



Biosensor Urea Berbasis Biopolimer Khitin Sebagai Matriks Immobilisasi

Nazaruddin

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala
Jl. Tanoh Abe No.3 Darussalam Banda Aceh
e-mail: nazar_eka@yahoo.com

Abstrak

Penelitian tentang biosensor urea menggunakan biopolimer khitin sebagai matriks immobilisasi telah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kinerja biosensor yang dihasilkan yang meliputi sensitivitas, trayek pengukuran, limit deteksi, waktu respon, koefisien selektifitas, dan waktu hidup. Penelitian meliputi beberapa tahap yaitu pembuatan membran polimer khitin dan immobilisasi enzim urease, pelekatan membran khitin pada elektroda pH, dan pengukuran parameter kinerja elektroda. Hasil pengukuran menunjukkan sensitivitas biosensor urea berbasis membran khitin adalah 19,11 mV/dekade, trayek pengukuran 10^{-4} – 10^{-8} M, limit deteksi 10^{-8} M, waktu respon 3,10–6,02 menit, dengan urutan kekuatan ion pengganggu: NH_4Cl > NaCl > CH_3COONa > campuran garam > KCl > CaCl_2 > asam askorbat.

Kata kunci: biosensor, immobilisasi, khitin, urea

1. Pendahuluan

Urea, senyawa kimia yang terbentuk secara biologis dalam tubuh makhluk hidup, adalah produk akhir dari siklus nitrogen dalam hati. 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 dkk., 2007).

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. 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 dan Brett, 1993).

Pada penelitian ini digunakan biosensor yang berfungsi sebagai elektroda kerja. Biosensor mengandung enzim yang diimmobilisasi pada permukaan elektroda yang dapat memberikan respon spesifik terhadap substrat (Wang dkk., 2005). Elektroda yang digunakan adalah elektroda pH membran gelas yang sudah diketahui kinerjanya baik. Elektroda pH berfungsi untuk memantau perubahan pH dari reaksi urea yang dikatalisis oleh urease, dimana hasil reaksinya adalah NH_4^+ dan OH^- . Perubahan konsentrasi OH^- dalam larutan akan merubah pH analit dan dikonversikan dengan potensial. Besarnya potensial yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi urea dalam analit.

Khitin adalah polimer yang sangat baik untuk immobilisasi enzim dan banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman karena polimer tersebut tidak toksik, tersedia dalam berbagai bentuk (gel, powder, fiber dan membran), afinitasnya tinggi terhadap enzim, mudah diderivatisasi, banyak tersedia di alam, dan harganya relatif murah (Spagna dkk, 2001). Berdasarkan sifat-sifat khitin tersebut diatas, khitin menjadi pilihan sebagai matriks immobilisasi enzim urease pada pembuatan biosensor urea untuk keperluan pemantauan kadar urea di dalam

sampel kesehatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kinerja biosensor yang dihasilkan yang meliputi sensitivitas, trayek pengukuran, limit deteksi, waktu respon, koefisien selektifitas, dan waktu hidup.

2. Metodologi

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : peralatan gelas yang umumnya digunakan dalam penelitian di laboratorium, pH/Ion meter, elektroda pH, neraca digital, pengaduk magnet, dan *stop watch*.

2.2 Bahan

Bahan kimia yang digunakan adalah urease type IX 66000 IU/g (sigma), urea (May and Baker), khitin, asam asetat, asam formamida, glutaraldehid, bufer trizmabase (tris), asam askorbat, amonium klorida, natrium klorida, natrium asetat, kalsium klorida, campuran garam.

2.3 Cara Kerja

Pembuatan Elektroda Urease

Sebanyak 0,5 g khitin dilarutkan dalam 10 mL asam asetat 1% atau asam formamida dan diaduk selama 24 jam. Sebanyak 2,5 mg urease ditambahkan. Campuran kemudian dilapisi ke permukaan elektroda pH, sambil elektroda pH diputar pada 100 rpm agar diperoleh permukaan lapisan yang seragam. Elektroda dikeringkan pada suhu 25 °C selama 4 jam. Elektroda kemudian direndam dalam glutaraldehid 2,5% dalam bufer tris (pH= 7) selama 15 menit dan terakhir dibilas dengan larutan bufer tris selama 1 jam.

Faktor Nernst dan Limit Deteksi

Larutan standar urea disiapkan untuk masing-masing konsentrasi: 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , dan 10^{-1} M. Masing-masing larutan analit diukur potensialnya. Potensial E(mV) terukur dialurkan terhadap $-\log[\text{urea}]$, sehingga diperoleh faktor Nernst (sensitivitas) dan limit deteksi diperoleh dari titik ekstrapolasi antara garis tegak dan garis datar.

Waktu respon

Disiapkan larutan standar urea: 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , dan 10^{-1} M. Potensial sel setiap analit diukur dengan menggunakan biosensor urea sampai diperoleh harga potensial yang konstan.

