

**PENGARUH KONSENTRASI GLUTARALDEHIDA  
TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI  
ASAM URAT MENGGUNAKAN MEMBRAN NATA DE COCO**

**SKRIPSI**

oleh :

**NUGROHO BOMO PRAKOSO**  
**0710920025-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2011**

**PENGARUH KONSENTRASI GLUTARALDEHIDA  
TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI  
ASAM URAT MENGGUNAKAN MEMBRAN NATA DE COCO**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh :

**NUGROHO BOMO PRAKOSO**

**0710920025-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2011**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH KONSENTRASI GLUTARALDEHIDA  
TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI  
ASAM URAT MENGGUNAKAN MEMBRAN NATA DE COCO

oleh :

NUGROHO BOMO PRAKOSO  
0710920025-92

Setelah dipertahankan di depan Majelis Pengaji

Pada tanggal 01 Februari 2011

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Ani Mulyasuryani, MS  
NIP. 19630628 199103 2 001

Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes  
NIP. 19720326 200212 2 001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS  
NIP. 19630404 198701 1 001

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nugroho Bomo Prakoso

NIM : 0710920025-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

**PENGARUH KONSENTRASI GLUTARALDEHIDA  
TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI  
ASAM URAT MENGGUNAKAN MEMBRAN NATA DE  
COCO**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala risiko yang akan saya terima.  
Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 01 Februari 2011

Yang menyatakan,

Nugroho Bomo Prakoso

NIM. 0710920025-92

# **PENGARUH KONSENTRASI GLUTARALDEHIDA TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI ASAM URAT MENGGUNAKAN MEMBRAN *NATA DE COCO***

## **ABSTRAK**

Kinerja biosensor dipengaruhi oleh jumlah enzim yang teramobilkan. Jumlah enzim teramobilkan dipengaruhi oleh glutaraldehida sebagai perekensi pengikat silang. Oleh karena itu, pada penelitian ini dipelajari pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat. Glutaraldehida ditambahkan ke dalam larutan urikase sebelum dilakukan amobilisasi pada membran *nata de coco*, dengan kondisi pH 8,5 dan suhu 4°C. Amobilisasi urikase dilakukan selama 24 jam, dengan konsentrasi glutaraldehida adalah 0,00%; 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,00%; 1,25% dan 1,50%. Biosensor konduktometri asam urat diuji menggunakan larutan asam urat dengan konsentrasi 0 hingga 40 ppm pada pH 7,5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor konduktometri asam urat dipengaruhi oleh konsentrasi glutaraldehida. Kinerja biosensor terbaik dihasilkan pada konsentrasi glutaraldehida 1,50%. Biosensor konduktometri asam urat mempunyai waktu respon 480 detik, kepekaan sebesar 71,212 nmho/ppm, kisaran konsentrasi 23 hingga 32 ppm dan batas deteksi 0,513 ppm.

# THE INFLUENCE OF GLUTARALDEHYDE CONCENTRATION ON URIC ACID CONDUCTOMETRIC BIOSENSOR USING NATA DE COCO MEMBRANE

## ABSTRACT

The performance of biosensor is influenced by the amount of immobilized enzyme. The amount of immobilized enzyme is affected by glutaraldehyde concentration as a crosslinking reagent. Therefore, the study of the effect of glutaraldehyde concentration to the performance of uric acid biosensor is carried out. Glutaraldehyde had been added into uricase before the immobilization process allowed to nata de coco membrane in pH 8.5 and 4°C. The immobilization of uricase is let stand for 24 hours and glutaraldehyde concentration are allowed at 0.00%, 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.00 %, 1.25% and 1.50%. The performance of uric acid biosensor is evaluated at 0 – 40 ppm of uric acid concentration and pH 7.5. The result shows that the glutaraldehyde concentration affects to the biosensor performance. The best performance of biosensor is found at 1.50% glutaraldehyde. Uric acid conductimetric biosensor has response time 480 second, the sensitivity is 71.212 nmho/ppm, range of uric acid concentration is 23 – 32 ppm and the limit detection is 0.513 ppm.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehida terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Asam Urat Menggunakan Membran Nata de Coco**. Maksud dan tujuan penulisan skripsi ini adalah sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Ilmu Kimia.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ani Mulyasuryani, MS, selaku dosen Pembimbing I dan Arie Srihardyastuti, S.Si, M.Kes selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing penulis hingga terselesainya penulisan skripsi ini.
2. Zubaidah Ningsih, S.Si, M.Phil, Drs. M. Misbah Khunur, M.Si, Dr. Sasangka Prasetyawan, MS dan Drs. Suratmo, MSc selaku dosen penguji.
3. Dr. Barlah Rumhayati, M.Si selaku dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan banyak nasehat dan pengarahan selama ini.
4. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
5. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Kimia Universitas Brawijaya atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan.
6. Kedua orang tua dan kedua saudaraku serta seluruh keluargaku yang selalu mendoakan dan memberi dukungan baik spirituul maupun materiil.
7. Teman-teman di Jurusan Kimia dan segenap pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata penulis hanya berharap bahwa skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan memberikan gagasan baru untuk perkembangan biosensor asam urat di masa mendatang.

