

**PEMBUATAN BIOSENSOR UREA DAN KARAKTERISASINYA  
BERDASARKAN PENGARUH pH LARUTAN ANALIT**

**SKRIPSI**

oleh :

**PRIMA KHARISMA INDRA YAHYA  
0310920048**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2007**

# PEMBUATAN BIOSENSOR UREA DAN KARAKTERISASINYA BERDASARKAN PENGARUH pH LARUTAN ANALIT

## ABSTRAK

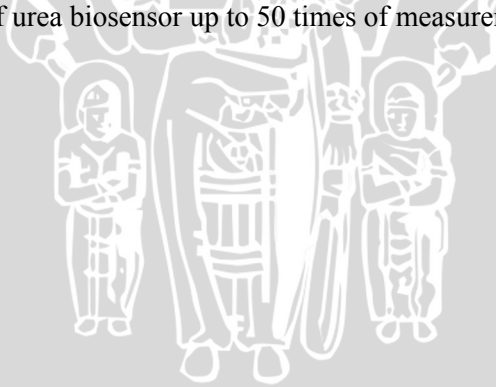
Konsentrasi urea dapat ditentukan secara potensiometri menggunakan biosensor urea yang dapat dibuat dengan melapisi permukaan elektroda gelas dengan urease amobil. Kinerja biosensor urea dipengaruhi oleh pH larutan, karena aktivitas urease bergantung pada pH. Aktivitas urease dalam menghidrolisis urea menjadi ion  $\text{NH}_4^+$  maksimum pada  $\text{pH}=8$  dan pada  $\text{pH}>9,24$  ion  $\text{NH}_4^+$  akan membentuk  $\text{NH}_3$ . Kinerja biosensor urea yang telah dibuat dipelajari pada variasi pH 3 - 9 dan konsentrasi urea  $10^{-6}$  - 1 M. Hasil penelitian menunjukkan kinerja biosensor urea dipengaruhi oleh pH larutan. Kinerja biosensor urea yang terbaik dihasilkan pada  $\text{pH}=8$  dan temperatur  $60^\circ\text{C}$ . Pada kondisi tersebut, biosensor urea menunjukkan harga bilangan Nernst sebesar 27,7 mV/dekade pada kisaran konsentrasi pengukuran  $10^{-3}$  - 1 M, batas deteksi  $1,03 \cdot 10^{-3}$  M, waktu respon 35 detik dan efisiensi biosensor lebih dari 50 kali pengukuran.



# THE CONSTRUCTION OF UREA BIOSENSOR AND ITS CHARACTERIZATION BASED ON THE INFLUENCE OF pH ANALYTE SOLUTION

## ABSTRACT

Urea concentration can be determined by potentiometry using urea biosensor which made by coating the glass electrode with immobilized urease. Urease activity was depend on pH then performance of urea biosensor was affected by pH. Maximum urease activity in hydrolyzing urea to  $\text{NH}_4^+$  ion was reached at  $\text{pH}=8$  and  $\text{NH}_4^+$  ion became  $\text{NH}_3$  at  $\text{pH}>9,24$ . The performance of urea biosensor was studied at pH range of 3 - 9 and within  $10^{-6}$  - 1 M of urea concentration. The result showed that the performance of urea biosensor was affected by pH of the solution. The best performance of urea biosensor was found at  $\text{pH}=8$  and  $T=60^\circ\text{C}$ . That showed 27,7 mV/decade Nernstian factor at  $10^{-3}$  M - 1 M of urea concentration range;  $1,03 \cdot 10^{-3}$  M of detection limit, response time 35 seconds and the efficiency of urea biosensor up to 50 times of measurements.



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul **Pembuatan Biosensor Urea dan Karakterisasinya Berdasarkan Pengaruh pH Larutan Analit**. Penulisan tugas akhir ini merupakan salah satu syarat kelulusan dan memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang kimia di Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan penelitian. Ungkapan terima kasih tersebut penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Ani Mulyasuryani, MS., selaku Dosen Pembimbing I, atas segala pengarahan, perhatian, tenaga, pikiran dan kesabaran yang telah diberikan selama penyusunan tugas akhir ini.
2. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc., selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan dan kesabaran yang diberikan selama penyusunan tugas akhir ini.
3. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes., selaku Dosen Penasehat Akademik dan dosen penguji atas nasehat dan perhatiannya selama melaksanakan studi.
4. Masruri, S.Si., M.Si., Ir. Bambang Ismuyanto, MS., dan Dra. Sri Wardhani, M.Si., selaku dosen penguji, atas segala masukan dan saran yang diberikan untuk perbaikan naskah tugas akhir.
5. Kedua orang tua yang selalu mengiringi penulis dengan doa, perhatian dan kasih sayang serta dukungan hingga terselesainya tugas akhir ini.

Penulis juga menyadari tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, maka dari itu dengan kerendahan hati, penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun guna perbaikan dan penyempurnaannya sehingga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 1 Mei 2007

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Batasan Masalah .....	2
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1. Biosensor .....	4
2.2. Biosensor Potensiometri Urea .....	6
2.3. Kinerja Biosensor .....	10
2.4. Hipotesis .....	12
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>13</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
3.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	13
3.2.1. Bahan Penelitian .....	13
3.2.2. Alat Penelitian .....	13
3.3. Tahapan Penelitian .....	13
3.4. Cara Kerja Penelitian.....	13
3.4.1. Pembuatan Larutan Buffer Fosfat .....	13
3.4.2. Pembuatan Larutan Urea.....	14
3.4.3. Perancangan Biosensor Urea .....	14
3.4.4. Pengaruh pH Larutan Terhadap Kinerja Biosensor .....	15
3.5. Pengolahan Data.....	16

3.5.1. Penentuan Kepekaan Biosensor Urea .....	16
3.5.2. Penentuan Batas Deteksi dan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Biosensor Urea .....	16
3.5.3 Penentuan Waktu Respon Biosensor Urea .....	16
3.5.4 Penentuan Efisiensi Biosensor Urea .....	17

**BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN ..... 18**

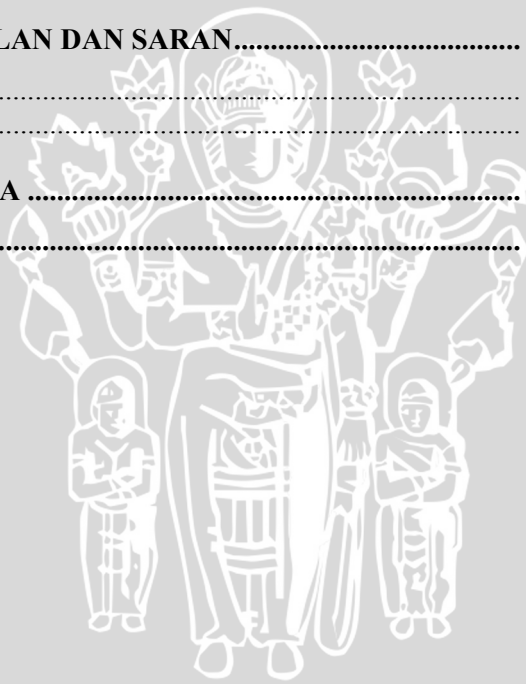
4.1 Pembuatan Biosensor Urea.....	18
4.2 Pengaruh pH Larutan Analit Terhadap Kinerja Biosensor Urea .....	19
4.3 Penentuan Waktu Respon dan Efisiensi Biosensor Urea .....	22

**BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN..... 25**

5.1. Kesimpulan .....	25
5.2. Saran .....	25

**DAFTAR PUSTAKA ..... 26**

**LAMPIRAN ..... 29**





## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Skema alat biosensor ..... 4
Gambar 2.2	Biosensor potensiometri urea ..... 8
Gambar 2.3	Mekanisme deteksi urea oleh biosensor urea ..... 9
Gambar 3.1	Perancangan biosensor potensiometri urea ..... 15
Gambar 4.1	Grafik hubungan antara pH terhadap bilangan Nernst pada temperatur 25°C dan temperatur 60°C ..... 20
Gambar 4.2	Grafik hubungan antara potensial sel biosensor urea dengan waktu pada pH=8; T=60°C ..... 22
Gambar 4.3	Grafik hubungan antara potensial sel biosensor urea dengan banyaknya pengukuran pada pH=8; T=60°C ..... 23



## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1.	Bioreseptor enzim dan analit yang dapat dideteksi..	5
Tabel 2.2.	Aktivitas urease pada $T=60^{\circ}\text{C}$ .....	7
Tabel 4.1.	Data $\Delta\text{E}_{\text{sel}}$ biosensor urea pada temperatur ruang ..	18
Tabel 4.2.	Data $\Delta\text{E}_{\text{sel}}$ biosensor urea pada temperatur $60^{\circ}\text{C}$ ....	18
Tabel 4.3.	Kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksi biosensor urea pada $T=60^{\circ}\text{C}$ .....	21





## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Diagram Alir Penelitian..... 29
Lampiran 2	Skema kerja Secara Umum ..... 30
Lampiran 3	Amobilisasi Enzim Urease Dengan Gelatin ..... 31
Lampiran 4	Perhitungan Pembuatan Larutan..... 32
Lampiran 5	Data Potensial Sel..... 35
Lampiran 6	Grafik hubungan $-\text{Log} [\text{Urea}]$ Terhadap $\Delta E_{\text{sel}}$ ..... 42
Lampiran 7	Grafik Penentuan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Biosensor Urea ..... 46
Lampiran 8	Grafik Penentuan Batas Deteksi Biosensor Urea .... 51
Lampiran 9	Grafik Penentuan Bilangan Nernst Biosensor Urea 56
Lampiran 10	Data Potensial Sel Penentuan Waktu Respon Pada $\text{pH}=8$ ; $T= 60^{\circ}\text{C}$ ..... 61
Lampiran 11	Data Potensial Sel Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada $\text{pH}=8$ ; $T= 60^{\circ}\text{C}$ ..... 63
Lampiran 12	Grafik Penentuan Waktu Respon Biosensor Urea Pada $\text{pH}=8$ ; $T=60^{\circ}\text{C}$ ..... 65
Lampiran 13	Grafik Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada $\text{pH}=8$ ; $T=60^{\circ}\text{C}$ ..... 65



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Urea digunakan dalam berbagai industri seperti industri plastik, lem, pupuk dan rokok (Annonymous<sup>1</sup>, 2006). Urea yang digunakan secara berlebihan akan menyebabkan proses nitrifikasi menghasilkan senyawa nitrosamina. Senyawa ini mampu menyebabkan kanker, mutasi dan abnormalitas, bahkan dapat menembus plasenta yang menimbulkan tumor pada janin (Annonymous<sup>2</sup>, 2000). Urea merupakan hasil metabolisme protein yang dikeluarkan dari tubuh bersama urine (Martoharsono, 1984). Kadar urea normal pada orang dewasa berkisar antara 20 sampai 40 mg/100mL (Chidambaranathan, 2005). Kadar urea dalam tubuh yang melebihi kadar normal mengindikasikan disfungsi ginjal yang disebut azotemia (Bennington, 1984). Kadar urea kurang dari kadar normal mengindikasikan kurangnya asupan protein, hal ini dapat menghambat pertumbuhan anak dan janin. Oleh karena itu, analisis urea perlu dilakukan dalam bidang medis dan industri.

Metode analisis kadar urea yang saat ini biasa dilakukan adalah metode spektrofotometri. Sampel urea didestruksi secara *Kjeldahl*, kemudian ditambahkan pereaksi *Nessler* untuk menghasilkan perubahan warna. Metode tersebut mengukur kadar nitrogen total dalam sampel dan tidak memberikan hasil pengukuran urea secara akurat (Willard, *et al*, 1994), maka dari itu untuk menentukan kadar urea diperlukan suatu metode yang lebih selektif.

Metode analisis yang dapat mengukur kadar urea secara selektif adalah dengan menggunakan urease sebagai katalis hidrolisis urea. Hasil reaksi berupa ammonium kemudian direaksikan dengan salisilat dan hipoklorit membentuk kompleks berwarna hijau yang dapat diukur secara kolorimetri pada panjang gelombang maksimum 578 nm. Kelemahan metode ini adalah kisaran konsentrasi pengukuran yang pendek ( $1M-10^{-2}M$ ) dan tiap kali pengukuran memerlukan urease baru (Sudarmadji, 1996). Untuk meningkatkan kepekaan metode tersebut dapat menggunakan urease amobil yang dilapiskan pada elektroda gelas dan diukur secara potensiometri menggunakan biosensor urea. Biosensor urea memiliki selektifitas tinggi, kisaran konsentrasi pengukuran lebar, dapat digunakan untuk

mengukur kadar urea berulang kali dan memberikan hasil pengukuran lebih cepat. Pembuatan biosensor urea telah banyak dikaji. Campbell, *et al* (2003), mengembangkan biosensor urea dengan menggunakan urease dari *Helicobacter plory* amobil dalam membran polikarbonat, dengan kinerja maksimum biosensor pada pH=6,5 dan kisaran konsentrasi pengukuran  $10^{-1}$ M hingga  $10^{-4}$ M. Pada penelitian ini, dirancang biosensor urea dengan melapisi elektroda gelas menggunakan urease dari *Schizosaccharomyces pombe* amobil dalam gelatin.

Reaksi hidrolisis urea secara enzimatis menghasilkan ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  hasil reaksi hidrolisis dipengaruhi oleh pH larutan yang berkaitan dengan aktivitas urease. Aktivitas maksimum urease *Schizosaccharomyces pombe* dicapai pada pH=8 (Handari, 2006). Ion  $\text{NH}_4^+$  dalam air dapat terhidrolisis membentuk  $\text{NH}_3$  dan  $\text{H}_3\text{O}^+$  dengan  $\text{pK}_a=9,24$ . Urease memiliki pH optimum lebih kecil dari  $\text{pK}_{\text{aNH}_4^+}$ . Hal ini menyebabkan  $\text{NH}_4^+$  akan lebih banyak dalam bentuk ion  $\text{NH}_4^+$  bukan  $\text{NH}_3$ . Jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  hasil reaksi hidrolisis akan sebanding dengan konsentrasi urea dan dapat memberikan perubahan potensial pada elektroda gelas. Berdasarkan data potensial sel terhadap konsentrasi urea dapat ditentukan kinerja biosensor. Dengan demikian, karakterisasi biosensor urea hasil perancangan lebih ditekankan pada pengaruh pH larutan analit yang ditunjukkan oleh kisaran konsentrasi pengukuran, batas deteksi, kepekaan, waktu respon dan efisiensi biosensor.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu bagaimana pengaruh pH terhadap kinerja biosensor urea?

## 1.3. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Kisaran pH yang digunakan pada pH 3 hingga 9
2. Pengukuran potensial sel dilakukan pada temperatur ruang dan temperatur  $60^\circ\text{C}$
3. Berat urease amobil yang digunakan untuk melapisi elektroda gelas adalah 2g

4. Urease yang digunakan hasil isolasi dari *Schizosaccharomyces pombe* yang dimurnikan pada fraksi  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  30-45% diambil dari penelitian Handari (2006)
5. Parameter kinerja biosensor antara lain kisaran konsentrasi pengukuran, batas deteksi, kepekaan, waktu respon dan efisiensi biosensor.

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pH terhadap kinerja biosensor urea.

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

Dengan mengetahui pengaruh pH terhadap kinerja biosensor urea diharapkan dapat dikaji fenomena yang terjadi dalam aplikasi biosensor urea.