Pengaruh ion pengganggu

Untuk menguji adanya ion pengganggu terhadap respon dari biosensor, dilakukan pengukuran pengaruh ion pengganggu dengan metode larutan terpisah. Potensial sel ion utama diukur, kemudian dalam tempat yang terpisah diukur potensial ion pengganggu. Larutan ion pengganggu yang digunakan adalah asam askorbat, amonium klorida, natrium klorida, kalium klorida, natrium asetat, kalsium klorida dan campuran garam. Nilai koefisien selektifitas (K_{ij}^{pot}) dihitung berdasarkan persamaan (1).

$$K_{ij}^{pot} = \frac{10^{\Delta E \pm 0,059 \cdot a_i}}{a_j^{z_i / z_j}} \quad (1)$$

Dimana :

ΔE : adalah selisih potensial larutan utama (urea) dan potensial larutan yang mengandung ion asing.

a_i : aktifitas ion utama

a_j : aktifitas ion asing

z_i : muatan ion utama

z_j : muatan ion asing

3. Hasil Dan Pembahasan

Karakterisasi elektroda terhadap beberapa parameter yang mempengaruhi kinerja elektroda diukur berdasarkan nilai sensitivitas, trayek pengukuran, limit deteksi, waktu respon dan pengaruh ion asing terhadap respon elektroda yang diindikasikan oleh nilai K_{ij}^{pot} .

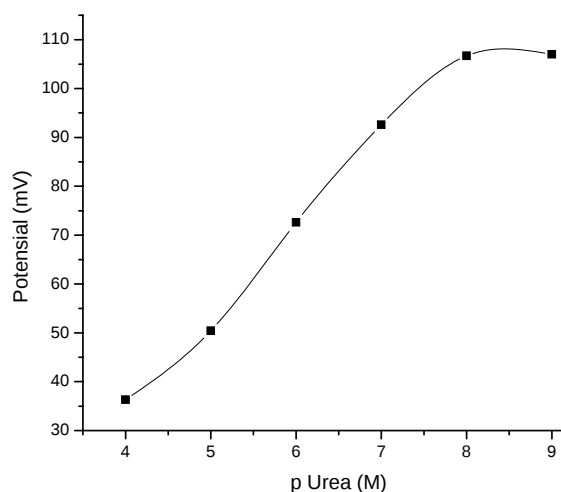
3.1 Sensitivitas dan Trayek Pengukuran

Nilai faktor Nernst (sensitivitas) dan trayek pengukuran biosensor urea berbasis membran khitin dapat dilihat pada Gambar 1. Faktor Nernst yang diperoleh pada percobaan adalah 19,11 mV/dekade dengan trayek pengukuran 10^{-4} – 10^{-8} M.

Gambar 1 menunjukkan bahwa daerah linier potensial elektroda berkisar pada selang konsentrasi 10^{-4} – 10^{-8} M. Kondisi ini menandakan bahwa analisis hanya dapat dilakukan pada selang konsentrasi tersebut. Pada konsentrasi urea lebih kecil dari 10^{-8} M elektroda tidak mampu lagi merespon perubahan konsentrasi urea secara linear.

3.2 Limit Deteksi

Limit deteksi merupakan batas konsentrasi terendah yang dapat diukur oleh elektroda diperoleh dengan membuat garis singgung pada fungsi linier dan non linier, antara $-\log [\text{urea}]$ dengan potensial (mV). Titik potong kedua garis singgung tersebut diekstrapolasikan ke sumbu x ($-\log [\text{urea}]$ atau pUrea), sehingga diperoleh konsentrasi limit deteksi. Limit deteksi biosensor yang diperoleh berkisar pada 10^{-8} M.

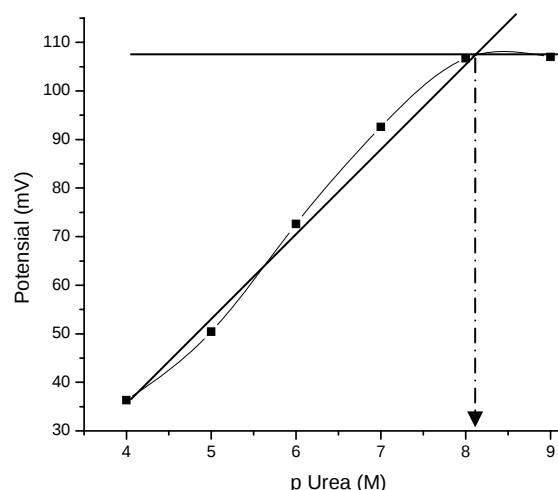


Gambar 1. Kurva sensitivitas biosensor urea berbasis membran khitin

3.3 Waktu Respon

Waktu respon adalah waktu yang diperlukan suatu elektroda untuk mencapai potensial konstan, hal ini disebabkan oleh terjadinya kesetimbangan reaksi yang terjadi pada elektroda. Berdasarkan Gambar 1 atau 2 terlihat bahwa semakin kecil konsentrasi urea, potensial yang ditimbulkan semakin besar. Pada konsentrasi urea yang rendah, ion dalam larutan bebas bergerak sehingga interaksi ion menjadi kecil dan migrasi ion lebih cepat.