Malang, Februari 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Batasan Masalah .....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Biosensor .....	4
2.1.1 Transduser .....	5
2.1.2 Bioreseptör .....	7
2.1.2.1 Amobilisasi enzim secara adsorpsi .....	10
2.1.2.2 Amobilisasi enzim secara interaksi ionik .....	10
2.1.2.3 Amobilisasi enzim secara ikatan kovalen.....	10
2.1.2.4 Amobilisasi enzim secara ikatan silang .....	11
2.1.2.5 Amobilisasi enzim secara penjebakan.....	11
2.1.2.6 Amobilisasi enzim secara mikrokapsul.....	12
2.2 Biosensor Konduktometri .....	15
2.3 Biosensor Asam Urat .....	17
2.4 Hipotesis .....	19
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	20
3.2.1. Alat penelitian .....	20
3.2.2. Bahan penelitian.....	20
3.3. Tahapan Penelitian .....	20
3.4. Cara Kerja Penelitian .....	21

3.4.1. Preparasi alat dan bahan .....	21
3.4.2. Pembuatan biosensor konduktometri asam urat .....	21
3.4.3. Pengujian biosensor konduktometri asam urat .....	22
3.4.4. Pengolahan data .....	24
3.4.4.1. Pengaruh konsentrasi glutaraldehida .....	24
3.4.4.2. Karakterisasi biosensor optimum.....	24

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehida terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Asam Urat .....	26
4.2. Karakterisasi Biosensor Konduktometri Asam Urat .....	29

## BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan .....	31
5.2. Saran.....	31

## DAFTAR PUSTAKA .....

32

## LAMPIRAN .....

37



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman	
Gambar 2.1.	Unsur penyusun biosensor.....	4
Gambar 2.2.	Pergerakan ion dalam larutan elektrolit .....	6
Gambar 2.3.	Struktur tiga dimensi urikase tampak depan dan samping .....	7
Gambar 2.4.	Grafik hubungan antara konsentrasi substrat terhadap laju reaksi enzimatis amobilisasi secara interaksi ionik .....	9
Gambar 2.5.	Amobilisasi enzim secara (a) adsorpsi; (b) interaksi ionik; (c) ikatan kovalen; (d) ikatan silang; (e) penjebakan pada matriks; (f) penjebakan pada jaringan dan (g) mikrokapsul .....	12
Gambar 2.6.	Reaksi Ikatan Silang antara Glutaraldehida dan Urikase .....	14
Gambar 2.7.	Foto SEM ( <i>Scanning Electron Microscopy</i> ) membran <i>nata de coco</i> .....	15
Gambar 2.8.	Desain biosensor konduktometri .....	16
Gambar 2.9.	Reaksi oksidasi asam urat oleh enzim urikase.....	17
Gambar 3.1.	Elektroda platina berlapis membran <i>nata de coco</i> ..	21
Gambar 3.2.	Rancangan biosensor konduktometri asam urat ....	22
Gambar 4.1.	Kurva hubungan konsentrasi glutaraldehida (%) terhadap kepekaan biosensor konduktometri asam urat (nmho/ppm) .....	28
Gambar 4.2.	Kurva waktu respon biosensor .....	29
Gambar L.4.1.	Contoh kurva hubungan antara konsentrasi asam urat (ppm) dengan daya hantar (nmho) pada konsentrasi glutaraldehida 1,50% .....	56
Gambar L.4.2.	Contoh kurva penentuan kisaran konsentrasi biosensor konduktometri asam urat pada konsentrasi glutaraldehida 1,50% .....	57
Gambar L.4.3.	Contoh kurva penentuan batas deteksi biosensor konduktometri asam urat pada konsentrasi glutaraldehida 1,50% .....	57
Gambar L.5.1.	Kurva baku kasein .....	60
Gambar L.5.2.	Kurva kalibrasi konsentrasi $\text{HCO}_3^-$ (ppm) terhadap daya hantar (nmho) .....	62
Gambar L.6.1.	Kurva Lineweaver-Burk.....	65

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



- |  |    |
|--|----|
| Gambar L.7.1. Membran <i>nata de Coco</i> hasil fermentasi selama 3 hari ..... | 67 |
| Gambar L.7.2. Pembuatan elektroda biosensor .....                              | 67 |
| Gambar L.7.3. Rancangan biosensor konduktometri asam urat.....                 | 68 |

## DAFTAR TABEL

### Halaman

Tabel 4.1.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat oleh (A) sel daya hantar, (B) sel daya hantar berlapis membran <i>nata de coco</i> dan (C) biosensor konduktometri asam urat – 0,00% glutaraldehyda .....	25
Tabel 4.2.	Pengaruh konsentrasi glutaraldehyda terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat.....	27
Tabel 4.3.	Hubungan jumlah pengukuran, kepekaan dan Kisaran konsentrasi.....	30
Tabel L.1.1.	Komposisi volume glutaraldehyda 25% pada pembuatan larutan glutaraldehyda berbagai konsentrasi.....	40
Tabel L.1.2.	Komposisi volume asam urat untuk pengenceran .....	41
Tabel L.1.3.	Komposisi volume pada pengenceran larutan kasein 10000 ppm .....	42
Tabel L.1.4.	Komposisi volume pada pengenceran larutan NaHCO <sub>3</sub> 100 ppm.....	43
Tabel L.3.1.	Hasil pengukuran daya hantar dengan sel daya hantar.....	47
Tabel L.3.2.	Hasil pengukuran daya hantar dengan sel daya hantar berlapis membran <i>nata de coco</i> .....	47
Tabel L.3.3.	Hasil pengukuran daya hantar dengan biosensor konduktometri asam urat-0,00% glutaraldehyda .....	47
Tabel L.4.1.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat tanpa menggunakan glutaraldehyda diukur pada menit ke-8 .....	48
Tabel L.4.2.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehyda 0,25% diukur pada menit ke-8.....	49
Tabel L.4.3.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehyda 0,50% diukur pada menit ke-8.....	50