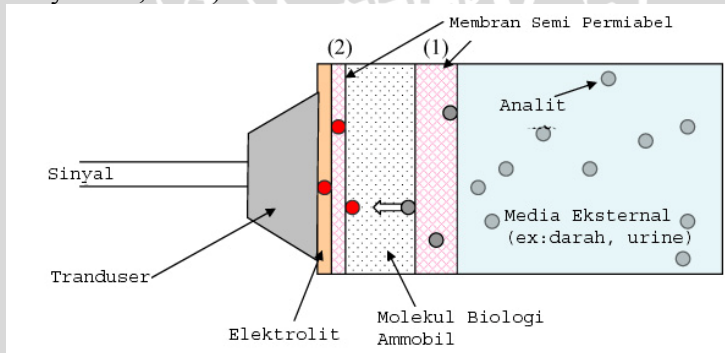
## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Biosensor

Biosensor adalah alat yang menggunakan molekul biologi untuk mendeteksi keberadaan molekul biologi lain atau substansi kimia, yang memanfaatkan reaksi spesifik dari molekul biologi tersebut (enzim, antigen/antibodi) (Adelolu, 1999; Pijanowska, *et al.*, 2005). Biosensor terdiri dari sistem pengenalan biologis atau bioreseptor. Interaksi spesifik antara analit dan bioreseptor seperti enzim atau antibodi akan menghasilkan suatu perubahan fisika kimia. Perubahan tersebut dapat dideteksi oleh transduser dan diubah menjadi suatu sinyal elektrik (Rao and Mulchandani, 2005).

Aplikasi biosensor dalam bidang medis dan lingkungan sangat luas. Beberapa contohnya adalah: deteksi HSA (*Human Serum Albumin*), diagnosa HIV, mengetahui kualitas dari daging yang belum dimasak, deteksi *polychlorinated biphenyls* (PCBs) dalam limbah industri, deteksi bakteri patogen, deteksi glukosa, deteksi urea dan juga deteksi suatu senyawa organofosfat dalam perairan (Andreescu and Sadik, 2004).

Skema alat biosensor, ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Annonymous<sup>3</sup>, 2005):



**Gambar 2.1.** Skema alat biosensor

Komponen-komponen biosensor meliputi:

1. analit: suatu senyawa kimia atau biologi yang bertindak sebagai target deteksi



2. membran semipermeabel (1): membran yang selektif terhadap molekul analit
3. molekul biologi ambivalen (bioreseptor): molekul yang memiliki sistem pengenalan yang spesifik terhadap analit, dan mampu mengubah analit menjadi senyawa lain berdasarkan reaksi enzimatis
4. membran semipermeabel (2): membran yang selektif terhadap produk hasil reaksi antara analit dengan bioreseptor
5. elektrolit: berupa ion dengan konduktivitas tinggi
6. transduser: mengubah gejala fisika kimia yang dihasilkan menjadi suatu sinyal elektrik yang dapat terukur

Biosensor memanfaatkan molekul-molekul yang terdapat pada makhluk hidup (biomolekul) untuk dapat merespon analit. Beberapa contoh biomolekul yang dapat digunakan yaitu enzim, imuno agen seperti antibodi dan antigen, asam nukleat, sel tunggal serta jaringan mikroba (Dedy, 2000). Biomolekul disebut juga sebagai bioreseptor. Bioreseptor ini dapat bereaksi dengan analit secara selektif. Interaksi khusus antara analit dengan bioreseptor menghasilkan suatu perubahan fisika kimia, yang dapat dideteksi oleh transduser (Hitt, 2005). Menurut Pijanowska and Torbicz (2000), molekul biologi yang dapat digunakan sebagai bioreseptor dapat digolongkan menjadi 4 golongan utama, yaitu sel bakteri, jaringan organisme tingkat tinggi, antibodi dan enzim.

Enzim merupakan bioreseptor yang paling luas penggunaannya. Keuntungan dari penggunaan bioreseptor enzim terletak pada selektivitas dan sensitivitasnya. Beberapa contoh enzim dan analit yang dapat dideteksi ditunjukkan pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Bioreseptor enzim dan analit yang dapat dideteksi

<b>Analit</b>	<b>Enzim</b>
Asparagin	Asparginase
Kolesterol	Kolesterol oksidase
Ester	Chymotrypsin
Glukosa	Glukosa Oksidase
Peroksida	Katalase
Lipid	Lipase
Peptida	Tripsin
Sukrosa	Invertase
Urea	Urease



Dalam biosensor, bioreseptor dikemas menjadi satu dengan transduser. Transduser berfungsi untuk mengubah suatu bentuk energi (perubahan fisika kimia) menjadi bentuk energi lain. Sebagai contoh, elektroda gelas mengkonversi perubahan konsentrasi ion  $H^+$  menjadi energi listrik yang berupa beda potensial (Steppen, 2001).

Berdasarkan mekanisme transduser, biosensor dapat dibedakan dalam beberapa jenis yaitu biosensor resonan, biosensor optik, biosensor termal, biosensor ion sensitif FETs (ISFETs) dan biosensor elektrokimia (Chauvan, *et al.*, 2004; Mohanty, 2001). Biosensor elektrokimia merupakan salah satu biosensor yang perkembangannya cukup baik. Sinyal yang terukur oleh biosensor elektrokimia adalah sinyal listrik. Prinsip dasar dari biosensor elektrokimia adalah suatu reaksi kimia yang melibatkan atau menghasilkan suatu ion atau elektron yang akan mengubah sifat elektrik dari larutan. Perubahan tersebut dapat digunakan sebagai parameter pengukuran. Biosensor jenis ini dapat diklasifikasikan menjadi konduktometri, amperometri dan potensiometri.

- a. jenis konduktometri mendeteksi suatu perubahan konduktivitas atau resistansi dari larutan. Tipe ini memiliki sensitivitas yang rendah. Parameter yang digunakan adalah sinusoidal (AC).
- b. jenis amperometri memiliki suatu sensitivitas yang cukup tinggi pada molekul-molekul biokimia yang elektroaktif. Parameter yang terukur pada biosensor jenis ini adalah arus DC. Persamaan yang digunakan adalah persamaan Cottrell.
- c. jenis potensiometri mengukur suatu perubahan potensial oksidasi atau reduksi dari reaksi elektrokimia. Prinsipnya adalah saat elektroda yang terhubung dengan bioreseptor kontak dengan analit, akan terjadi perubahan potensial. Perubahan potensial ini terjadi karena adanya reaksi enzimatik yang menyebabkan perubahan aktivitas ion analit. Parameter yang terukur adalah potensial sel larutan dan persamaan yang digunakan adalah persamaan Nernst.

## 2.2. Biosensor Potensiometri Urea

Biosensor urea dengan transduser tipe potensiometri disusun menggunakan elektroda gelas. Elektroda gelas berfungsi untuk mendeteksi perubahan aktivitas ion  $H^+$  yang disebabkan reaksi hidrolisis urea. Reaksi hidrolisis urea akan menghasilkan ion  $NH_4^+$ . Ion  $NH_4^+$  dalam air akan menghasilkan  $NH_3$  dan  $H_3O^+$  yang

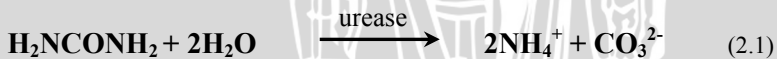
menyebabkan perubahan pH larutan. Perubahan pH larutan merupakan fungsi dari potensial, sehingga, biosensor urea akan mengukur potensial sel larutan sebagai fungsi dari konsentrasi urea.

Urease hasil isolasi dari bakteri dan jamur mempunyai pH optimum berkisar antara 2 sampai 9 (Lubbers, *et al.*, 1995). Fishbein and Carbone (1995), menyatakan bahwa urease mempunyai pH optimum pada pH 7,4. Berdasarkan Srivastava, *et al* (2001), aktivitas urease amobil maksimum pada pH 8,5 dan temperatur 60°C. Penelitian Handari (2006), mendapatkan aktivitas urease maksimum pada pH 8 dan temperatur 60°C. Sedangkan penelitian Sachs, *et al* (2005), mendapatkan aktivitas urease pada rentang pH 3 hingga 9 yang ditunjukkan pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2.** Aktivitas urease pada T=60°C

pH	Unit Aktivitas ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$ )
3	0,15
4	0,16
5	0,20
6	1,15
7	2,50
8	2,76
9	1,85

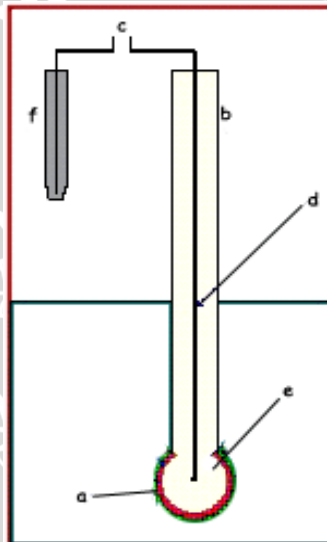
Urease mengkatalisis reaksi hidrolisis urea membentuk ion  $\text{NH}_4^+$ . Ion  $\text{NH}_4^+$  dalam air akan terdisosiasi membentuk  $\text{NH}_3$ , dan pada pH lebih rendah daripada 9,24 jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  dalam larutan cukup besar. Reaksi hidrolisis urea dituliskan pada persamaan (2.1).



Biosensor potensiometri urea yang telah dikembangkan ditunjukkan pada Gambar 2.2 (Chaplin, 2004). Bagian dari biosensor potensiometri urea:

- bioresseptor (biomolekul amobil): berupa urease amobil yang secara spesifik mengubah urea menjadi ion  $\text{NH}_4^+$
- elektroda gelas: elektroda yang terhubung dengan membran gelas, dan berisi elektroda pembanding internal
- pH meter: menunjukkan potensial sel yang terukur

- d. elektroda pembanding internal: elektroda pembanding yang dapat mengukur perubahan potensial membran, karena adanya perubahan konsentrasi  $H^+$  di permukaan membran gelas
- e. larutan asam: larutan dengan nilai aktivitas ion  $H^+$  besar dan tetap
- f. elektroda pembanding eksternal: elektroda yang dapat mengukur perbedaan potensial antara elektroda pembanding internal dengan membran gelas

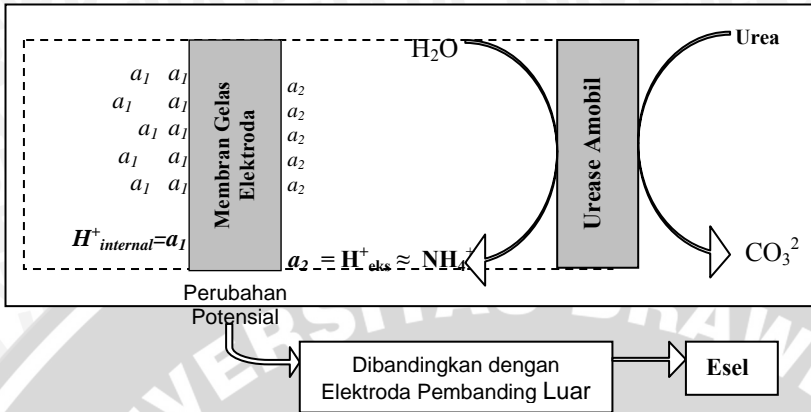


**Gambar 2.2.** Biosensor potensiometri urea

Elektroda gelas terdiri dari katoda dan anoda, katoda merupakan elektroda indikator dan anoda merupakan elektroda pembanding luar. Potensial sel pada elektroda gelas dapat dituliskan sebagai persamaan (2.2):

$$E_{\text{sel}} = K + 0,0592 \log [H_3O^+] \quad (2.2)$$

Mekanisme deteksi urea oleh biosensor urea digambarkan pada Gambar 2.3 (Modifikasi dari Castillo, *et al.*, 2004).



Keterangan:  $a_1$  = Aktivitas ion  $\text{H}^+$  internal elektroda gelas (tetap)  
 $a_2$  = Aktivitas ion  $\text{H}^+$  eksternal setelah dihasilkan ion  $\text{NH}_4^+$  hasil reaksi urea dengan urease  
 ----- = Sistem biosensor urea

**Gambar 2.3.** Mekanisme deteksi urea oleh biosensor urea

Berdasarkan Gambar 2.3, urease mempercepat reaksi hidrolisis urea menjadi ion  $\text{NH}_4^+$  dan ion  $\text{CO}_3^{2-}$ . Ion  $\text{NH}_4^+$  hasil reaksi memiliki aktivitas sebanding dengan konsentrasi urea dalam air yang akan terdisosiasi membentuk  $\text{NH}_3$ , reaksi ditunjukkan pada persamaan (2.3). Reaksi disosiasi  $\text{NH}_4^+$  mengubah aktivitas ion  $\text{H}^+$  pada permukaan elektroda gelas ( $a_2$ ). Perubahan aktivitas ion  $\text{H}^+$  di permukaan elektroda dapat direspon oleh membran gelas yang menyebabkan perubahan potensial membran, berdasarkan perubahan aktivitas ion diluar elektroda ( $a_2$ ) dibandingkan dengan aktivitas ion di dalam elektroda ( $a_1$ ). Perubahan potensial membran tidak dapat diukur secara mutlak. Oleh karena itu, diperlukan elektroda pembanding untuk mengukur perubahan potensial larutan yang dicatat sebagai Esel biosensor urea.

Mengacu pada persamaan (2.1), ion  $\text{NH}_4^+$  yang dihasilkan dalam air akan terdisosiasi membentuk  $\text{NH}_3$ . Reaksi ditunjukkan oleh persamaan (2.3).



Hubungan antara potensial sel dengan konsentrasi urea pada biosensor urea dapat diturunkan dari persamaan (2.2). Berdasarkan reaksi pada persamaan (2.3), didapatkan:

$$K_a \text{NH}_4^+ = \frac{K_w}{K_{b\text{NH}_4^+}} = \frac{[\text{NH}_3][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{NH}_4^+]} \quad (2.4)$$

Dari persamaan (2.3) juga didapatkan bahwa  $[\text{NH}_3] \approx [\text{H}_3\text{O}^+]$ , sehingga diperoleh nilai  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  sebagai berikut:

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = \sqrt{\frac{[\text{NH}_4^+] K_w}{K_{b\text{NH}_4^+}}} \quad (2.5)$$

Persamaan (2.5) disubstitusikan pada persamaan (2.2):

$$E_{\text{sel}} = K + 0,0592 \log \sqrt{\frac{[\text{NH}_4^+] K_w}{K_{b\text{NH}_4^+}}} \quad (2.6)$$

Berdasarkan persamaan (2.1), didapatkan  $[\text{NH}_4^+] = 2[\text{Urea}]$ , sehingga akan diperoleh persamaan potensial sel sebagai fungsi konsentrasi urea, yaitu:

$$E_{\text{sel}} = \underbrace{K + 0,0592 \log (2K_w)^{1/2} - 0,0592 \log (K_b)^{1/2}}_{\text{Konstanta}' (K')} + 0,0592 \log [\text{Urea}]^{1/2}$$

$$E_{\text{sel}} = K' - 0,0296 \text{ pUrea} \quad (2.7)$$

Berdasarkan persamaan (2.7) diketahui bahwa makin besar konsentrasi urea dalam larutan maka akan memberikan perubahan potensial sel ( $E_{\text{sel}}$ ) yang makin besar pula.

### 2.3. Kinerja Biosensor

Kinerja biosensor dipengaruhi oleh kondisi larutan, diantaranya adalah temperatur dan pH. Kondisi larutan ini perlu dipelajari untuk dapat merancang biosensor yang ideal (Eggins, 1997). Kinerja biosensor ini ditentukan melalui beberapa parameter antara lain: kisaran konsentrasi, batas deteksi, kepekaan, waktu



respon dan efisiensi biosensor. Kinerja biosensor berkaitan erat dengan kinerja enzim. Kinerja enzim dipengaruhi oleh temperatur dan pH, sehingga enzim memiliki temperatur dan pH optimum (Andreescu and Sadik, 2004). Range pH optimum enzim sangat spesifik, maka dari itu diperlukan suatu buffer yang efektif dalam menjaga pH larutan (Evans, 2000).

Biosensor urea menggunakan elektroda gelas. Membran gelas memiliki tingkat selektifitas tertentu terhadap beberapa ion. Ion-ion alkali dalam larutan dapat mengurangi selektifitas sehingga mengganggu pengukuran. Prosedur untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan melakukan kalibrasi terlebih dahulu pada biosensor urea. Kalibrasi dilakukan dengan mengukur potensial larutan buffer yang digunakan hingga diperoleh nilai yang tetap. Sehingga dalam mempelajari karakteristik biosensor, digunakan selisih potensial sel ( $\Delta E_{sel}$ ). Selisih tersebut diperoleh dari nilai potensial sel yang terukur dengan potensial sel hasil kalibrasi (Evans, 2000).

