifat fisik yang elastis. Adapun kelemahan dari polimer PVA adalah impedansinya terlalu tinggi, namun hal ini dapat diatasi dengan melakukan penambahan elektrolit sehingga dapat menurunkan impedansi dan menambah sensitivitas (Simanjuntak, 2008). PVA dapat digunakan sebagai lapisan tipis yang sensitif khususnya dalam matrik imobilisasi untuk berbagai aplikasi seperti biosensor (Pourciel, dkk. 2003). Selain hal diatas, PVA mempunyai beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan bahan lain yang dapat digunakan sebagai membran penumbuhan enzim.

Sensitivitas biosensor ditentukan berdasarkan faktor nerst. Persamaan Nerst adalah persamaan yang menghubungkan antara nilai potensial dari suatu elektroda tunggal atau sebuah sel dan aktivitas reaktan-reaktannya. Harga faktor Nerst diperoleh dari kemiringan (slope) grafik potensial (E) terhadap log konsentrasi analit. Analisis regresi ini merupakan hubungan kausal (sebab akibat) antara dua variabel sedangkan untuk mengukur hubungan antara dua variabel disebut analisis korelasi (r).

Berdasarkan uraian tersebut diatas peneliti tertarik untuk meneliti 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 dan menggunakan larutan

buffer. Dengan penggunaan matriks dan elektroda tersebut diharapkan dapat mengembangkan biosensor urea yang lebih baik untuk penentuan urea. Oleh karena itu peneliti mengangkat judul **“Pembuatan Sensor Urea Dengan Immobilisasi Urease Pada Matriks PVA (*Polyvinil Alcohol*)”**.

### **1.2. Batasan Masalah**

Penelitian ini dibatasi pada:

1. Pengembangan biosensor urea dalam deteksi potensiometri dengan mengimobilisasi urease pada elektroda wolfram menggunakan matriks polimer Polyvinil Alkohol (PVA) dengan menggunakan buffer Tris-HCl dan buffer Posfat.
2. Kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar.
3. Penentuan kinerja biosensor meliputi sensitivitas biosensor, jangkauan pengukuran dan waktu respon.

### **1.3. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana strategi yang baik untuk membuat biosensor urea dalam deteksi potensiometri dan bagaimana teknik untuk mengimobilisasi enzim di dalam matriks polimer polyvinil alcohol (PVA) pada kawat wolfram agar kompatibel sebagai biosensor?
2. Bagaimana kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar?
3. Bagaimana menentukan kinerja biosensor urea meliputi sensitivitas biosensor, jangkauan pengukuran dan waktu respon?

### **1.4. Tujuan Penelitian**

Tujuan Penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Membuat biosensor urea dengan deteksi potensiometri menggunakan teknik imobilisasi enzim urease pada matriks polimer PVA agar kompatibel sebagai biosensor.

2. Menentukan kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar.
3. Menentukan jangkauan pengukuran dan waktu respon biosensor urea.
4. Menghasilkan elektroda kerja dengan matriks PVA yang memiliki sensitivitas yang tinggi pada metode potensiometri.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui strategi yang baik dalam pembuatan biosensor urea dengan deteksi potensiometri dan mengetahui kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar.
2. Menghasilkan penelitian dibidang sensor kimia berupa publikasi ilmiah yang dapat digunakan sebagai informasi dan masukan bagi peneliti.