Tabel L.4.4.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 0,75% diukur pada menit ke-8.....	51
Tabel L.4.5.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,00% diukur pada menit ke-8.....	52
Tabel L.4.6.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,25% diukur pada menit ke-8.....	53
Tabel L.4.7.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50% diukur pada menit ke-8.....	54
Tabel L.4.8.	Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat untuk penentuan waktu respon biosensor menggunakan glutaraldehida 1,50% .....	55
Tabel L.4.9.	Data daya hantar larutan asam urat untuk karakterisasi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50% .....	56
Tabel L.4.10.	Data daya hantar larutan asam urat untuk penentuan efisiensi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50% pada menit ke-8.....	59
Tabel L.5.1.	Data absorbansi kasein berbagai panjang gelombang	60
Tabel L.5.2.	Absorbansi kasein pada 543,0 nm .....	60
Tabel L.5.3.	Absorbansi enzim urikase murni dan sisa amobilisasi.....	61
Tabel L.5.4.	Jumlah protein (mg) enzim urikase murni dan sisa amobilisasi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 543$ nm .....	61
Tabel L.5.5.	Data daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat pada berbagai konsentrasi glutaraldehida pada menit ke-8 .....	62
Tabel L.5.6.	Data konsentrasi $\text{HCO}_3^-$ (ppm) pada berbagai konsentrasi glutaraldehida pada menit ke-8 .....	63

Tabel L.5.7.	Data konsentrasi $\text{HCO}_3^-$ ( $\mu\text{mol}$ ) pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8 .....	63
Tabel L.5.8.	Data konsentrasi $\text{HCO}_3^-$ ( $\mu\text{mol}$ ) dikurangi blanko pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8.....	63
Tabel L.5.9.	Data laju reaksi enzim ( $\mu\text{mol} \cdot \text{menit}^{-1}$ ) pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8 .....	64
Tabel L.6.1.	Pembuatan grafik untuk penentuan $K_M$ dan $V_{\text{maks}}$ .....	65



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1.	Perhitungan pembuatan larutan .....
Lampiran 2.	Isolasi enzim urikase dari <i>Candida utilis</i> dan Pembuatan membran <i>nata de coco</i> .....
Lampiran 3.	44 Pembuatan biosensor .....
Lampiran 4.	47 Data hasil penelitian.....
Lampiran 5.	Penentuan kadar protein enzim.....
Lampiran 6.	60 Penentuan tetapan Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dan $V_{\text{maks}}$ .....
Lampiran 7.	65 Gambar pendukung hasil penelitian.....



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Menurut Thévenot, *et al.* (1999), biosensor didefinisikan sebagai suatu alat ukur yang mengintegrasikan tranduser dengan biorseptor yang mampu memberikan informasi analitik baik secara kuantitatif maupun secara semikuantitatif, secara selektif. Biosensor terdiri dari tiga komponen yaitu tranduser, biorseptor dan detektor (Grieshaber, *et al.*, 2008). Tranduser adalah pengubah informasi kimia dari sampel menjadi data analitik (Worsfold, 1995). Biosensor yang didasarkan pada tranduser yang digunakan terdiri dari 2 jenis, yaitu biosensor elektrokimia dan biosensor optik. Biosensor elektrokimia terdiri atas biosensor amperometri, biosensor potensiometri, dan biosensor konduktometri. Biosensor optik terdiri atas biosensor kemiluminesensi dan biosensor fluoresensi (Vermeeren, 2008). Biosensor elektrokimia banyak dikembangkan karena tidak diperlukan pereaksi dalam proses pengukuran lebih lanjut jika dibandingkan biosensor optik (Eggins, 2002). Biosensor konduktometri mempunyai kepekaan lebih baik dibandingkan dengan kepekaan biosensor elektrokimia lainnya (Mulchandani, 1998). Pada penelitian ini dikembangkan biosensor konduktometri untuk mendeteksi asam urat.

Biosensor konduktometri asam urat telah dikembangkan berdasarkan deteksi ion  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{H}_3\text{O}^+$  hasil oksidasi asam urat. Oksidasi asam urat yang dikatalisis oleh urikase menghasilkan allantoin ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$ ),  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Zhao, *et al.*, 2009). Di dalam air,  $\text{CO}_2$  berubah menjadi  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Biosensor konduktometri asam urat telah dikembangkan oleh Karlinatasa (2010) dan Dalesi (2010). Biosensor tersebut menggunakan membran *nata de coco* sebagai media amobilisasi urikase. Pada penelitian tersebut, membran *nata de coco* direndam dalam larutan glutaraldehida sebelum proses amobilisasi urikase. Glutaraldehida digunakan sebagai pereaksi pengikat silang antara gugus-gugus amina (-NH<sub>2</sub>) molekul urikase. Biosensor konduktometri asam urat tersusun atas sel daya hantar yang terbuat dari sepasang elektroda platina yang memiliki luas penampang sebesar 0,5 x 0,5 cm dan jarak antar elektroda sebesar 1 cm. Kinerja biosensor konduktometri asam urat dihasilkan pada ketebalan membran *nata de coco* 2,40  $\mu\text{m}$  dan pH pengukuran 7,5. Biosensor konduktometri asam urat mempunyai kepekaan 14,98 nmho/ppm dan