Kinerja biosensor urea dapat dilihat dari kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksinya. Kisaran konsentrasi pengukuran adalah rentang konsentrasi yang memberikan nilai  $\Delta E_{sel}$  yang sesuai dengan konsentrasi analit. Kisaran konsentrasi pengukuran dapat diketahui dengan membuat grafik hubungan antara  $-\log [\text{urea}]$  terhadap  $\Delta E_{sel}$ . Biosensor yang baik diharapkan memiliki kisaran konsentrasi pengukuran yang lebar. Dari kisaran konsentrasi pengukuran biosensor dapat juga diketahui batas deteksi biosensor. Batas deteksi menunjukkan batas konsentrasi terendah yang dapat direspon oleh biosensor. Menurut Evans (2000), batas konsentrasi urea terendah yang dapat dideteksi biosensor urea adalah  $10^{-4}M$ . Tingkat keasaman larutan akan sangat berpengaruh pada kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksi biosensor. Pada pH optimum urease, aktivitas enzim akan maksimum. Hal ini menyebabkan jumlah ion  $NH_4^+$  yang dihasilkan setara secara kuantitatif dengan konsentrasi urea sehingga perubahan  $\Delta E_{sel}$  setara dengan konsentrasi urea.

Kepekaan biosensor terhadap urea ditunjukkan oleh kemiringan dari grafik hubungan antara  $\Delta E_{sel}$  dengan  $-\log [\text{Urea}]$ . Suatu biosensor yang ideal diharapkan memiliki kemiringan yang besar (Turner, *et al.*, 1987). Kemiringan grafik ini berkaitan dengan  $\Delta E_{sel}$ . Makin besar  $\Delta E_{sel}$  maka makin besar kemiringan grafik tersebut.



Kinerja biosensor juga dapat diketahui dari parameter waktu. Beberapa parameter waktu tersebut antara lain waktu respon dan *working lifetime*. Waktu respon didefinisikan sebagai lamanya waktu yang diperlukan biosensor untuk mendeteksi analit hingga didapatkan sinyal terukur. Proses respon biosensor dalam melakukan suatu pengukuran tidak terjadi secara langsung. Tahapan yang dilalui hingga didapatkan sinyal *output* meliputi proses difusi substrat melalui membran, reaksi dalam bioreseptor, pendeteksian oleh transduser dan pengenalan sinyal *output*. Semua tahapan tersebut memerlukan waktu tertentu. Berdasarkan penelitian John and Bjorn (1987); Evans (2000), didapatkan bahwa biosensor memiliki waktu respon berkisar antara 30 detik sampai 2 menit. Waktu respon biosensor akan lebih cepat jika pengukuran dilakukan pada pH optimum biosensor, karena aktivitas enzim maksimum.

Parameter waktu yang lain yaitu *working lifetime*, yang menunjukkan masa penggunaan biosensor sebagai sensor. Parameter ini berkaitan dengan stabilitas bioreseptor dan banyaknya pengukuran yang dilakukan. *Working lifetime* dapat dikaji sebagai efisiensi biosensor dengan cara melihat stabilitas biosensor tersebut pada pengukuran berulang kali (Eggins, 1997).

Kinerja biosensor urea secara umum berhubungan dengan pH larutan karena kemampuan urease untuk mengubah urea menjadi  $\text{NH}_4^+$  sangat dipengaruhi pH. Aktivitas urease maksimum pada pH=8 dan ion  $\text{NH}_4^+$  akan membentuk  $\text{NH}_3$  pada pH>9,24. Hidrolisis urea yang tidak sempurna mengakibatkan jumlah  $\text{NH}_4^+$  tidak ekuivalen dengan konsentrasi urea. Dengan demikian, Esel yang dihasilkan tidak menunjukkan konsentrasi urea yang sebenarnya karena elektroda gelas tidak mampu mendeteksi perubahan jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  dan menyebabkan kinerja biosensor urea menurun. Berdasarkan persamaan 2.7, harga Esel dengan jumlah urea memiliki hubungan linier dengan kemiringan 29,6 mV/dekade. Hal tersebut merupakan dasar karakterisasi biosensor urea hasil perancangan yang dilakukan berdasar pada pengaruh pH larutan analit.

#### **2.4. Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan teoritis, biosensor urea dapat disusun dari urease amobil yang dilapiskan pada elektroda gelas. Kinerja biosensor urea pada pH 3 hingga 9 dipengaruhi oleh pH larutan.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, selama lima bulan, dimulai bulan Mei sampai dengan bulan September 2006.

#### **3.2. Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam fosfat 85% (E-Merck), natrium hidroksida (E-Merck), gelatin 3%, gluteraldehid 1%, urease hasil isolasi dari *Schizosaccharomyces pombe*, urea (E-Merck) dan akuades. Semua bahan tersebut mempunyai derajat kemurnian pro analisis (p.a).

##### **3.2.2. Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah elektroda gelas merek Scott Gerate, pH meter merek Scott Gerate Model CG 820, tabung kaca/plastik diameter 2,5cm, serta peralatan gelas lain.

#### **3.3. Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, meliputi :

1. Pembuatan larutan buffer fosfat
2. Pembuatan larutan urea
3. Perancangan biosensor
4. Pengaruh pH larutan terhadap kinerja biosensor
5. Pengolahan data

#### **3.4. Cara Kerja Penelitian**

##### **3.4.1. Pembuatan Larutan Buffer Fosfat**

Larutan buffer fosfat dibuat dengan mencampurkan asam fosfat dengan natrium hidroksida dalam komposisi yang sesuai sehingga diperoleh pH yang diinginkan. Langkah-langkah pembuatan buffer fosfat adalah sebagai berikut, disiapkan 16 mL

larutan asam fosfat 1M dalam gelas kimia 500 mL, diukur pH larutan. Ditambahkan akuades sampai volume larutan  $\pm 250$  mL, kemudian untuk mendapatkan larutan dengan pH=3, ditambah dengan 14 mL NaOH 1M. Selanjutnya, dilakukan pengontrolan pH dengan menambahkan asam atau basa. Dengan cara yang sama, dibuat variasi pH 4,5,6,7,8,9. Perbandingan komposisi volume asam fosfat 1M dan NaOH 1M, disajikan dalam Lampiran 4.6.

### 3.4.2. Pembuatan Larutan Urea

Larutan urea disiapkan dengan langkah-langkah sebagai berikut, ditimbang urea 12 gram, kemudian dilarutkan secara kuantitatif dengan akuades dalam gelas kimia 50 mL. Setelah itu dipindahkan secara kuantitatif dalam labu ukur 100 mL. Dilakukan pengenceran sampai tanda batas lalu dikocok hingga homogen. Didapatkan larutan urea 2M.

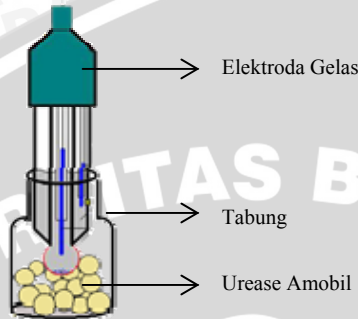
Untuk pembuatan larutan urea 1M, dari larutan urea 2M diambil 12,5 mL secara kuantitatif dan diencerkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 25 mL.

Untuk pembuatan larutan urea  $10^{-1}$ M, dari larutan urea 1M diambil 2,5 mL secara kuantitatif dan diencerkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 25 mL. Dengan cara yang sama dilakukan untuk memperoleh larutan urea  $10^{-2}$ M;  $10^{-3}$ M;  $10^{-4}$ M;  $10^{-5}$ M;  $10^{-6}$ M. Kisaran pH buffer fosfat yang digunakan dari pH 3 hingga 9.

### 3.4.3. Perancangan Biosensor Urea

Biosensor urea disusun dengan melapisi permukaan elektroda gelas menggunakan urease amobil. Urease amobil dibuat berdasarkan Srivastava, *et al* (2001) yang disajikan pada Lampiran 3. Tahapan dalam perancangan biosensor urea dijelaskan sebagai berikut, ditimbang urease amobil sebanyak 2 gram. Kemudian dimasukkan dalam tabung kaca/plastik berdiameter 2,5 cm, di mana bagian atas tabung terbuka dan bagian dasar tabung tertutup dengan kain. Kemudian ujung elektroda gelas dimasukkan dalam tabung tersebut. Setelah itu tabung dialisis direkatkan/disambungkan dengan elektroda gelas.

Biosensor potensimetri urea dapat digambarkan sebagai berikut (Modifikasi dari Chaplin, 2004):



**Gambar 3.1.** Perancangan biosensor potensimetri urea

Langkah selanjutnya yaitu, disiapkan buffer fosfat pH tertentu. Biosensor urea dicelupkan ke dalam buffer fosfat tersebut kemudian potensial sel diukur. Kalibrasi biosensor urea dilakukan dengan mengukur potensial larutan buffer hingga diperoleh nilai potensial sel yang konstan. Setelah itu biosensor urea siap digunakan pada pH yang sama dengan pH larutan buffer fosfat saat kalibrasi. Kisaran pH buffer fosfat yang digunakan yaitu pH 3 hingga pH 9. Setiap akan dilakukan pengukuran dengan pH tertentu harus dilakukan suatu kalibrasi dengan larutan buffer fosfat pada pH yang sesuai. Perubahan potensial sel ( $\Delta E_{sel}$ ) diperoleh dari selisih antara potensial larutan urea dengan potensial sel larutan buffer yang digunakan.

#### 3.4.4. Pengaruh pH Larutan Terhadap Kinerja Biosensor

Dalam mempelajari pengaruh pH terhadap kinerja biosensor urea, dilakukan pengukuran potensial sel larutan urea  $10^{-6}M$  hingga  $1M$  pada kisaran pH 3 hingga 9 dengan interval 1. Pada setiap pH, dilakukan pengukuran pada temperatur ruang dan temperatur  $60^{\circ}C$ . Diukur potensial sel larutan urea pada kisaran pH yang dipelajari. Pengukuran tiap pH dilakukan dengan biosensor urea yang telah dikalibrasi pada pH yang sesuai. Dari data pengukuran setiap pH, dibuat grafik hubungan antara  $-\log [\text{urea}]$  dengan  $\Delta E_{sel}$ . Dari grafik tersebut ditentukan kisaran konsentrasi pengukuran, batas deteksi dan kepekaan biosensor urea .



### **3.5. Pengolahan Data**

#### **3.5.1. Penentuan Kepekaan Biosensor Urea**

Kepekaan biosensor urea ditunjukkan oleh bilangan Nernst. Bilangan Nernst ini diperoleh dari slope grafik hubungan antara  $\Delta E_{sel}$  dengan  $-\log [\text{urea}]$  pada kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea. Pada kisaran konsentrasi tersebut dibuat persamaan linier  $y = a + bx$ . Kepekaan biosensor ditunjukkan oleh nilai  $b$ . Secara teoritis, nilai  $b$  untuk biosensor urea sebesar 29,6 mV/dekade. Apabila bilangan Nernst hasil pengukuran mendekati atau sama dengan 29,6 mV/dekade, maka dapat dikatakan bahwa biosensor urea mempunyai kepekaan yang tinggi.

#### **3.5.2. Penentuan Batas Deteksi dan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Biosensor Urea**

Batas deteksi dan kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea ditentukan berdasar pada grafik hubungan antara  $\Delta E_{sel}$  dengan  $-\log [\text{urea}]$ . Dari grafik tersebut, akan diketahui daerah yang menunjukkan hubungan  $\Delta E_{sel}$  dan  $-\log [\text{urea}]$  yang sesuai dengan persamaan (2.8). Rentang konsentrasi urea pada daerah ini, menunjukkan kisaran konsentrasi urea yang masih dapat dideteksi oleh biosensor urea secara kuantitatif.

Penentuan batas deteksi dapat dilakukan dengan membuat garis singgung pada daerah kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea dan daerah di bawah kisaran konsentrasinya. Titik potong dari kedua garis singgung tersebut menunjukkan batas deteksi biosensor. Nilai batas deteksi diperoleh dari ekstrapolasi titik potong garis singgung pada sumbu  $x$ .

#### **3.5.3. Penentuan Waktu Respon Biosensor Urea**

Penentuan waktu respon dilakukan dengan membuat grafik hubungan antara waktu dan potensial sel larutan urea. Grafik tersebut diperoleh dari hasil pengukuran potensial sel larutan urea pada kisaran konsentrasi  $10^{-3}\text{M}$  -  $1\text{M}$ . Pengukuran dilakukan pada kondisi optimum biosensor urea. Dari hasil penelitian ini kondisi optimum biosensor urea terdapat pada  $\text{pH}=8$  dan temperatur  $60^{\circ}\text{C}$ .

Pada saat melakukan pengukuran potensial sel, dicatat harga potensial sel larutan urea setiap 5 detik. Pencatatan dilakukan selama

180 detik. Kemudian, dibuat grafik hubungan antara potensial sel larutan urea terhadap waktu. Dari grafik tersebut, dapat ditentukan waktu respon biosensor urea. Waktu respon ini ditunjukkan oleh waktu di mana potensial sel larutan urea mulai memberikan harga potensial yang relatif tetap.

#### **3.5.4. Penentuan Efisiensi Biosensor Urea**

Efisiensi biosensor urea ditentukan dengan melakukan pengukuran potensial sel larutan urea pada konsentrasi tetap secara berulang-ulang. Pengukuran dilakukan pada kondisi optimum biosensor urea. Dari hasil penelitian ini kondisi optimum biosensor urea terdapat pada pH=8 dan temperatur 60°C. Kisaran konsentrasi urea yang digunakan adalah  $10^{-3}$ M hingga 1M. Pada setiap konsentrasi, pengukuran potensial sel dilakukan sebanyak 50 kali. Selanjutnya, dibuat grafik hubungan antara pengulangan dengan potensial sel larutan urea. Biosensor urea yang ideal diharapkan memberikan harga potensial sel yang tetap hingga 50 kali pengukuran.





## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Pembuatan Biosensor Urea

Biosensor urea tersusun dari elektroda gelas yang dilapisi dengan urease amobil. Urease amobil dibuat dengan menggunakan gelatin sebagai pendukung berdasarkan penelitian Srivastava, *et al* (2001) yang disajikan pada Lampiran 3. Potensial sel hasil pengukuran larutan urea pada konsentrasi  $10^{-6}$ M hingga 1M menggunakan biosensor urea hasil perancangan pada kisaran pH 3 hingga 9 disajikan pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2.

**Tabel 4.1.** Data  $\Delta$ Esel biosensor urea pada temperatur ruang

[urea] (M)	$\Delta$ Esel (mV)						
	pH=3	pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9
1	67	60	46	59	15	27	9
$10^{-1}$	52	49	36	43	11	23	9
$10^{-2}$	47	42	19	35	10	24	9
$10^{-3}$	44	40	16	25	10	23	8
$10^{-4}$	44	36	13	21	9	22	7
$10^{-5}$	42	36	13	20	9	22	7
$10^{-6}$	34	35	13	18	9	22	6

**Tabel 4.2.** Data  $\Delta$ Esel biosensor urea pada temperatur 60°C

[urea] (M)	$\Delta$ Esel (mV)						
	pH=3	pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9
1	67	62	46	86	52	126	84
$10^{-1}$	54	49	37	67	38	95	65
$10^{-2}$	44	42	23	53	20	70	51
$10^{-3}$	36	22	2	39	20	42	30
$10^{-4}$	34	23	1	21	10	38	28
$10^{-5}$	25	25	-2	20	9	21	24
$10^{-6}$	24	26	-7	20	8	18	11

Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 menunjukkan adanya perbedaan  $\Delta$ Esel untuk konsentrasi urea yang berbeda dalam rentang antara  $10^{-3}$  M hingga 1M, baik pada temperatur ruang maupun temperatur 60°C. Potensial sel yang dihasilkan pada temperatur ruang lebih kecil daripada potensial sel pada temperatur 60°C, karena aktivitas

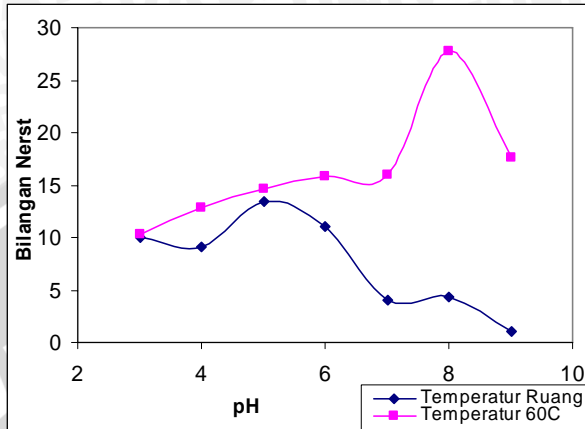
maksimum urease dicapai pada temperatur 60°C (Handari, 2006). Pada kondisi tersebut, urease bekerja secara maksimal, sehingga potensial sel yang dihasilkan pada rentang pH 3 hingga 9 sesuai dengan aktivitas urease pada pH tersebut.

