

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Biosensor pertama kali diperkenalkan pada tahun 1962 oleh Clark dan Lyons, yang telah mengimobilisasi enzim glukosa oksidase (GOD) dengan membran semipermeabel yang 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, *et al.*, 2010).

Prinsip kerja biosensor adalah berdasarkan immobilisasi komponen biologi (enzim, bakteri, dan lain-lain) pada matriks membran polimer yang diintegrasikan dengan sinyal transduser pada analit (Hall, 1990). Komponen biologi berfungsi sebagai sensor elektroaktif yang berperan pada reaksi setengah sel elektrokimia sehingga potensial yang ditimbulkan sensitif dan selektif terhadap ion tertentu (Brett, 1993).

Didalam pengembangan biosensor urea secara potensiometri, hal yang menjadi parameter utama adalah bagaimana teknik immobilisasi 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 (Ghupra, *et al.*, 2010).

Urea merupakan senyawa kimia yang terbentuk secara biologis dalam tubuh makhluk hidup yang merupakan produk akhir dari siklus nitrogen dalam hati. Urea dalam darah atau dalam urin merupakan zat penting untuk diagnosis penyakit hati dan ginjal. Kadar urea pada tubuh manusia memiliki batas yang telah ditetapkan yaitu 1,8 – 4,0 mg/L pada darah (Khairi, 2005). Urea dalam darah

atau dalam urin merupakan zat penting untuk diagnosis penyakit hati dan ginjal. Konsentrasi normal urea dalam serum berkisar pada 2,5 - 6,7 mM. Pada pasien yang mengalami kegagalan ginjal kadar urea dalam serum berkisar pada konsentrasi 30-80 mM, sehingga pasien tersebut harus menjalani hemodialisis. Berdasarkan hal tersebut maka urea menjadi bagian dari analisis rutin dalam dunia kesehatan (Huang, *et al.*, 2007).

Urea biasanya ditemukan dalam darah dan cairan tubuh lainnya yang terbentuk dari pemecahan protein selama metabolisme jaringan. Diketahui bahwa konsentrasi urea dalam cairan tubuh merupakan indikator kunci untuk beberapa penyakit seperti masalah ginjal, penyakit jantung koroner, stroke, asupan protein berlebihan atau katabolisme protein, kekurangan gizi, kehamilan, syok dan stres (Friedman, *et al.*, 2014). Oleh karena itu, metode yang cepat, selektif, sensitif, andal dan akurat untuk penentuan urea dalam sampel klinis diperlukan untuk diagnosis cepat penyakit ini. Penentuan urea pada sampel klinis sering dilakukan dengan menggunakan prosedur spektrofotometri UV-vis dimana keberadaan senyawa warna pada sampel mengganggu metode pendeteksian dan menghasilkan akurasi pengukuran yang rendah (Situmorang, dkk., 2010). Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan metode yang sangat sensitif dan selektif untuk penentuan urea pada sampel klinis (Lasisi, *et al.*, 2016).

Urea dapat ditentukan dengan metoda spektrofotometri. Prinsip kerja metode ini adalah berdasarkan pembentukan senyawa kompleks yang berwarna kuning. Penentuan urea secara spektrofotometri cukup teliti, akan tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama dan bahan kimia yang banyak. Selain metoda spektrofotometri, urea juga dapat ditentukan secara potensiometri. Para ahli kimia telah mencoba beberapa metode sederhana untuk mengukur kadar urea dengan menggunakan metode potensiometri dengan piranti biosensor urea. Salah satu metode yang dikembangkan untuk penentuan kadar urea melalui imobilisasi enzim urease adalah metode potensiometri. Potensiometri adalah suatu cara analisis berdasarkan pengukuran beda potensial dari suatu sel elektrokimia. Penentuan urea secara potensiometri 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 karbon dioksida. Reaksi enzimatik tersebut menghasilkan ion NH_4^+ yang berasal dari hasil reaksi substrat, kemudian dapat dideteksi dengan elektroda secara potensiometri (Situmorang, 2010).

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 yang teimobilisasi dapat dipakai berulang karena stabilitasnya lebih terjaga. Selain itu enzim menjadi lebih mudah dipisahkan dari larutan pereaksi karena enzim tidak larut (Eggins, 1999). Perkembangan rekayasa enzim dalam rangka pemanfaatan enzim pada skala industri telah banyak ditemukan.

Urease merupakan enzim yang spesifik mengkatalisis reaksi hidrolisis urea yang menghasilkan ammonia dan karbon dioksida, karena itu enzim urease sering dimanfaatkan sebagai pembuatan biosensor. Biosensor mengandung enzim yang diimobilisasi pada permukaan elektroda yang dapat memberikan respon spesifik terhadap substrat (Wang, *et al.*, 2005).

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). Terdapat beberapa metode imobilisasi yang telah diketahui baik untuk 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, *et al.*, 2012).

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

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.

Selain menggunakan membran kitosan dan PAn, beberapa penelitian sebelumnya juga menggunakan polimer PVC dan Glutaraldehid sebagai matriks untuk imobilisasi urease. Khairi (2003) melaporkan penggunaan PVC sebagai matriks untuk mengimobilisasi urease secara entrapment pada kawat tembaga (tranduser), diperoleh sensitivitas 47,8 mV/dekade 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 Glutaraldehida yang telah banyak diteliti sebagai matriks, polimer PVA juga telah digunakan sebagai matriks pada pengembangan biosensor. Jha, *et al* (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, *et al* (2007) melakukan iradiasi dengan γ rays (sinar gamma). Iradiasi PVA ini juga dapat dilakukan dengan *microwave* dengan daya 8-15 W. Elektroda wolfram (tungsten) telah digunakan untuk pengembangan biosensor glukosa, kolesterol, dan urea secara potensiometri (Situmorang dan Nurwahyuni, 2009)

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 (Emr dan Yacynych, 1995). 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 (Situmorang, *et al.*, 2001).

Berdasarkan uraian tersebut 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 “Rancangan Biosensor Urea Melalui Imobilisasi Urease Dengan Potensiometri Sebagai Penentuan Urea” untuk penelitian ini.

1.2. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada:

1. Pembuatan biosensor urea dalam deteksi potensiometri dengan mengimobilisasi urease pada elektroda wolfram menggunakan matriks polimer polivinil alkohol (PVA).
2. Kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar.
3. Penentuan kinerja biosensor meliputi sensitivitas, jangkauan pengukuran, waktu respon dan linearitas.

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 polivinil alkohol (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, jangkauan pengukuran, waktu respon dan linearitas ?

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Membuat biosensor urea dalam deteksi potensiometri dengan mengimobilisasi enzim urease didalam matriks polimer PVA pada kawat wolfram agar kompatibel sebagai biosensor.
2. Menentukan kondisi optimum biosensor urea untuk penentuan urea standar.
3. Menentukan sensitivitas, jangkauan pengukuran, waktu respon dan linearitas kurva biosensor urea.

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.
3. Menghasilkan elektroda kerja dengan matriks PVA yang memiliki sensitivitas yang tinggi pada metode potensiometri.