kisaran konsentrasi 1 hingga 5 ppm. Biosensor tersebut memiliki kisaran konsentrasi sangat pendek sehingga belum dapat diterapkan pada sampel nyata. Menurut Kusnady (2008), konsentrasi asam urat dalam serum darah normal berkisar 26 hingga 70 ppm. Untuk memperbaiki kinerja biosensor konduktometri asam urat tersebut, pada penelitian ini dipelajari pengaruh konsentrasi glutaraldehyda dengan cara penambahan glutaraldehyda yang berbeda pada amobilisasi urikase.

Berdasarkan persamaan Michaelis-Menten, jumlah enzim berbanding lurus terhadap laju reaksi (Eggins, 2002). Jumlah enzim amobil dipengaruhi oleh metode amobilisasi, media amobilisasi dan pereaksi pengikat silang. Jumlah urikase amobil diatur dengan penambahan glutaraldehyda sebagai pereaksi pengikat silang. Glutaraldehyda membentuk ikatan silang antara gugus-gugus amina (-NH<sub>2</sub>) dalam molekul urikase sehingga menghasilkan ukuran urikase yang sesuai dengan ukuran pori-pori membran *nata de coco*. *Nata de coco* mempunyai ukuran pori 80-90 nm, sedangkan urikase mempunyai jari-jari molekul rata-rata sebesar 3,87 nm sehingga penambahan glutaraldehyda ke dalam larutan urikase diharapkan dapat mengubah ukuran molekul urikase sesuai dengan ukuran pori-pori membran *nata de coco* (Wanichapichart, *et al.*, 2003 dan Alamillo, *et al.*, 2003). Pembentukan ukuran urikase yang tepat akan memaksimalkan jumlah urikase yang teramobilkan pada permukaan dan pori-pori membran *nata de coco* sehingga dapat meningkatkan kinerja biosensor. Akan tetapi konsentrasi glutaraldehyda yang harus ditambahkan belum diketahui secara pasti, sehingga perlu dilakukan optimasi penambahan konsentrasi glutaraldehyda.

Pada penelitian ini, urikase diisolasi dari *Candida utilis* dengan kadar enzim 1183,33 ppm dan konsentrasi glutaraldehyda yang digunakan adalah 0,00% hingga 1,50% yang ditambahkan setiap 1,973 mg enzim. Pengukuran daya hantar dipengaruhi oleh luas dan jarak elektroda sehingga mempengaruhi bacaan daya hantar yang terukur. Pada penelitian ini, biosensor konduktometri asam urat dirancang dari sepasang elektroda platina yang memiliki luas penampang 0,5 x 0,5 cm dan jarak antar elektroda sebesar 0,3 cm. Dengan memperkecil jarak antar elektroda maka diharapkan dapat meningkatkan bacaan daya hantar yang terukur. Kinerja biosensor diketahui dari beberapa parameter yaitu kisaran konsentrasi, kepekaan, batas deteksi dan waktu respon biosensor.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat?
2. Bagaimana karakter dari biosensor konduktometri asam urat yang telah dibuat dengan menggunakan membran *nata de coco* sebagai media amobilisasi enzim?

## **1.3. Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini meliputi:

1. Urikase (E.C.1.7.3.3) yang digunakan adalah hasil isolasi dari *Candida utilis*
2. Konsentrasi asam urat yang digunakan adalah 0 – 40 ppm
3. Konsentrasi glutaraldehida yang dipelajari adalah 0,00% ; 0,25% ; 0,50% ; 0,75% ; 1,00% ; 1,25% ; dan 1,50%
4. pH larutan asam urat yang digunakan adalah 7,5
5. Pengukuran daya hantar dilakukan pada suhu larutan (25-27°C)
6. Luas permukaan elektroda platina adalah 0,5 x 0,5 cm dan jarak elektroda adalah 0,3 cm
7. Parameter kinerja biosensor yang diuji adalah kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi dan waktu respon biosensor

## **1.4. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mempelajari pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat
2. Mengetahui karakter dari biosensor konduktometri asam urat yang telah dibuat dengan menggunakan membran *nata de coco* sebagai media amobilisasi enzim.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