Pada tabel 4.2, diketahui bahwa perbedaan potensial sel pada setiap konsentrasi urea menunjukkan harga bilangan Nernst. Misalnya pada pH=3, beda potensial sel untuk  $[\text{urea}] = 1\text{M}$  dengan  $[\text{urea}] = 10^{-1}\text{M}$  sebesar 13 mV, untuk  $[\text{urea}] = 10^{-1}\text{M}$  dengan  $[\text{urea}] = 10^{-2}\text{M}$  sebesar 10 mV dan untuk  $[\text{urea}] = 10^{-2}\text{M}$  dengan  $[\text{urea}] = 10^{-3}\text{M}$  sebesar 8 mV. Hasil tersebut menunjukkan perkiraan harga bilangan Nernst pada pH=3 berkisar antara 8 hingga 13 mV/dekade. Kondisi pH lebih besar dari 3 memberikan beda potensial sel yang lebih besar, hal tersebut menunjukkan bahwa pH larutan berpengaruh terhadap harga bilangan Nernst yang merupakan salah satu parameter kinerja biosensor urea. Untuk mengetahui pengaruh pH larutan terhadap kinerja biosensor urea secara keseluruhan, maka dari data pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 dapat ditentukan bilangan Nernst, kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksi.

#### **4.2 Pengaruh pH Larutan Analit Terhadap Kinerja Biosensor Urea**

Penelitian yang dilakukan Handari (2006), mendapatkan aktivitas urease maksimum pada pH=8 dan temperatur 60°C, sesuai dengan penelitian Sachs, *et al* (2005). Ion  $\text{NH}_4^+$  hasil reaksi hidrolisis akan terdisosiasi membentuk  $\text{NH}_3$ , pada pH lebih rendah dari 9,24 ( $\text{pK}_{\text{a}}\text{NH}_4^+$ ) jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  mencapai 90% hingga 99,9%. Berdasarkan hal tersebut, jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  akan lebih dipengaruhi aktivitas urease pada pH di bawah 9,24.

Kepekaan biosensor urea memberikan gambaran tentang kemampuan biosensor urea dalam merespon perubahan konsentrasi yang terdapat dalam larutan. Kepekaan biosensor dinyatakan oleh bilangan Nernst. Secara teoritis, bilangan Nernst biosensor urea pada temperatur ruang sebesar 29,6 mV/dekade, dan pada temperatur 60°C sebesar 33,04 mV/dekade. Kepekaan biosensor urea ditentukan dari harga kemiringan grafik hubungan  $\Delta E_{\text{sel}}$  dengan pUrea pada kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea. Grafik penentuan kepekaan biosensor urea disajikan pada Lampiran 9. Berdasarkan hasil perhitungan pada Lampiran 9, dibuat grafik hubungan pH dengan bilangan Nernst yang ditunjukkan oleh Gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Grafik hubungan antara pH terhadap bilangan Nerst pada temperatur ruang dan temperatur 60°C

Gambar 4.1 menunjukkan adanya pengaruh pH terhadap harga bilangan Nerst. Harga bilangan Nerst pada temperatur ruang lebih kecil daripada harga bilangan Nerst pada temperatur 60°C. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada temperatur ruang biosensor urea tidak layak digunakan sebagai sensor, sehingga pada uraian berikut hanya akan dibahas pengaruh pH pada temperatur 60°C.

Harga bilangan Nerst meningkat dengan adanya peningkatan pH dari 3 hingga 8 dan menurun pada pH=9. Hasil tersebut berkaitan dengan aktivitas urease pada rentang pH 3 hingga 9. Menurut Sachs, *et al* (2005), aktivitas urease amobil meningkat dan mencapai maksimum pada pH=8 sebesar 2,76 unit dan pada pH=9 menurun menjadi 1,85 unit. Pada kondisi optimum urease, reaksi hidrolisis urea berjalan sangat cepat dan menyebabkan jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  yang dihasilkan pada waktu yang sama lebih besar dibanding jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  pada kondisi diluar pH optimum. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa harga bilangan Nerst yang paling mendekati harga bilangan Nerst teoritis dicapai pada pH=8 yang merupakan pH optimum urease.

Bilangan Nerst ditentukan pada daerah kisaran konsentrasi urea yang memiliki hubungan linier antara  $-\log [\text{urea}]$  terhadap  $\Delta E_{\text{sel}}$  yang memenuhi persamaan (2.7). Kisaran konsentrasi tersebut menunjukkan daerah kerja biosensor urea yang secara kuantitatif

dapat digunakan sebagai standar pengukuran. Batas deteksi menunjukkan konsentrasi urea terendah yang masih dapat dideteksi oleh biosensor urea untuk memperoleh data yang kuantitatif. Dengan demikian, kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksi merupakan parameter kinerja biosensor urea yang harus ditentukan. Biosensor urea diharapkan memiliki batas deteksi yang rendah dan kisaran konsentrasi yang lebar.

Berdasarkan grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$ , dapat diketahui batas deteksi dan kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea yang masih memenuhi persamaan (2.7). Hasil perhitungan ditunjukkan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3.** Kisaran konsentrasi pengukuran dan batas deteksi biosensor urea pada  $T=60^{\circ}C$

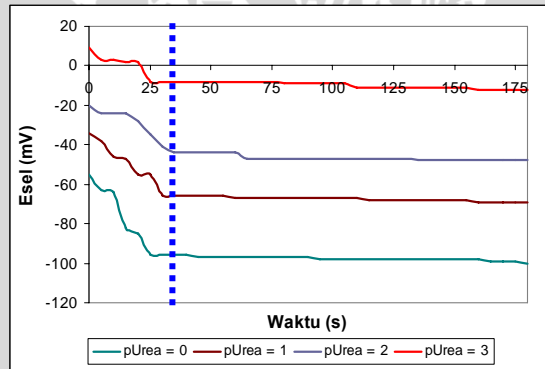
pH	Kisaran Konsentrasi (M)	Batas Deteksi ( $\times 10^{-4}M$ )
3	$1-10^{-3}$	13,95
4	$1-10^{-3}$	6,44
5	$1-10^{-3}$	5,92
6	$1-10^{-4}$	0,89
7	$1-10^{-2}$	87,90
8	$1-10^{-3}$	10,29
9	$1-10^{-3}$	8,56

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa secara umum kisaran konsentrasi pengukuran biosensor urea pada rentang pH 3 hingga 9 berkisar antara  $10^{-3}M$  hingga  $1M$ , kecuali pada  $pH=6$  dan  $pH=7$ . Nilai batas deteksi pada kisaran pH yang dipelajari memberikan nilai yang berbeda. Kisaran konsentrasi pengukuran paling lebar terdapat pada  $pH=6$  yaitu  $10^{-4}M$  hingga  $1M$  dengan batas deteksi pengukuran  $0,89 \cdot 10^{-4}M$ . Akan tetapi, harga bilangan Nernst pada  $pH=6$  jauh dari harga bilangan Nernst ideal yaitu hanya mencapai  $15,8$  mV/dekade. Dari penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa pada kondisi batas deteksi paling rendah dan kisaran konsentrasi pengukuran paling lebar belum tentu dihasilkan harga bilangan Nernst yang mendekati harga ideal.

### 4.3. Penentuan Waktu Respon dan Efisiensi Biosensor Urea

Reaksi hidrolisis urea secara enzimatik merupakan reaksi katalisis yang secara kinetika dipengaruhi oleh waktu dan berkaitan dengan jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  yang dihasilkan dari penguraian urea. Jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  per satuan waktu akan tetap jika telah tercapai kecepatan maksimum. Hal tersebut akan mempengaruhi waktu respon biosensor. Waktu respon biosensor tercapai jika potensial sel yang dihasilkan memberikan harga yang tetap. Pada saat potensial sel biosensor urea yang terbaca tetap, menunjukkan jumlah ion  $\text{NH}_4^+$  yang dihasilkan tiap satuan waktu tetap.

Penentuan waktu respon dilakukan pada  $\text{pH}=8$  dan  $T=60^\circ\text{C}$  karena kemampuan biosensor untuk merespon suatu analit maksimum, sehingga diharapkan waktu yang diperlukan oleh biosensor urea untuk memberikan harga potensial yang tetap akan lebih cepat. Waktu respon ditentukan dengan mengukur potensial sel biosensor urea tiap waktu pada konsentrasi urea  $10^{-3}\text{M}$  hingga  $1\text{M}$  dengan rentang waktu 180 detik. Dari data pengukuran dibuat grafik hubungan antara waktu dan potensial sel yang disajikan pada Gambar 4.2.



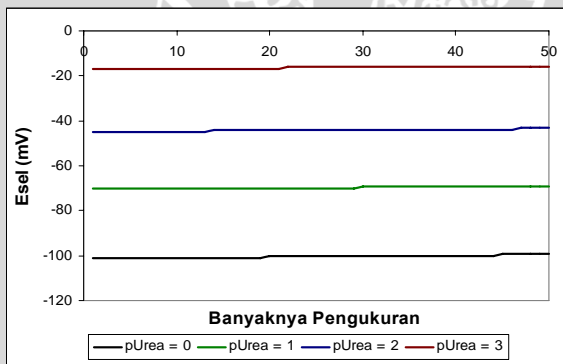
**Gambar 4.2.** Grafik hubungan antara potensial sel biosensor urea dengan waktu pada  $\text{pH}=8$ ;  $T=60^\circ\text{C}$

Dari Gambar 4.2, diketahui bahwa pada waktu pengukuran sebelum 35 detik potensial sel yang terbaca berubah secara signifikan dan urea dengan kisaran konsentrasi  $10^{-3}\text{M}$  hingga  $1\text{M}$  memiliki waktu respon yang sama yaitu 35 detik. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada awal terjadinya reaksi, urease



mengkatalisis hidrolisis urea dalam jumlah yang besar. Kemudian pada saat mencapai kecepatan reaksi maksimum, jumlah urea yang mengalami hidrolisis tiap waktu tetap. Waktu respon biosensor urea dipengaruhi oleh ketebalan lapisan urease amobil, makin tebal lapisan urease amobil pada permukaan elektroda gelas akan memperbesar jarak antara larutan analit dengan permukaan lapisan elektroda gelas, yang menyebabkan waktu respon menjadi makin lambat. Oleh karena itu, diperlukan pengaturan jumlah urease amobil agar memiliki tekstur yang sama pada tiap pengukuran.

Reaksi hidrolisis urea secara enzimatis tidak melibatkan urease secara langsung. Urease hanya mengkatalis reaksi hidrolisis urea dan akan kembali dihasilkan untuk mengkatalisis reaksi kembali. Hal ini menyebabkan biosensor urea hasil perancangan dapat digunakan berulang kali. Kemampuan biosensor urea dalam mengukur berulang kali diketahui dari efisiensi biosensor urea dengan melakukan pengukuran sebanyak 50 kali. Efisiensi biosensor merupakan validitas hasil pengukuran biosensor terhadap jumlah sampel yang diukur. Dari data hasil penelitian dapat dibuat grafik hubungan antara banyaknya pengukuran dengan potensial sel yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.



**Gambar 4.3.** Grafik hubungan antara potensial sel biosensor urea dengan banyaknya pengukuran pada pH=8; T=60°C

Dari Gambar 4.3, diketahui bahwa biosensor urea masih efisien digunakan setelah 50 kali pengukuran. Hal ini ditunjukkan oleh potensial sel biosensor urea yang masih memberikan harga potensial sel relatif tetap. Efisiensi biosensor dipengaruhi oleh



aktivitas dari urease amobil. Penurunan aktivitas urease amobil yang makin besar menyebabkan efisiensi biosensor akan makin rendah yang dapat diatasi dengan proses amobilisasi yang baik. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pada kondisi optimum biosensor urea diperoleh waktu respon 35 detik dengan efisiensi penggunaan biosensor urea lebih dari 50 kali pengukuran.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## BAB V

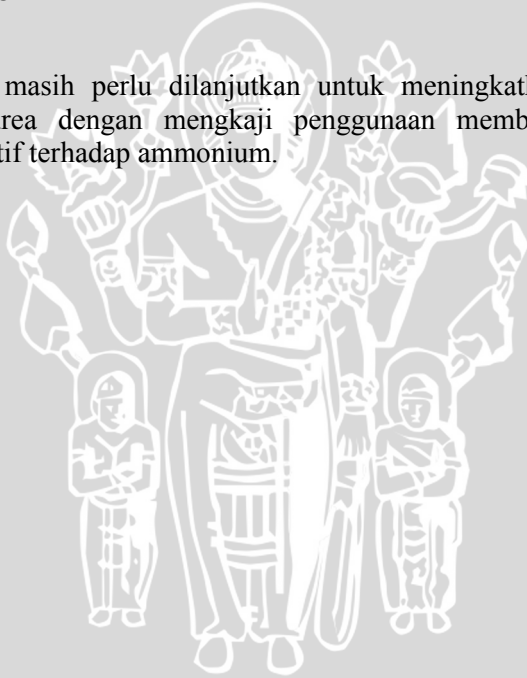
### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Biosensor urea dapat dibuat dengan melapisi elektroda gelas menggunakan urease amobil. Kinerja biosensor urea dipengaruhi oleh pH larutan baik pada temperatur ruang maupun temperatur 60°C. Bilangan Nernst maksimum tercapai pada pH=8 dan temperatur 60°C sebesar 27,7 mV/dekade. Pada kondisi tersebut, diperoleh kisaran konsentrasi pengukuran  $10^{-3}\text{M}$  hingga 1M, batas deteksi  $1,03 \cdot 10^{-3}\text{M}$ , waktu respon 35 detik dan biosensor urea dapat digunakan untuk pengukuran lebih dari 50 kali.