Pengukuran waktu respon dilakukan dengan dua cara yaitu penentuan waktu pertama sekali potensial konstan dan penentuan kestabilan potensial selama 300 detik. Penentuan waktu respon dengan cara kedua adalah penentuan waktu respon secara IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). Waktu rata-rata yang diperlukan untuk mencapai potensial konstan adalah sebagaimana yang terlihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Limit deteksi biosensor urea berbasis membran khitin

Berdasarkan data Tabel 1, waktu respon rata-rata biosensor urea berbasis membran khitin adalah 3-6 menit.

3.4 Koefisien Selektifitas

Pengukuran koefisien selektifitas dilakukan dengan melihat respon suatu elektroda terhadap ion asing. Koefisien selektifitas pada percobaan dilakukan dengan metode larutan terpisah.

Tabel 2. Koefisien selektifitas (K_{ij}) biosensor urea berbasis membran khitin

Ion Pengganggu	C_i (M)	C_j (M)	E_i (mV)	E_j (mV)	Koefisien selektifitas (K_{ij})
Asam askorbat	10^{-3}	10^{-3}	46,1	150,5	$1,47 \cdot 10^{-15}$
CaCl_2	10^{-3}	10^{-3}	46,1	75,5	$9,46 \cdot 10^{-5}$
KCl	10^{-3}	10^{-3}	46,1	61,8	$6,90 \cdot 10^{-3}$
Campuran garam	10^{-3}	10^{-3}	46,1	51,8	$6,91 \cdot 10^{-1}$
CH_3COONa	10^{-3}	10^{-3}	46,1	47,8	$1,85 \cdot 10^{-1}$
NaCl	10^{-3}	10^{-3}	46,1	45,4	1,52
NH_4Cl	10^{-3}	10^{-3}	46,1	38,6	14,24

Keterangan: C_i = Konsentrasi ion utama,
 C_j = Konsentrasi ion pengganggu,
 E_i = Potensial ion utama,
 E_j = Potensial ion pengganggu

10^{-9}	6,02
10^{-8}	6,19
10^{-7}	3,10
10^{-6}	3,53
10^{-5}	4,56
10^{-4}	5,01
10^{-3}	6,02
10^{-2}	5,12

Pengujian ion-ion pengganggu tersebut didasari oleh keberadaannya dalam sampel serum darah manusia. Akibatnya, keberadaan ion pengganggu perlu diperhitungkan untuk validasi hasil analisis. Hasil pengukuran K_{ij} pada berbagai ion pengganggu dapat dilihat pada Tabel 2.

Data K_{ij} pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ion yang mempunyai nilai koefisien selektifitas lebih besar dari satu adalah NaCl dan NH_4Cl , dengan demikian NaCl dan NH_4Cl mengganggu pengukuran terhadap biosensor urea berbasis membran khitin. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya ion amonium, sehingga biosensor urea merespon ion amonium yang berasal dari amonium klorida.

4. Kesimpulan

Kinerja biosensor urea berbasis polimer khitin diukur berdasarkan beberapa karakteristik kinerja elektroda seperti : sensitivitas, trayek pengukuran, limit deteksi, waktu respon dan pengaruh ion asing. Dari hasil penelitian, nilai untuk masing-masing karakteristik kinerja tersebut diperoleh: Sensitivitas 19,11 mV/dekade, trayek pengukuran 10^{-4} – 10^{-8} M, limit deteksi 10^{-8} M, waktu respon 3,10 – 6,02 menit, dan urutan kekuatan ion pengganggu: NH_4Cl > NaCl > CH_3COONa > campuran garam > KCl > CaCl_2 > asam askorbat.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih yang tulus disampaikan kepada:

1. DUE-like Project batch II Universitas Syiah Kuala yang telah membiayai penelitian ini.
2. Rekan-rekan staf pengajar, laboran, teknisi dan mahasiswa jurusan kimia yang telah memberi dukungan dan bantuan.
3. Semua pihak yang ikut membantu pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Brett, C. M., Brett, M. O. (1993) *Electrochemistry Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press, New York.
- Hall, E. A. H. (1990) *Biosensors*, Open University, Milton Keynes, Buckingham, British Library Cataloging in Publication Data.
- Huang, C. P, Li, Y. K., Chen, T. M. (2007) A highly sensitive system for urea detection by using CdSe/ZnS core-shell quantum dots, *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 1835-1838.
- Spagna, G., Barbagallo, R. N., Casarini, D., Pifferi, P. G. (2001) A novel chitosan derivative to immobilize α -L-rhamnopyranosidase from *aspergillus niger* for application in beverage technologies, *Enzym and Microbial Technology*, 28, 427-438.
- Wang, K, Xu, J. J., Sun, D. C., Wei, H., Xia, X. H. (2005) Selective glucose detection based on the concept of electrochemical depletion of electroactive species in diffusion layer, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1366-1372.