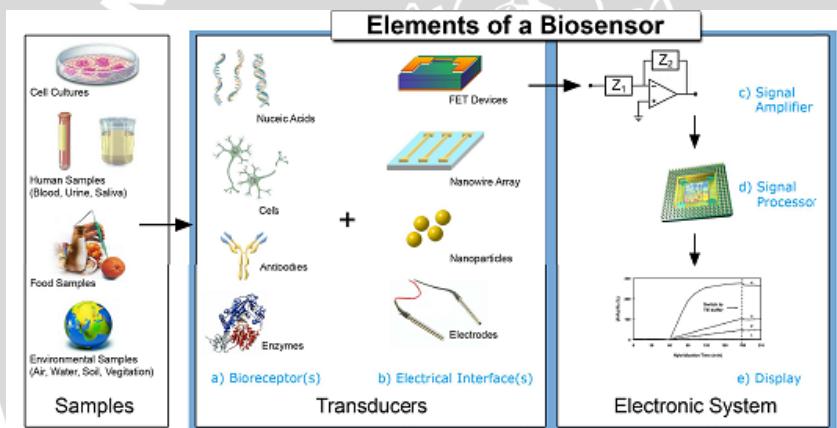
Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu pembelajaran mengenai konsentrasi optimum glutaraldehida dan penggunaan *nata de coco* sebagai media amobilisasi enzim urikase dalam biosensor konduktometri asam urat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Biosensor

Menurut Thévenot, *et al.* (1999), biosensor didefinisikan sebagai suatu alat ukur yang mengintegrasikan tranduser dengan bioreseptor yang mampu memberikan informasi analitik baik secara kuantitatif maupun secara semikuantitatif, secara selektif. Gambar 2.1 menjelaskan bahwa biosensor terdiri dari tiga komponen utama yaitu komponen tranduser, molekul biologi (bioreseptor) dan sistem detektor. Tranduser yang digunakan dapat berupa elektroda. Beberapa macam bioreseptor yang dapat digunakan adalah asam nukleat, sel, antibodi, atau enzim (Grieshaber, *et al.*, 2008).



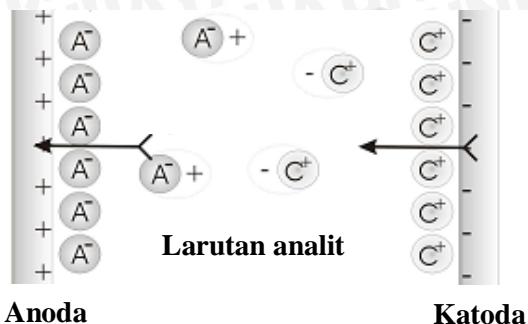
Gambar 2.1. Unsur penyusun biosensor (Grieshaber, *et al.*, 2008).

Gambar 2.1 menjelaskan mekanisme kerja biosensor. Kerja biosensor diawali dengan reaksi spesifik yang terjadi antara bioreseptor dengan analit. Hasil reaksi tersebut diubah oleh tranduser dan diperkuat oleh adanya suatu penguatan daya menjadi suatu sinyal elektrik berupa arus listrik, daya hantar, potensial listrik atau besaran fisika lainnya sehingga diperoleh suatu data. Data yang diperoleh menunjukkan jumlah analit yang bereaksi (Grieshaber, *et al.*, 2008).

### **2.1.1. Tranduser**

Tranduser merupakan alat yang dapat mendeteksi dan mengubah hasil reaksi biorseptor dengan analit menjadi satuan-satuan fisika yang dapat diukur oleh detektor (Vermeeren, 2008). Tranduser biosensor dapat diklasifikasikan menjadi 4 macam, yakni tranduser elektrokimia, tranduser optik, tranduser *piezo-electric* dan tranduser termal (Eggins, 2002). Tranduser elektrokimia didasarkan pada pengukuran perubahan arus, potensial, dan daya hantar (Chauhan, *et al.*, 2004). Berdasarkan teknik pengukurannya, terdapat 3 macam tranduser elektrokimia yaitu tranduser amperometri, potensiometri dan konduktometri (Mulchandani, 1998).

Tranduser amperometri didasarkan pada pengukuran perubahan arus yang dihasilkan dari reaksi reduksi dan oksidasi pada elektroda kerja. Perubahan arus yang terjadi selama proses reduksi dan oksidasi berbanding lurus dengan jumlah analit (Vermeeren, 2008). Tranduser amperometri terdiri atas elektroda kerja, elektroda pembanding dan elektroda pembantu. Tranduser potensiometri didasarkan pada pengukuran perubahan beda potensial yang disebabkan perubahan jumlah hasil reaksi enzimatis pada elektroda kerja. Perubahan beda potensial berbanding lurus dengan logaritma konsentrasi analit (Vermeeren, 2008). Tranduser potensiometri terdiri dari elektroda kerja dan elektroda pembanding, yang akan mendeteksi hasil reaksi kesetimbangan secara langsung. Tranduser konduktometri didasarkan pada pengukuran perubahan daya hantar atau perubahan konduktivitas larutan akibat mobilitas ion-ion dalam larutan dengan adanya medan listrik di antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dalam suatu sel elektrokimia (Vermeeren, 2008). Pengukuran ini dapat digunakan dalam banyak reaksi yang menghasilkan perubahan jumlah ion, muatan ion atau mobilitas ion (Wongkittisuka, *et al.*, 2004). Gambar 2.2 menunjukkan pergerakan ion-ion. Pergerakan tersebut terjadi secara berkebalikan dimana anion akan bergerak menuju kutub positif elektroda (anoda) sedangkan kation akan bergerak menuju kutub negatif elektroda (katoda) (Nicole and Dzyadevych, 2008). Daya hantar atau konduktansi merupakan kebalikan dari hambatan yang terukur selama arus listrik mengalir dalam suatu larutan. Lambang dari daya hantar adalah  $S$  atau  $L$  dengan satuan siemens ( $S$ ) atau mho ( $\Omega^{-1}$ ). Pengukuran daya hantar suatu larutan dipengaruhi oleh jarak antara 2 elektroda ( $d$ ) dan luas permukaan ( $A$ ) (Coury, 1999).