#### 5.2. Saran

Penelitian ini masih perlu dilanjutkan untuk meningkatkan kinerja biosensor urea dengan mengkaji penggunaan membran semipermeabel selektif terhadap ammonium.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adeloju, S., 1999, **Biosensing Technology**, Centre for Electrochemical Research and Analytical Technology, [www.biosens\\_tech.html](http://www.biosens_tech.html), diakses pada tanggal 8 April 2005
- Andreescu, S., and Sadik, O.A., 2004, **Trends and Challenges In Biochemical Sensors For Clinical and Environmental Monitoring**, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 76, No. 4, pp. 861-878
- Anonymous<sup>1</sup>, 2006, **Urea**, [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com), diakses tanggal 20 April 2006
- Anonymous<sup>2</sup>, 2000, **Masalah Hujan Asam: Senyawa Kimia Yang Berkaitan**, <http://www.elektroindonesia.com/elektro/ener34.html>, diakses tanggal 10 Januari 2005
- Anonymous<sup>3</sup>, 2005, **Lecture 16: Biosensors**, [www.bioimage.com](http://www.bioimage.com), diakses tanggal 20 April 2006
- Bennington, J.L., 1984, **Dictionary and Encyclopedia of Laboratory Medicine and Technology**, W.B. Saunders Co., Philadelphia
- Campbell, D., Sullivan, J.C., Edmonds, P., Hartman, N., and Higginbotham, C., 2003, **Biosensor Technology**, Agricultural Technology Research Program, Fiscal Year Annual Report, [www.atrp.gatech.edu](http://www.atrp.gatech.edu), diakses tanggal 28 Juli 2005
- Castillo, J., Gaspar, S., Leth, S., Niculescu, M., Mortari, A., Bontidean, I., Soukharev, V., Dorneanu, S.A., Ryabov, A.D., and Csoregi, E., 2004, **Biosensors for Life Quality Design, Development and Applications**, *Sensors and Actuators B. Chemical*, Vol. 102, pp. 179-194, [www.elsevier.com/locate/snb](http://www.elsevier.com/locate/snb), diakses tanggal 28 Maret 2006
- Chaplin, M., 2004, **Potentiometric Biosensors**, Faculty of Engineering, Science and The Built Environment, South Bank University, London
- Chauvan, S., Rai, V., and Singh, H.B., 2004, **Biosensors**, Resonance Magz, Desember 2004, pp. 33-44

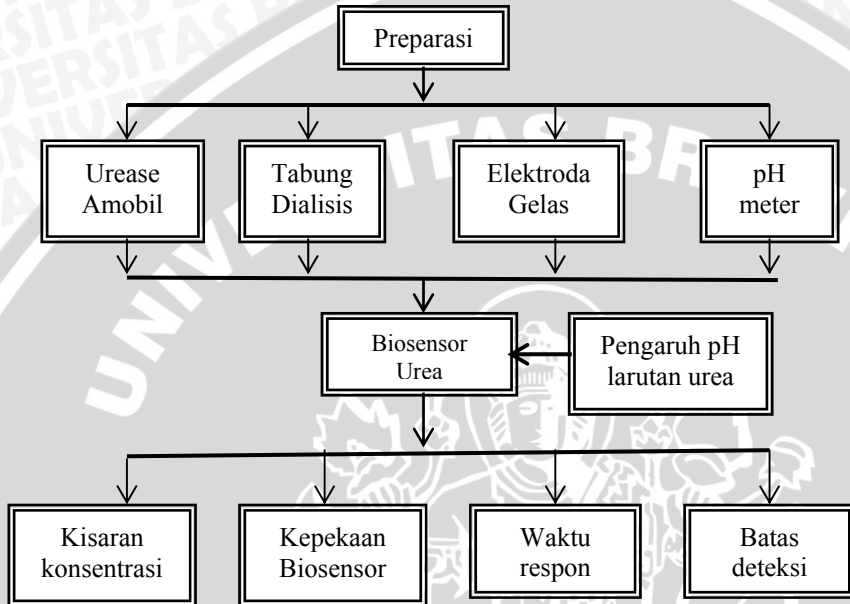
- Chidambaranathan, S., 2005, **All About Urine-Urinalysis**, Chennai Interactive Bussiness Service Ltd., [www.chennaionline.com](http://www.chennaionline.com), diakses tanggal 26 September 2005
- Dedy, H.B.W., 2000, **Mengenal Biosensor (2) Memanfaatkan dan Meniru Makhluk Hidup**, [www.e\\_gagas.com](http://www.e_gagas.com), diakses tanggal 1 Februari 2004
- Eggins, B., 1997, **Biosensor An Introduction**, Mc Graw Hill Book, Singapore
- Evans, A., 2000, **Potentiometry and Ion Selective Electrodes**, John Wiley and Sons, New York, pp. 61-69, 198-209
- Fishbein, W., and Carbone, P., 1995, **Urease Catalysis.II. Inhibition of Enzyme by Hydroxyurea, Hydroxylamine and Acetohydroxamic**, *J.Biol Chem.*, pp. 240, 2407
- Handari, C. D., 2006, **Karakterisasi Urease Amobil dari *Schizosaccharomyces pombe* Dalam Gelatin**, Skripsi Sarjana, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang
- Hitt, E., 2005, **Label-Free, Optical, Acoustic, and Calorimetric Analytical Methods do not Alter the Protein of Interest, but They have Complications of Their Own Diagram of Typical Biosensor Mechanisms**, Drug Discovery Development, [www.dddmag.com](http://www.dddmag.com), diakses pada tanggal 21 Agustus 2005
- John, B., and Bjorn, K., 1987, **Basic Biotechnology**, Academic Press Ltd., London
- Lubbers, M.W., Rodriguez, S.B., Honey, N.K., and Thornton, R.J., 1995, **Purification and Characterization of Urease from *Schizosaccharomyces pombe***, Massey University, New Zeland, pp. 132-139
- Martoharsono, 1984, **Biokimia**, Gajah Mada University Press, Yogyakarta
- Mohanty, S.P., 2001, **Biosensors: A Survey Report**, Dept. Of Comp. Science and Engineering, University of South Flourida, pp. 2-8

- Pijanowska, D.G., and Torbicz, W., 2000, **Biosensors For Bioanalytical Applications**, Bulletin of The Polish Academy Of Sciences, Technical Science, Vol. 53, No. 3, pp. 251-260
- Pijanowska, D.G., Dawgul, M., and Torbich, W., 2005, **Comparison of Urea Determination in Biological Samples by Enfets Based on pH and pNH<sub>4</sub> Detection**, Institute of Biocybernetics and Biomedical Engineering, www.mdpi.net, diakses pada tanggal 14 Agustus 2005
- Rao, G., and Mulchandani, A., 2005, **Biosensor Construction**, www.jaist.ac.jp, diakses pada tanggal 29 April 2005
- Sachs, G., Weeks, D.L., Wen, Y., Marcus, E.A., and Scott, D.R., 2005, **Acid Acclimation by *Helicobacter pylori***, *Physiology* 20; 429-438, physiologyonline.physiology.org, diakses pada tanggal 26 Januari 2007
- Srivastava, P.K., Arvind, M.K., and Srinivasan, 2001, **Characterization of Gelatin-Immobilized Pigeon Pea Urease and Preparation of a New Urea Biosensor**, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 34, 55-62
- Steppen, A.D., 2001, **Survey Of Instrumentation And Measurement**, John Wiley and Sons, New York
- Sudarmadji, 1996, **Teknik Analisa Biokimia**, Penerbit Liberti, Yogyakarta
- Turner, O.G., Karhade, and Chiluveru, S.S., 1987, **Analytical Chemistry: An Open Learning**, Rough Van Peer Co., USA
- Willard, H.H., Lynne, L., Merritt, J., John, A.D., Frank, A., Settle, S., 1994, **Instrumental Methods of Analysis**. 7<sup>th</sup> ed., Wadsworth Publishing Company

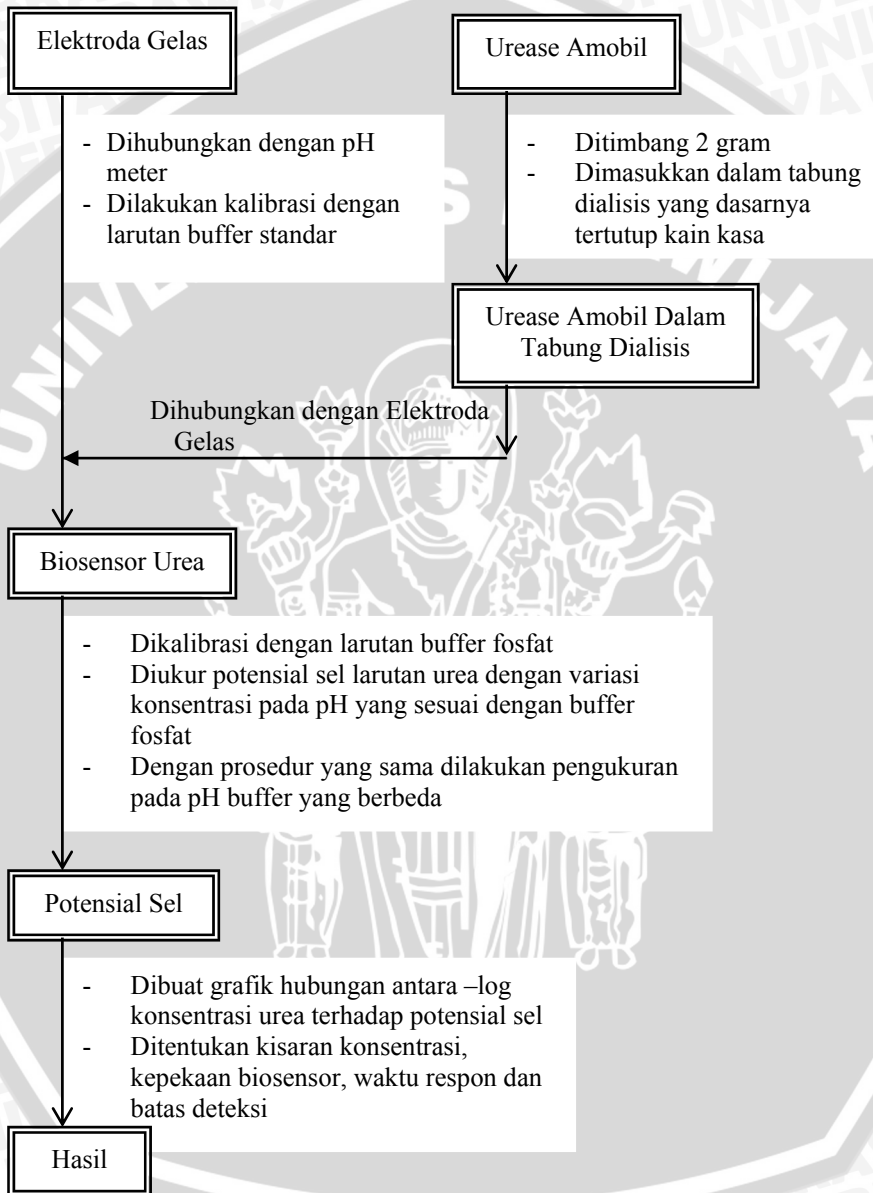


# LAMPIRAN

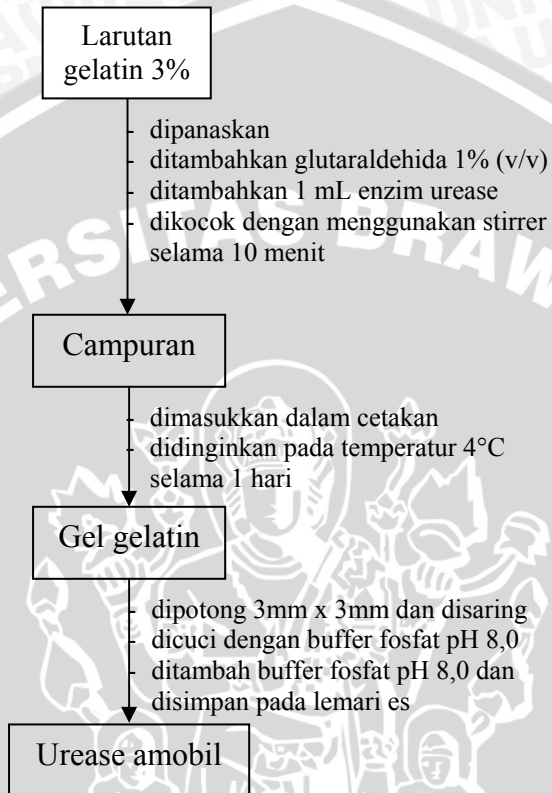
## Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



## Lampiran 2. Skema Kerja Secara Umum



### Lampiran 3. Amobilisasi Enzim Urease Dengan Gelatin



## Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Larutan

### L.4.1. Pembuatan 100 mL larutan Urea 2M

- mol Urea =  $2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 0,2 \text{ mol}$
- massa Urea =  $0,2 \text{ mol} \times 60 \text{ gram/mol} = 12 \text{ gram}$

Jadi berat urea yang ditimbang sebesar 12 gram.

### L.4.2. Perhitungan pembuatan larutan Urea 1M

- Pembuatan 25 mL larutan Urea 1M dari larutan urea 2M

$$\text{Mol Urea} = 25 \text{ mL} \times 1 \text{ mmol/mL}$$

$$\text{V. urea 2M} = 12,5 \text{ mL}$$

Jadi volume larutan urea 2M yang dibutuhkan untuk pembuatan 25 mL larutan Urea 1M sebanyak 12,5 mL.

### L.4.3 Contoh perhitungan pembuatan larutan Urea $10^{-1}\text{M}$ hingga $10^{-6}\text{M}$

- Pembuatan 25 mL larutan Urea 0,1M

$$\text{Mol Urea} = 25 \text{ mL} \times 0,1 \text{ mmol/mL}$$

$$\text{V. urea 2M} = 2,5 \text{ mL}$$

Jadi volume larutan urea 1M yang dibutuhkan untuk pembuatan 25 mL larutan Urea  $10^{-1}\text{M}$  sebanyak 2,5 mL.

### L.4.4. Perhitungan pembuatan larutan NaOH 1M 250 mL

$$\text{mol NaOH} = 1 \text{ mol/L} \times 0,25 \text{ L}$$

$$= 0,25 \text{ mol}$$

$$\text{massa NaOH} = 0,25 \text{ mol} \times 40 \text{ g/mol}$$

$$= 10 \text{ g}$$

Jadi NaOH yang ditimbang sebesar 10 gram.

### L.4.5. Perhitungan pembuatan larutan $\text{H}_3\text{PO}_4$ 1M 250 mL

$$\text{mol H}_3\text{PO}_4 = 1 \text{ mol/L} \times 0,25 \text{ L}$$

$$= 0,25 \text{ mol}$$

$$\text{massa H}_3\text{PO}_4 = 0,25 \text{ mol} \times 97,97 \text{ g/mol}$$

$$= 24,493 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{volume H}_3\text{PO}_4 &= \frac{24,493 \text{ g}}{1,71 \text{ g/mL}} \\ &= 14,32\text{mL} \end{aligned}$$

untuk H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85%, maka volume yang diambil adalah :

$$\begin{aligned} V \text{ H}_3\text{PO}_4 &= 14,32 \text{ mL} \times \frac{100}{85} \\ &= 16,85 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi volume yang dipipet sebanyak 16,85 mL.

#### L.4.6. Perhitungan pembuatan buffer fosfat

Buffer fosfat terdiri dari campuran larutan asam fosfat (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 1M dan natrium hidroksida (NaOH) 1M. Asam fosfat memiliki tetapan disosiasi asam: pK<sub>a1</sub> = 2,15; pK<sub>a2</sub> = 7,20; pK<sub>a3</sub> = 12,35. Variasi pH 3-9 dengan komponen penyusun buffer sebagai berikut:

pH	Asam	Basa Konjugat
3	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
4	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
5	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
6	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
7	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
8	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
9	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

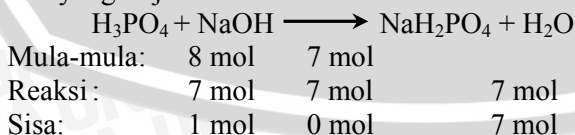
Perhitungan komposisi campuran buffer dihitung berdasarkan persamaan berikut:  $\text{pH} = \text{pKa} + \log \left( \frac{[\text{Basa Konjugat}]}{[\text{Asam}]}\right)$

Contoh perhitungan untuk pH 3 :

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pKa}_1 + \text{Log} \left( \frac{[\text{Basa Konjugat}]}{[\text{Asam}]} \right) \\ \text{Log} \left( \frac{[\text{Basa Konjugat}]}{[\text{Asam}]} \right) &= \text{pH} - \text{pKa}_1 \\ &= 3 - 2,15 = 0,85 \end{aligned}$$

$$\frac{[\text{Basa Konjugat}]}{[\text{Asam}]} = 7,08 \sim 7$$

Reaksi yang terjadi:





Perbandingan jumlah  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dan  $\text{NaOH}$  dicampurkan 8 : 7

Jika  $[\text{H}_3\text{PO}_4] = 1\text{M}$ ;  $[\text{NaOH}] = 1\text{M}$  dan volume total campuran 30 mL, maka volume yang dicampurkan adalah  $\text{H}_3\text{PO}_4 = 16 \text{ mL}$  &  $\text{NaOH} = 14 \text{ mL}$ .

Dengan cara yang sama dapat diketahui komposisi volume pencampuran  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1M dan  $\text{NaOH}$  1M untuk memperoleh variasi pH 4,5,6,7,8,9 yang dapat dilihat pada Tabel berikut:

pH	Volume $\text{H}_3\text{PO}_4$ (mL)	Volume $\text{NaOH}$ (mL)
3	14,0	16,0
4	15,1	14,9
5	14,9	15,1
6	14,6	15,4
7	12,6	17,4
8	10,5	19,5
9	10,0	20,0

## Lampiran 5. Data Potensial Sel

Tabel L.5.1 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=3, temperatur ruang (Esel blanko=218 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	151	151	150	151	67
$10^{-1}$	1	166	166	165	166	52
$10^{-2}$	2	171	170	171	171	47
$10^{-3}$	3	175	174	174	174	44
$10^{-4}$	4	175	174	174	174	44
$10^{-5}$	5	176	176	174	176	42
$10^{-6}$	6	183	185	184	184	34

Tabel L.5.2 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=4, temperatur ruang (Esel blanko=158 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	96	99	98	97,67	60,33
$10^{-1}$	1	107	109	110	108,67	49,33
$10^{-2}$	2	116	116	116	116,00	42,00
$10^{-3}$	3	118	117	119	118,00	40,00
$10^{-4}$	4	120	123	122	121,67	36,33
$10^{-5}$	5	122	122	122	122,00	36,00
$10^{-6}$	6	123	123	123	123,00	35,00

Tabel L.5.3 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=5, temperatur ruang (Esel blanko=109 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	63	63	63	63	46
$10^{-1}$	1	74	73	72	73	36
$10^{-2}$	2	90	91	89	90	19
$10^{-3}$	3	93	93	93	93	16
$10^{-4}$	4	95	96	96	96	13
$10^{-5}$	5	96	96	96	96	13
$10^{-6}$	6	96	97	96	96	13

Tabel L.5.4 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=6, temperatur ruang (Esel blanko=98 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	39	38	39	39	59
$10^{-1}$	1	55	55	55	55	43
$10^{-2}$	2	64	63	62	63	35
$10^{-3}$	3	73	73	72	73	25
$10^{-4}$	4	76	77	77	77	21
$10^{-5}$	5	78	78	78	78	20
$10^{-6}$	6	80	80	80	80	18

Tabel L.5.5 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=7, temperatur ruang (Esel blanko=19 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	4	4	4	4	15
$10^{-1}$	1	8	8	8	8	11
$10^{-2}$	2	9	9	9	9	10
$10^{-3}$	3	9	9	9	9	10
$10^{-4}$	4	10	10	9	10	9
$10^{-5}$	5	10	10	11	10	9
$10^{-6}$	6	10	10	11	10	9

Tabel L.5.6 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=8, temperatur ruang (Esel blanko=-10 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	-37	-39	-36	-37,33	27,33
$10^{-1}$	1	-34	-33	-33	-33,00	23,00
$10^{-2}$	2	-35	-34	-33	-34,00	24,00
$10^{-3}$	3	-33	-32	-33	-33,00	23,00
$10^{-4}$	4	-32	-32	-32	-32,00	22,00
$10^{-5}$	5	-32	-32	-32	-32,00	22,00
$10^{-6}$	6	-31	-32	-32	-32,00	22,00

Tabel L.5.7 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=9, temperatur ruang (Esel blanko=-72 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				ΔEsel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	-81	-82	-81	-81	9
$10^{-1}$	1	-81	-81	-81	-81	9
$10^{-2}$	2	-81	-81	-80	-81	9
$10^{-3}$	3	-80	-80	-80	-80	8
$10^{-4}$	4	-80	-79	-79	-79	7
$10^{-5}$	5	-79	-78	-80	-79	7
$10^{-6}$	6	-80	-78	-78	-78	6

Tabel L.5.8 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=3, T=60°C (Esel blanko=103 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				ΔEsel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	35	36	37	36	67
$10^{-1}$	1	49	49	48	49	54
$10^{-2}$	2	60	59	58	59	44
$10^{-3}$	3	67	67	67	67	36
$10^{-4}$	4	69	69	69	69	34
$10^{-5}$	5	78	78	78	78	25
$10^{-6}$	6	79	79	79	79	24



Tabel L.5.9 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=4, T=60°C (Esel blanko=97 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	36	33	35	34,67	62,33
$10^{-1}$	1	49	48	47	48,00	49,00
$10^{-2}$	2	56	55	54	55,00	42,00
$10^{-3}$	3	75	75	75	75,00	22,00
$10^{-4}$	4	73	74	75	74,00	23,00
$10^{-5}$	5	73	70	71	71,33	25,67
$10^{-6}$	6	70	71	72	71,00	26,00

Tabel L.5.10 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=5, T=60°C (Esel blanko=129 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	83	83	83	83,00	46,00
$10^{-1}$	1	93	92	92	92,00	37,00
$10^{-2}$	2	107	106	106	106,00	23,00
$10^{-3}$	3	127	127	127	127,00	2,00
$10^{-4}$	4	128	128	128	128,00	1,00
$10^{-5}$	5	130	133	132	131,67	-2,67
$10^{-6}$	6	136	136	135	136,00	-7,00

Tabel L.5.11 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=6, T=60°C (Esel blanko=123 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				ΔEsel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	37	37	37	37	86
$10^{-1}$	1	56	56	56	56	67
$10^{-2}$	2	70	70	70	70	53
$10^{-3}$	3	84	84	84	84	39
$10^{-4}$	4	102	102	102	102	21
$10^{-5}$	5	103	103	103	103	20
$10^{-6}$	6	104	103	103	103	20

Tabel L.5.12 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=7, T=60°C (Esel blanko=43 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				ΔEsel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	-9	-9	-9	-9,00	52,00
$10^{-1}$	1	3	4	6	4,33	38,67
$10^{-2}$	2	23	22	24	23,00	20,00
$10^{-3}$	3	24	23	22	23,00	20,00
$10^{-4}$	4	30	36	33	33,00	10,00
$10^{-5}$	5	32	35	34	33,67	9,33
$10^{-6}$	6	35	35	35	35,00	8,00

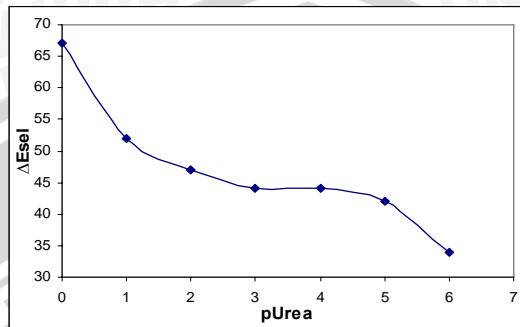
Tabel L.5.13 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=8, T=60°C (Esel blanko=26 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	-101	-99	-100	-100,00	126,00
$10^{-1}$	1	-70	-69	-69	-69,00	95,00
$10^{-2}$	2	-44	-44	-44	-44,00	70,00
$10^{-3}$	3	-16	-16	-17	-16,00	42,00
$10^{-4}$	4	-6	-15	-16	-12,33	38,33
$10^{-5}$	5	6	5	5	5,00	21,00
$10^{-6}$	6	8	9	7	8,00	18,00

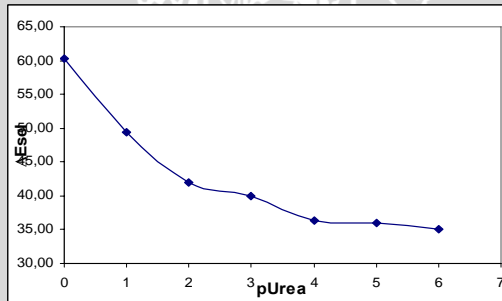
Tabel L.5.14 Data potensial sel untuk berbagai konsentrasi urea ( $10^{-6}$ -1M), menggunakan biosensor urea pada pH=9, T=60°C (Esel blanko= -36 mV)

[urea] (M)	pUrea	Esel (mV)				$\Delta$ Esel (mV)
		1	2	3	Rata-rata	
1	0	-121	-119	-120	-120,00	84,00
$10^{-1}$	1	-100	-99	-104	-101,00	65,00
$10^{-2}$	2	-87	-87	-87	-87,00	51,00
$10^{-3}$	3	-66	-66	-66	-66,00	30,00
$10^{-4}$	4	-66	-65	-63	-64,67	28,67
$10^{-5}$	5	-60	-59	-62	-60,33	24,33
$10^{-6}$	6	-50	-45	-48	-47,67	11,67

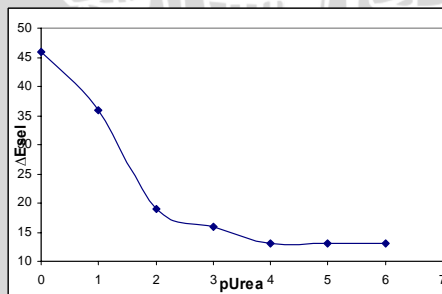
## Lampiran 6. Grafik Hubungan $-\text{Log} [\text{urea}]$ Terhadap $\Delta\text{Esel}$



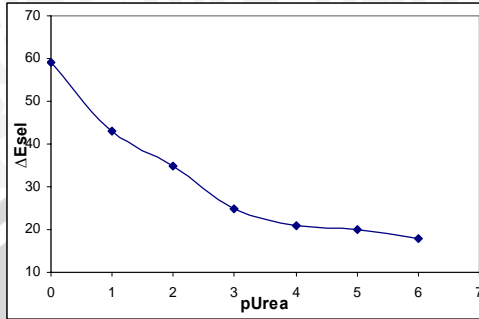
**Gambar L.6.1.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta\text{Esel}$  pada pH = 3; temperatur ruang



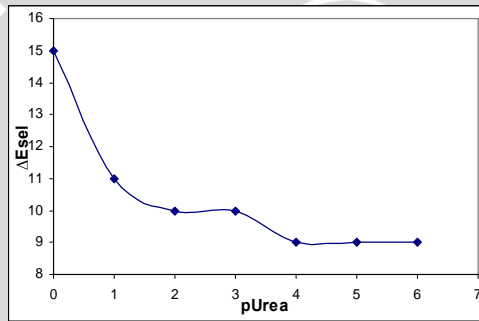
**Gambar L.6.2.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta\text{Esel}$  pada pH = 4; temperatur ruang



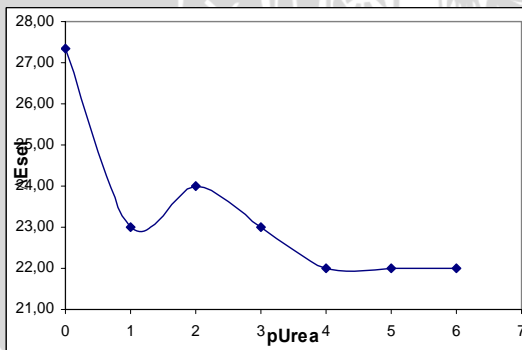
**Gambar L.6.3.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta\text{Esel}$  pada pH = 5; temperatur ruang



**Gambar L.6.4.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 6; temperatur ruang

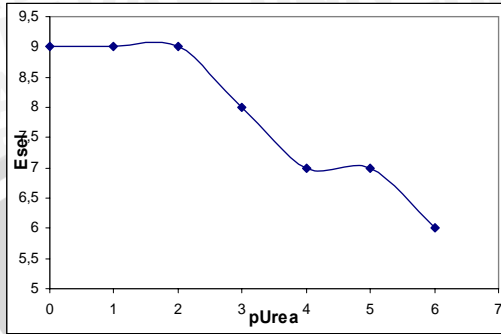


**Gambar L.6.5.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 7; temperatur ruang

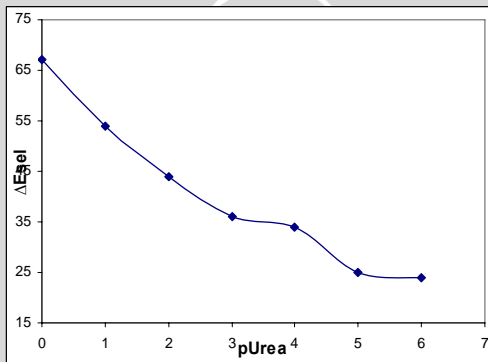


**Gambar L.6.6.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 8; temperatur ruang

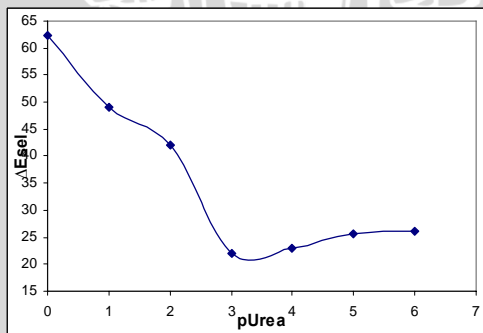




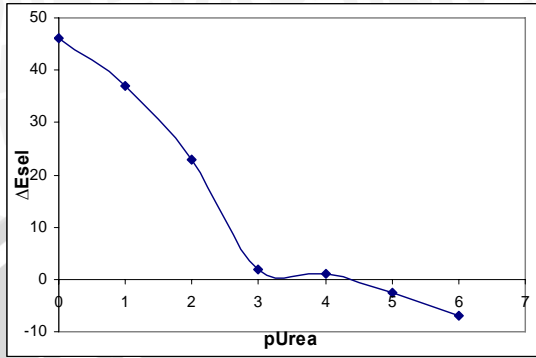
**Gambar L.6.7.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 9; temperatur ruang



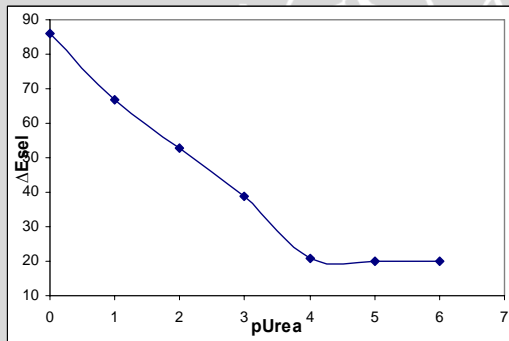
**Gambar L.6.8.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 3; temperatur 60°C



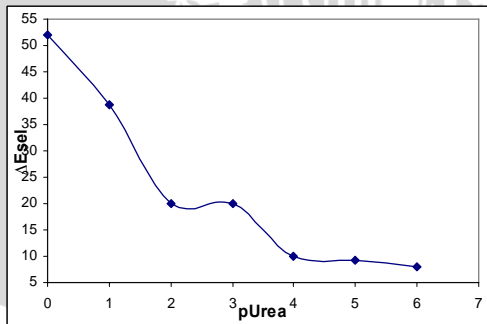
**Gambar L.6.9.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 4; temperatur 60°C



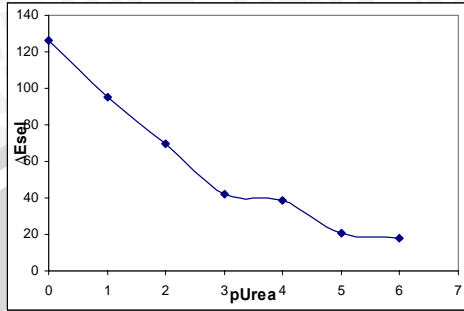
**Gambar L.6.10.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 5; temperatur 60°C



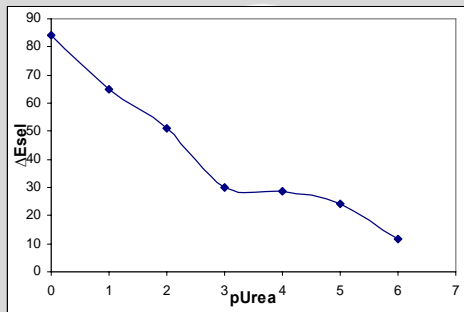
**Gambar L.6.11.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 6; temperatur 60°C