**Gambar 2.2.** Pergerakan ion dalam larutan elektrolit (Nicole and Dzyadevych, 2008)

Persamaan 2.1 menunjukkan hubungan antara daya hantar dengan hambatan adalah sebagai berikut (Coury, 1999):

$$S = \frac{1}{R} = \kappa \frac{A}{d} \quad (2.1)$$

Simbol  $\kappa$  merupakan besaran konduktivitas jenis yang menjadi sifat intrinsik suatu larutan elektrolit (Sheppard and Anthony, 1998). Konduktivitas molar ( $\Lambda$ ) merupakan konduktivitas yang dipengaruhi oleh konsentrasi total dari ion-ion dan memiliki satuan mho·cm<sup>2</sup>/mol (Coury, 1999).

$$\Lambda = \frac{\kappa}{C} \quad (2.2)$$

$$\kappa = \Lambda \cdot C \quad (2.3)$$

Persamaan 2.3 dapat diturunkan menjadi:

$$S = \Lambda \cdot C \cdot \frac{A}{d} \quad (2.4)$$

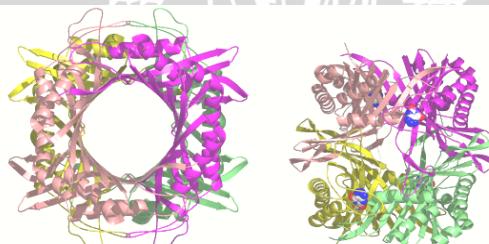
Berdasarkan persamaan 2.4 maka nilai daya hantar berbanding terbalik dengan jarak antarelektroda. Semakin kecil jarak antar elektroda maka nilai daya hantar yang terukur akan semakin besar. Daya hantar atau konduktansi juga berbanding lurus dengan konduktivitas (Rabbani, 2009).

## 2.1.2. Bioreseptor

Bioreseptor merupakan pengenal elemen secara biologis yang teramobilkan pada media amobilisasi dan terintegrasi dengan suatu tranduser (Thévenot, *et al.*, 1999). Beberapa bioreseptor yang dapat digunakan adalah asam nukleat, antibodi, antigen, oligonukleotida, enzim, lektin dan materi kompleks seperti organela, lapisan jaringan, atau mikroorganisme (Chauhan, *et al.*, 2004; Pohanka and Skadal, 2008). Enzim sebagai biokatalis seringkali digunakan sebagai bioreseptor dalam biosensor. Enzim tersebut bersifat spesifik terhadap suatu analit. Interaksi enzim dengan molekul analit yang spesifik akan menghasilkan perubahan fisika-kimia yang dapat dideteksi dan diubah oleh tranduser menjadi sinyal elektrik yang terukur (Mulchandani, 1998).

Enzim merupakan satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berfungsi sebagai katalis. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia dan dapat diperoleh kembali setelah hasil dihasilkan. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul substrat kemudian mempercepat proses reaksi dengan menurunkan energi pengaktifan (Marangoni, 2005). Salah satu enzim dalam biosensor adalah urikase yang digunakan dalam analisis asam urat (Zhao, *et al.*, 2009; Arslan, 2008; dan Schrenkhamer, 2008).

Urikase atau Urat oksidase (E.C.1.7.3.3.) merupakan enzim yang tidak mengandung logam transisi atau kofaktor redoks. Urikase dapat mengoksidasi molekul organik seperti asam urat menggunakan atom oksigen pada sisi aktifnya. Enzim ini bersifat sangat spesifik terhadap asam urat. Urikase memiliki jari-jari molekul rata-rata sebesar 3,87 nm. Oksidasi asam urat oleh urat oksidase terjadi melalui mekanisme pembentukan intermediet 5-hidroperoksi. Gambar 2.3 menunjukkan struktur tiga dimensi dari urikase (Tipton, 2003 dan Alamillo, *et al.*, 2003).



**Gambar 2.3.**Struktur tiga dimensi urikase tampak depan dan samping (Tipton, 2003)

Aktivitas katalitik suatu enzim merupakan parameter penting yang berkaitan dengan kepekaan enzim dalam reaksi kimia. Satu satuan internasional (I.U.) dari aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mengkatalisis perubahan satu mol substrat per detik pada suhu 25°C dan pada kondisi reaksi yang optimal (Worsfold, 1995). Kondisi optimal reaksi berhubungan dengan suhu, pH, aktivator dan inhibitor, konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat (Rogers and Gibon, 2009).