**Gambar L.6.12.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 7; temperatur 60°C

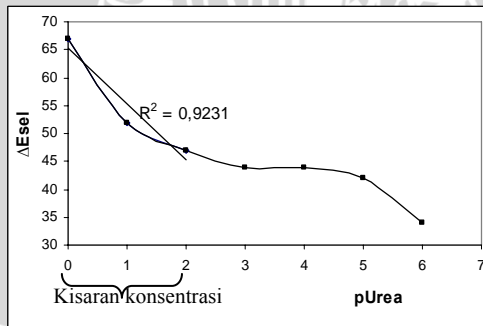


**Gambar L.6.13.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 8; temperatur 60°C

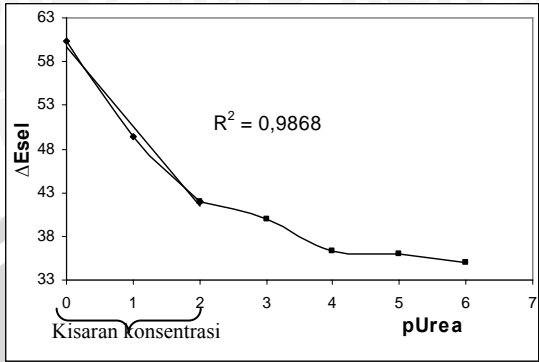


**Gambar L.6.14.** Grafik hubungan antara pUrea dengan  $\Delta E_{sel}$  pada pH = 9; temperatur 60°C

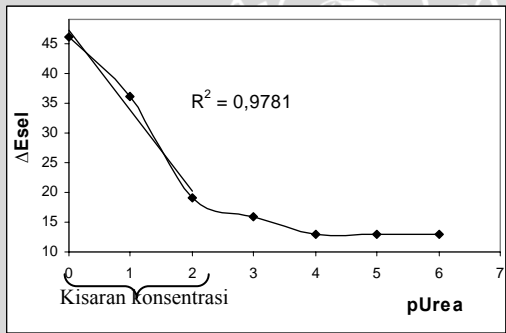
**Lampiran 7. Grafik Penentuan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Biosensor Urea**



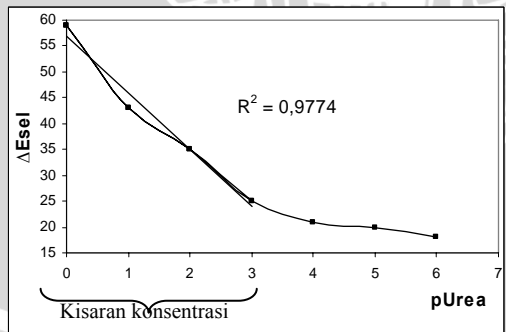
**Gambar L.7.1.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 3; temperatur ruang



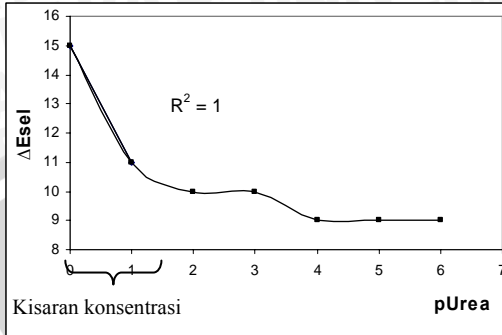
**Gambar L.7.2.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 4; temperatur ruang



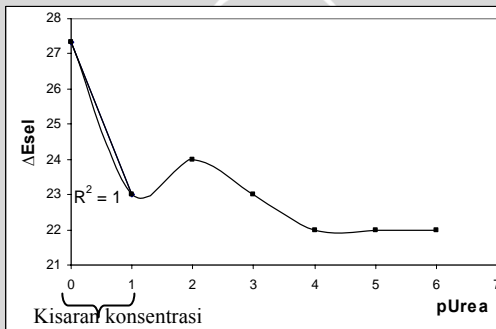
**Gambar L.7.3.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 5; temperatur ruang



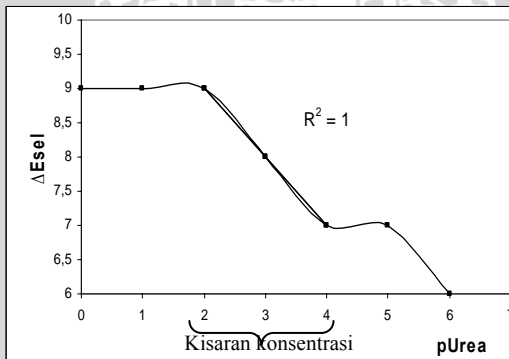
**Gambar L.7.4.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 6; temperatur ruang



**Gambar L.7.5.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 7; temperatur ruang

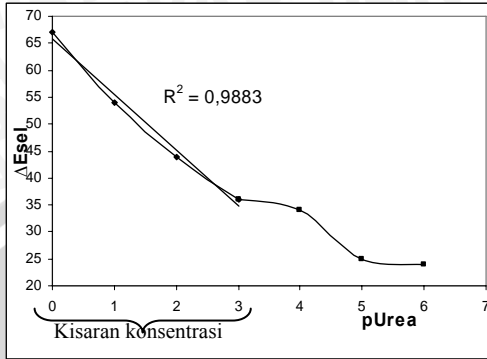


**Gambar L.7.6.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 8; temperatur ruang

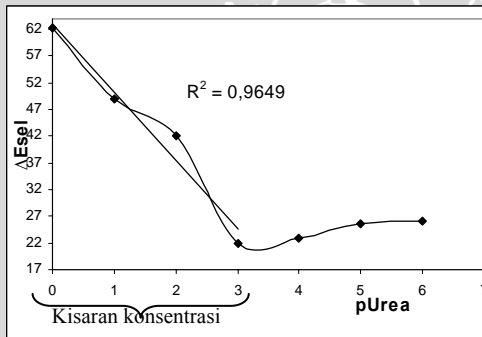


**Gambar L.7.7.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 9; temperatur ruang

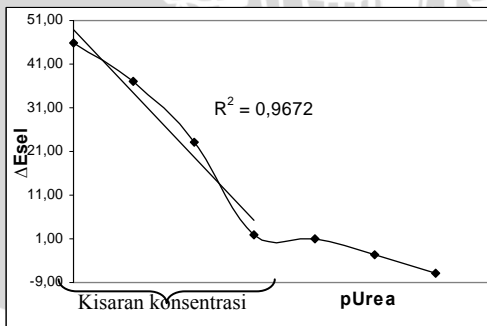




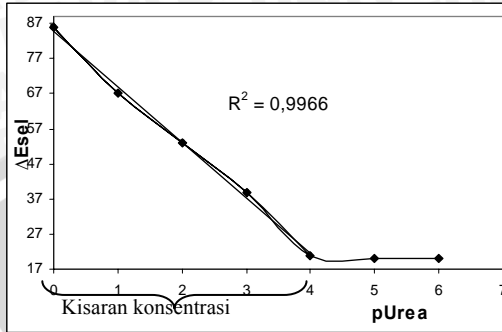
**Gambar L.7.8.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 3; temperatur 60°C



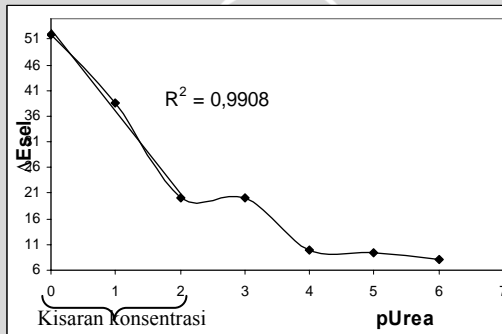
**Gambar L.7.9.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 4; temperatur 60°C



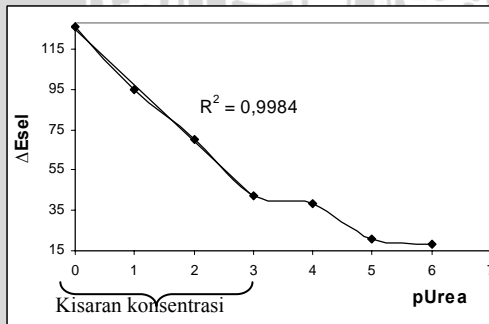
**Gambar L.7.10.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 5; temperatur 60°C



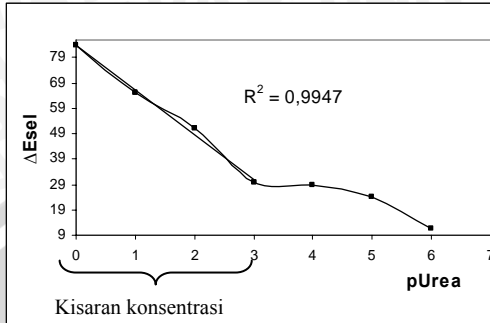
**Gambar L.7.11.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 6; temperatur 60°C



**Gambar L.7.12.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 7; temperatur 60°C

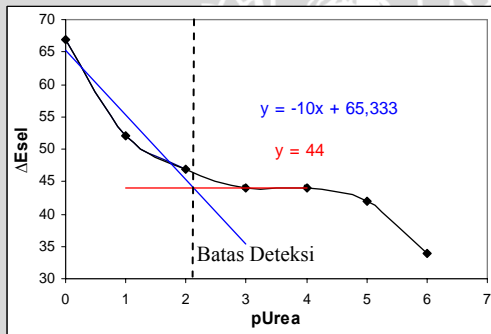


**Gambar L.7.13.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 8; temperatur 60°C

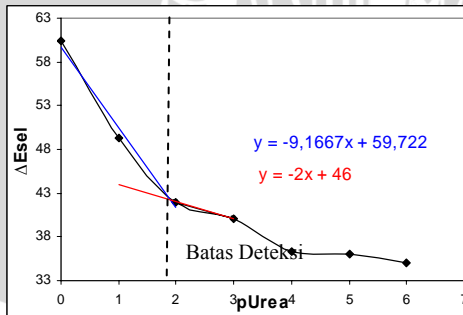


**Gambar L.7.14.** Grafik penentuan kisaran konsentrasi pada pH = 9; temperatur 60°C

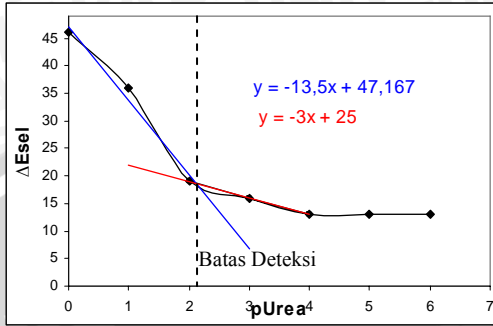
**Lampiran 8. Grafik Penentuan Batas Deteksi Biosensor Urea**



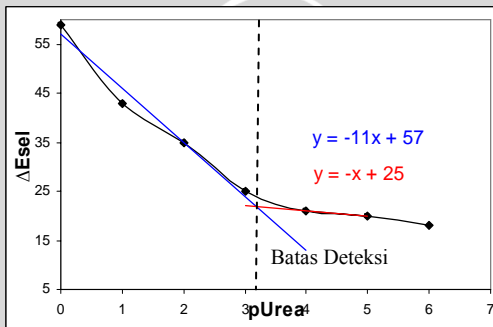
**Gambar L.8.1.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 3; temperatur ruang



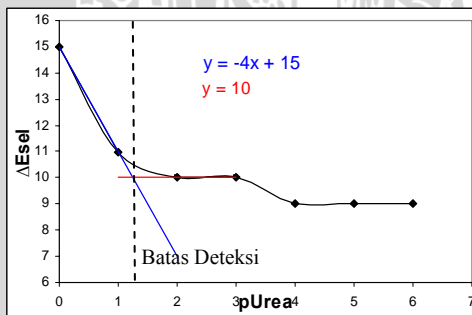
**Gambar L.8.2.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 4; temperatur ruang



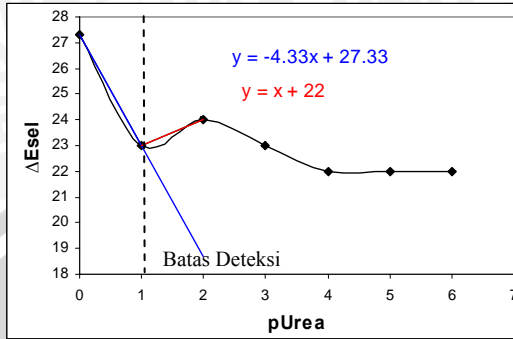
**Gambar L.8.3.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 5; temperatur ruang



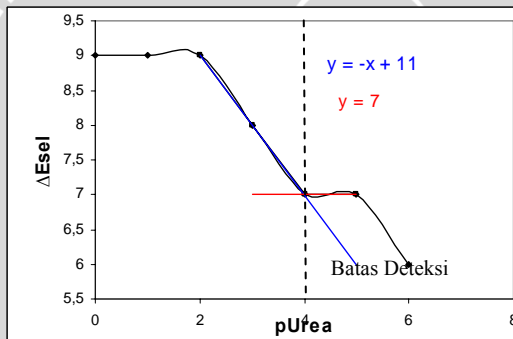
**Gambar L.8.4.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 6; temperatur ruang



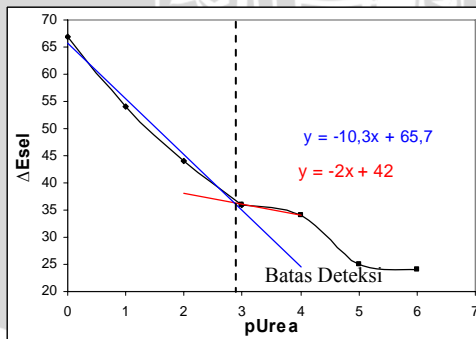
**Gambar L.8.5.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 7; temperatur ruang



**Gambar L.8.6.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 8; temperatur ruang

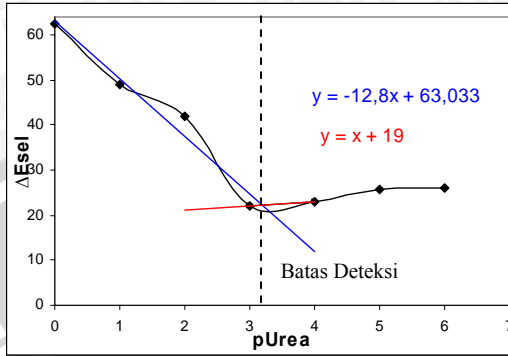


**Gambar L.8.7.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 9; temperatur ruang

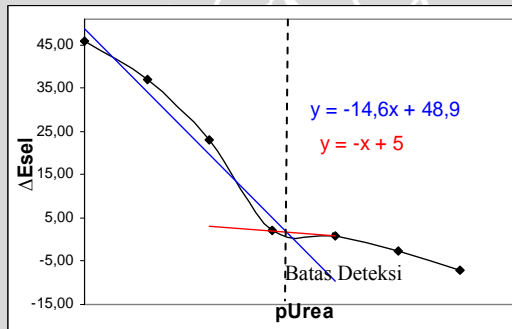


**Gambar L.8.8.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 3; temperatur 60°C

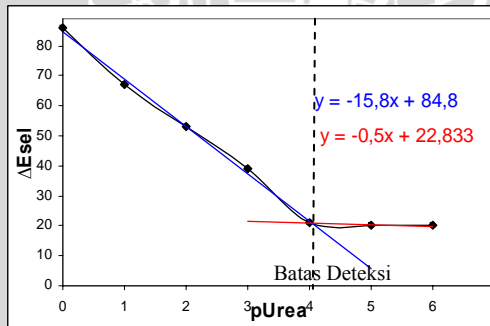




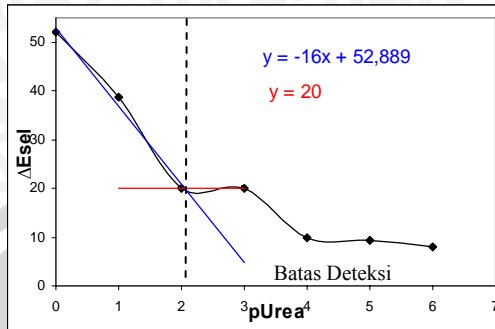
**Gambar L.8.9.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 4; temperatur 60°C



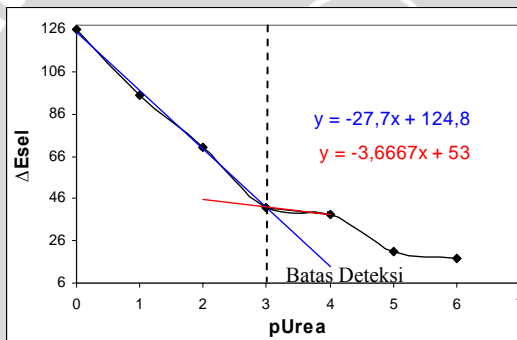
**Gambar L.8.10.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 5; temperatur 60°C



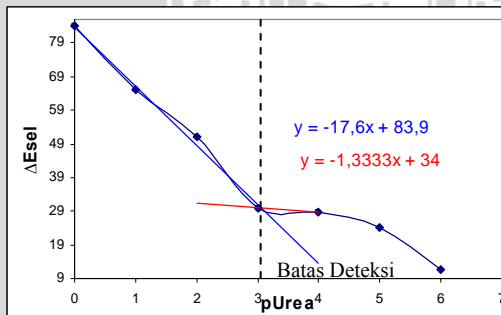
**Gambar L.8.11.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 6; temperatur 60°C



**Gambar L.8.12.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 7; temperatur 60°C

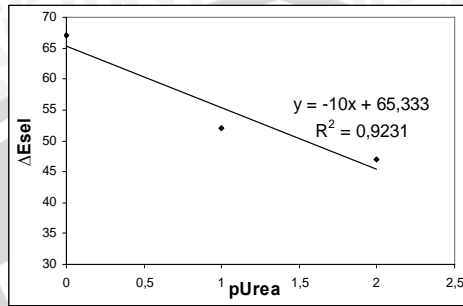


**Gambar L.8.13.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 8; temperatur 60°C

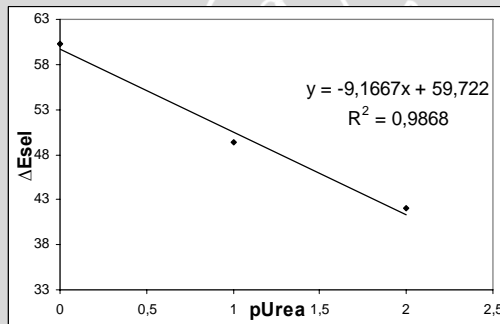


**Gambar L.8.14.** Grafik penentuan batas deteksi pada pH = 9; temperatur 60°C

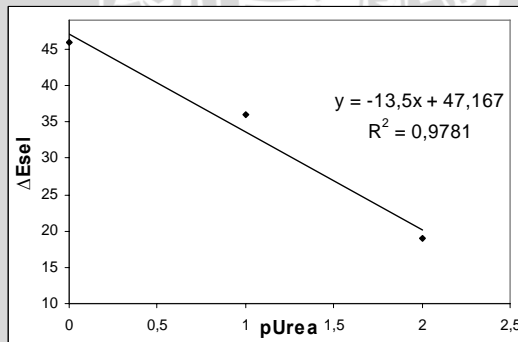
## Lampiran 9. Grafik Penentuan Bilangan Nernst Biosensor Urea



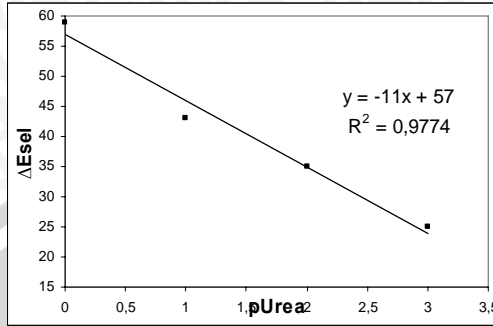
**Gambar L.9.1.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 3$ ; temperatur ruang



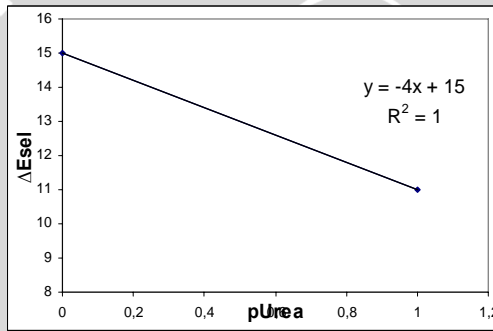
**Gambar L.9.2.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 4$ ; temperatur ruang



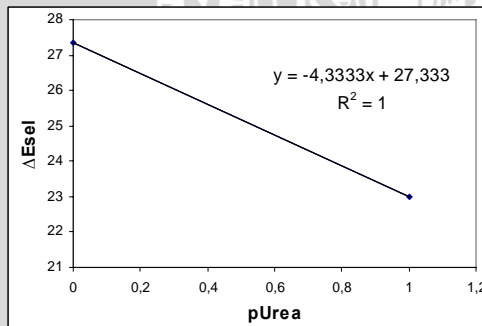
**Gambar L.9.3.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 5$ ; temperatur ruang



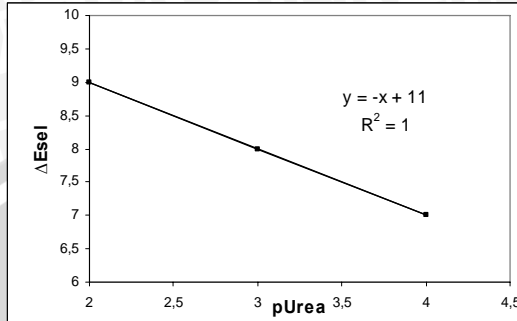
**Gambar L.9.4.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 6; temperatur ruang



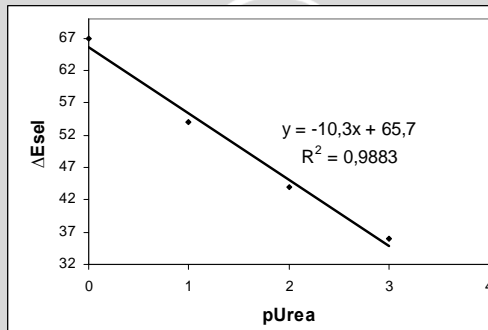
**Gambar L.9.5.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 7; temperatur ruang



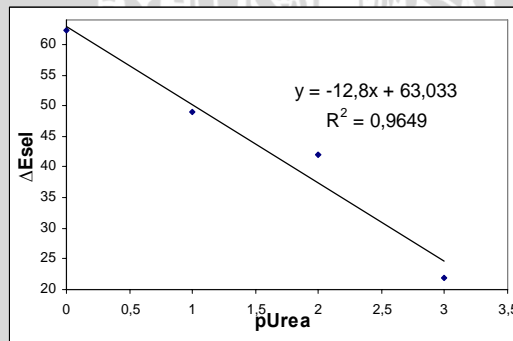
**Gambar L.9.6.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 8; temperatur ruang



**Gambar L.9.7.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 9; temperatur ruang

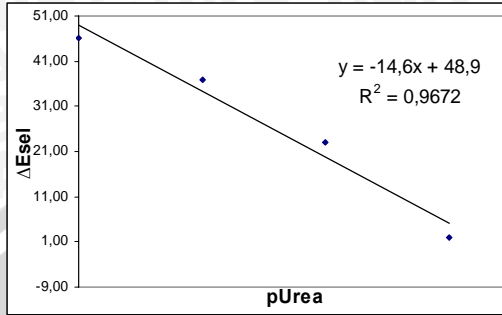


**Gambar L.9.8.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 3; temperatur 60°C

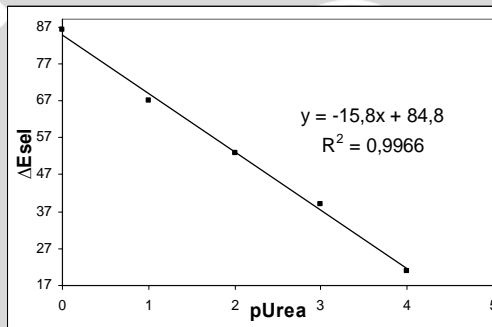


**Gambar L.9.9.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 4; temperatur 60°C

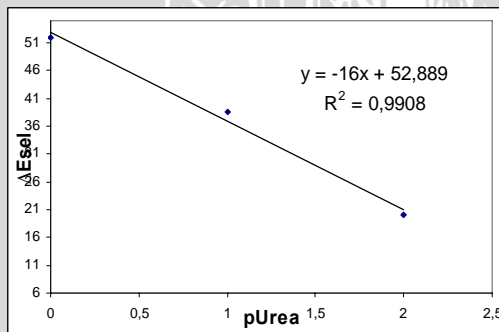




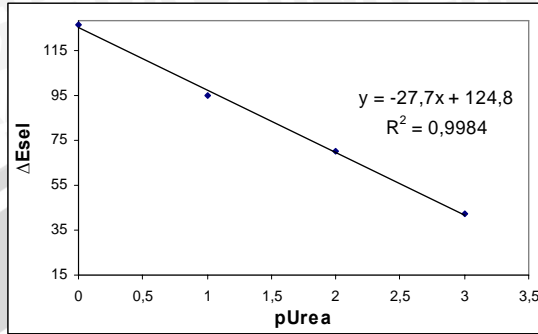
**Gambar L.9.10.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 5$ ; temperatur  $60^\circ C$



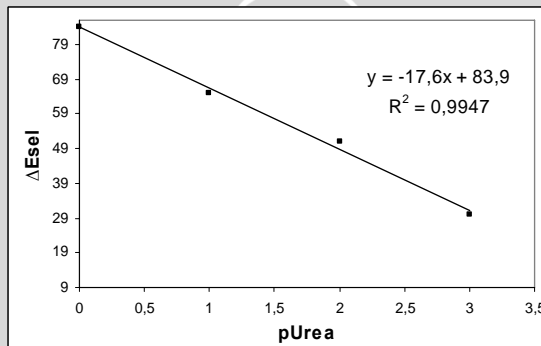
**Gambar L.9.11.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 6$ ; temperatur  $60^\circ C$



**Gambar L.9.12.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada  $pH = 7$ ; temperatur  $60^\circ C$



**Gambar L.9.13.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 8; temperatur 60°C



**Gambar L.9.14.** Grafik penentuan bilangan Nernst pada pH = 9; temperatur 60°C

**Lampiran 10. Data Potensial Sel Penentuan Waktu Respon Pada pH=8; T=60°C**

**Tabel L.10.** Data Potensial Sel Penentuan Waktu Respon Pada pH=8; T=60°C

Waktu (detik)	Potensial Sel (mV)			
	1M	10 <sup>-1</sup> M	10 <sup>-2</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
0	-55	-34	-20	9
5	-63	-38	-24	3
10	-64	-46	-24	3
15	-82	-47	-24	2
20	-85	-55	-28	2
25	-96	-55	-35	-8
30	-96	-66	-41	-8
35	-96	-66	-44	-8
40	-96	-66	-44	-8
45	-97	-66	-44	-8
50	-97	-66	-44	-8
55	-97	-66	-44	-8
60	-97	-67	-44	-8
65	-97	-67	-47	-8
70	-97	-67	-47	-8
75	-97	-67	-47	-8
80	-97	-67	-47	-9
85	-97	-67	-47	-9
90	-97	-67	-47	-9
95	-98	-67	-47	-9
100	-98	-67	-47	-9
105	-98	-67	-47	-9
110	-98	-67	-47	-11
115	-98	-68	-47	-11

**Lanjutan Tabel L.10.** Data Potensial Sel Penentuan Waktu Respon  
Pada pH=8; T=60°C

Waktu (detik)	Potensial Sel (mV)			
	1M	10 <sup>-1</sup> M	10 <sup>-2</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
120	-98	-68	-47	-11
125	-98	-68	-47	-11
130	-98	-68	-47	-11
135	-98	-68	-48	-11
140	-98	-68	-48	-11
145	-98	-68	-48	-11
150	-98	-68	-48	-11
155	-98	-68	-48	-11
160	-98	-69	-48	-12
165	-99	-69	-48	-12
170	-99	-69	-48	-12
175	-99	-69	-48	-12
180	-100	-69	-48	-12

**Lampiran 11. Data Potensial Sel Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C**

**Tabel L.11.** Data Potensial Sel Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C

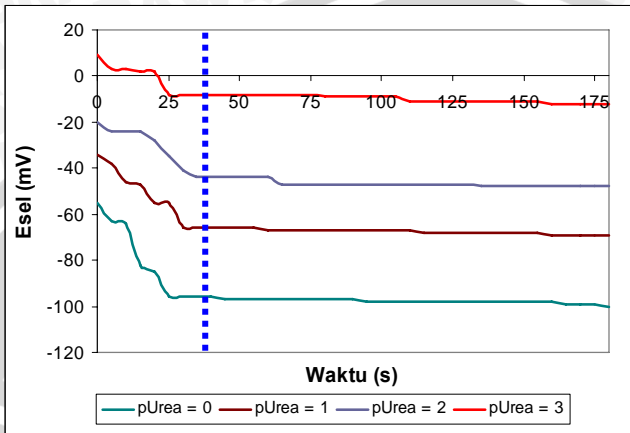
Banyaknya Pengukuran	Potensial Sel (mV)			
	1M	10 <sup>-1</sup> M	10 <sup>-2</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
1	-101	-70	-45	-17
2	-101	-70	-45	-17
3	-101	-70	-45	-17
4	-101	-70	-45	-17
5	-101	-70	-45	-17
6	-101	-70	-45	-17
7	-101	-70	-45	-17
8	-101	-70	-45	-17
9	-101	-70	-45	-17
10	-101	-70	-45	-17
11	-101	-70	-45	-17
12	-101	-70	-45	-17
13	-101	-70	-45	-17
14	-101	-70	-44	-17
15	-101	-70	-44	-17
16	-101	-70	-44	-17
17	-101	-70	-44	-17
18	-101	-70	-44	-17
19	-101	-70	-44	-17
20	-100	-70	-44	-17
21	-100	-70	-44	-17
22	-100	-70	-44	-16
23	-100	-70	-44	-16
24	-100	-70	-44	-16
25	-100	-70	-44	-16



**Lanjutan Tabel L.11.** Data Potensial Sel Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C

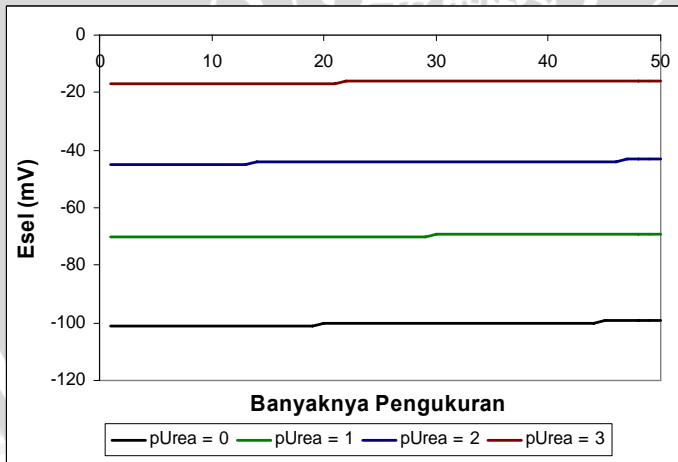
Banyaknya Pengukuran	Potensial Sel (mV)			
	1M	10 <sup>-1</sup> M	10 <sup>-2</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
26	-100	-70	-44	-16
27	-100	-70	-44	-16
28	-100	-70	-44	-16
29	-100	-70	-44	-16
30	-100	-69	-44	-16
31	-100	-69	-44	-16
32	-100	-69	-44	-16
33	-100	-69	-44	-16
34	-100	-69	-44	-16
35	-100	-69	-44	-16
36	-100	-69	-44	-16
37	-100	-69	-44	-16
38	-100	-69	-44	-16
39	-100	-69	-44	-16
40	-100	-69	-44	-16
41	-100	-69	-44	-16
42	-100	-69	-44	-16
43	-100	-69	-44	-16
44	-100	-69	-44	-16
45	-99	-69	-44	-16
46	-99	-69	-44	-16
47	-99	-69	-43	-16
48	-99	-69	-43	-16
49	-99	-69	-43	-16
50	-99	-69	-43	-16

**Lampiran 12. Grafik Penentuan Waktu Respon Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C**



**Gambar L.12.** Grafik Penentuan Waktu Respon Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C

**Lampiran 13. Grafik Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C**



**Gambar L.13.** Grafik Penentuan Efisiensi Biosensor Urea Pada pH=8; T=60°C