Secara teoritis, konsentrasi enzim berbanding lurus dengan laju reaksi enzimatis. Selanjutnya reaksi enzimatis akan berjalan relatif konstan meskipun konsentrasi substrat meningkat. Berikut ini merupakan mekanisme reaksi enzimatis yang melibatkan molekul substrat tunggal. Persamaan reaksi enzimatis dapat dituliskan sebagai berikut (Lee, 2000):



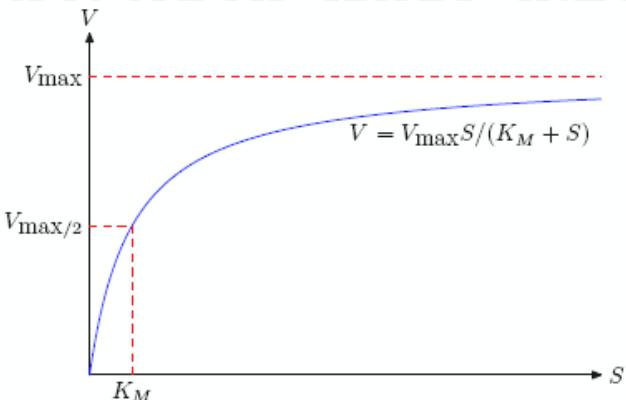
Mekanisme reaksi enzimatis ini diawali dengan reaksi antara substrat, S, dengan enzim, E, membentuk suatu kompleks intermediet, ES. Kemudian kompleks intermediet akan menghasilkan suatu hasil reaksi, P, dengan melepaskan enzim kembali. Melalui mekanisme reaksi tersebut maka dapat ditentukan kecepatan reaksi:

$$V = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k_2 [ES] \quad (2.6)$$

Pada keadaan *steady-state*, laju pembentukan intermediet sama dengan nol. Sedangkan jumlah enzim merupakan penjumlahan enzim dalam molekul intermediet dan molekul bebasnya. Persamaan laju reaksi ini ditunjukkan sebagai persamaan Michaelis-Menten dimana  $K_M$  adalah tetapan Michaelis-Menten (Lee, 2000):

$$V = -\frac{d[S]}{dt} = k_2 [ES] = \frac{k_2 [E_o][S]}{K_M + [S]} = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (2.7)$$

Gambar 2.4 menjelaskan hubungan antara konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi. Jika nilai  $K_M$  rendah maka kecepatan reaksi enzimatis akan meningkat secara linier seiring kenaikan konsentrasi substrat (Gents and Saucedo, 2002).



**Gambar 2.4.** Grafik hubungan konsentrasi substrat terhadap laju reaksi enzimatis (Gents and Saucedo, 2002)

Enzim memiliki kinerja yang baik jika  $V_{\text{maks}}$  bernilai tinggi dan  $K_M$  bernilai rendah. Secara umum, kinerja enzim dalam keadaan bebas lebih baik dibandingkan kinerja enzim dalam keadaan teramobilkan (Ayhan, 2002). Tetapan Michaelis-Menten pada enzim amobil bernilai lebih besar daripada enzim dalam keadaan bebas. Kenaikan nilai  $K_M$  ini disebabkan oleh faktor halangan sterik dan perubahan konformasi ketika enzim berikatan dengan media amobilisasi (Shi, *et al.*, 2009).

Enzim dalam keadaan bebas mudah mengalami perubahan konformasi yang disebakan oleh faktor suhu sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim. Perubahan secara kimia dan fisika dari enzim dapat membuat enzim bersifat destruktif sehingga enzim perlu diamobilkan (Suhartono, 1989). Amobilisasi enzim merupakan proses pengikatan suatu enzim ke suatu matriks/media amobilisasi secara kimia atau fisika (Eggins, 2002). Jadi, Enzim dalam keadaan bebas perlu diamobilkan pada suatu media amobilisasi. Tujuan dari amobilisasi enzim adalah untuk menjaga aktifitas katalitik enzim, stabilitas enzim dan waktu pemakaian biosensor. Selain itu amobilisasi enzim juga dapat mengurangi waktu respon enzim terhadap substrat serta praktis dalam penyimpanannya (Worsfold, 1995 dan Mulchandani, 1998).

Aktivitas kinetik enzim amobil dipengaruhi oleh metode amobilisasi enzim dan karakteristik media amobilisasi enzim yang meliputi luas permukaan, porositas, dan sifat hidrofilik matriks serta adanya pereaksi pengikat silang. Pengikatan enzim ke permukaan

media amobilisasi dapat dilakukan baik secara kimia maupun fisika (Gupta, 2006). Metode amobilisasi enzim dapat digolongkan menjadi beberapa cara, yaitu (Costa, *et al.*, 2005 dan Eggins, 2002):

#### 2.1.2.1. Amobilisasi enzim secara adsorpsi

Prinsip metode ini didasarkan pada keterikatan enzim secara non-kovalen. Metode ini hanya membutuhkan sedikit perlakuan baik pada matriks maupun pada enzim bebas. Interaksi yang terjadi dapat berupa ikatan hidrogen dan gaya Van der Waals. Metode amobilisasi enzim secara adsorpsi dibagi menjadi dua yaitu: (1) Adsorpsi fisika, dimana enzim diadsorpsi pada bagian permukaan matriks berdasarkan gaya Van der Waals antarmateri yang berinteraksi, (2) Adsorpsi kimia, merupakan adsorpsi melalui pembentukan ikatan hidrogen dan ikatan kovalen antara enzim dan matriks. Keuntungan amobilisasi menggunakan metode adsorpsi adalah mudah dilakukan, memiliki efek perubahan konformasi enzim yang kecil dan mudah untuk meregenerasi enzim yang tidak aktif. Namun, pada metode ini dapat terjadi desorpsi enzim yang disebabkan oleh perubahan lingkungan seperti pH, temperatur, pelarut yang digunakan dan kekuatan ion sehingga metode ini hanya memiliki waktu penggunaan 24 jam. Metode ini ditunjukkan oleh Gambar 2.5.

#### 2.1.2.2. Amobilisasi enzim secara interaksi ionik

Amobilisasi enzim melalui interaksi ionik didasarkan terbentuknya interaksi ionik antara molekul enzim pada matriks pendukung yang mengandung muatan ion. Gambar 2.5 menunjukkan interaksi ionik yang terjadi. Kekuatan ikatan ionik antara enzim dan matriks bergantung pada pH larutan, muatan matriks, konsentrasi enzim dan temperatur. Keuntungan amobilisasi secara interaksi ionik adalah efek perubahan konformasi enzim yang kecil. Kelemahan metode ini terletak pada keberadaan ion-ion lain dan perubahan pH larutan.

#### 2.1.2.3. Amobilisasi enzim secara ikatan kovalen

Ikatan kovalen dapat digunakan pada amobilisasi enzim ke dalam suatu membran atau secara langsung masuk ke dalam permukaan tranduser. Gambar 2.5 menunjukkan ikatan kovalen yang mungkin antara gugus fungsi di permukaan matriks dengan gugus asam amino pada permukaan enzim. Gugus asam amino yang dapat berinteraksi adalah gugus amina (-NH<sub>2</sub>) dari lisin atau arginin, gugus

karbonil (-COOH) dari asam aspartat atau asam glutamat, gugus hidroksi (-OH) dari serin, treonin, dan gugus sulfhidril (-SH) dari sistein. Gugus fungsi matriks pendukung akan diaktifkan oleh pereaksi yang spesifik, seperti aminoalkil-etoksisilan, epiklorohidrin, isotiosianat, sianogen bromida dan karbodiimida, lalu berinteraksi dengan molekul bioreseptor. Kerugian metode ikatan kovalen adalah mudah terjadi perubahan konformasi enzim dan penurunan aktivitas enzim. Kelebihan metode ini adalah memiliki kekuatan ikatan antara bioreseptor amobil dengan permukaan yang baik sehingga memiliki waktu pakai yang baik hingga 4-14 bulan. Selain itu metode ini memiliki banyak variasi gugus fungsi untuk terjadinya amobilisasi.

#### 2.1.2.4. Amobilisasi enzim secara ikatan silang

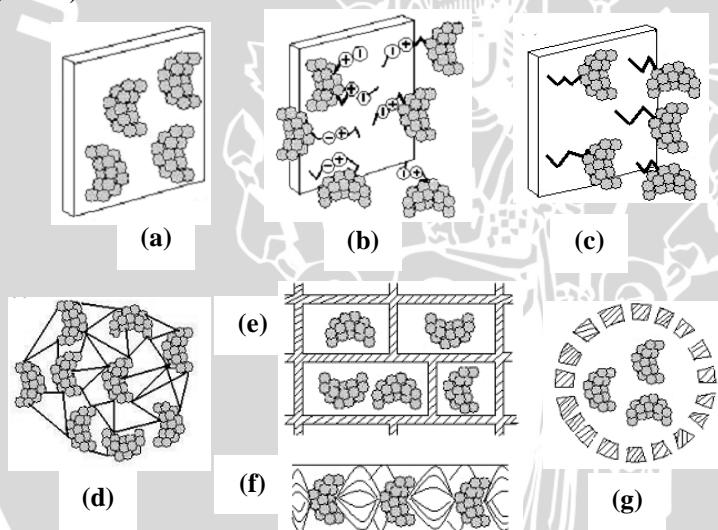
Metode ikatan silang didasarkan pada pembentukan ikatan kovalen antara enzim dengan matriks dengan atau tanpa penambahan pereaksi pengikat silang. Pereaksi pengikat silang yang dapat digunakan antara lain adalah glutaraldehida, heksametilen diisosianat, diisosianat, glioksal, dan toluen diisosianat. Gugus fungsi enzim yang terikat secara ikatan silang adalah gugus amin dari lisin, tetapi gugus fungsi lain seperti gugus sulfhidril (-SH) dari sistein, gugus hidroksi (-OH) dari tirosin atau gugus imidazol dari histidin dapat berinteraksi pula dengan matriks. Kelemahan utama metode ini adalah terjadi perubahan konformasi enzim yang dapat menurunkan aktivitas enzim dan adanya distorsi dari konformasi enzim aktif selama terjadinya ikatan silang. Gambar 2.5 menunjukkan ikatan silang yang terjadi antara enzim dan membran melalui penggunaan pereaksi pengikat silang.

#### 2.1.2.5. Amobilisasi enzim secara penjebakan

Prinsip metode penjebakan enzim adalah menjebak suatu enzim ke dalam jaringan matriks. Berdasarkan Gambar 2.5, metode ini dilakukan dengan mencampurkan enzim atau bioreseptor dengan suatu polimer kemudian dilakukan proses ikatan silang pada polimer sehingga membentuk struktur kisi yang dapat menjebak enzim. Penjebakan enzim dalam polimer dapat menghambat terjadinya difusi enzim. Amobilisasi enzim secara penjebakan dapat diikuti dengan elektropolimerisasi yang menyebabkan enzim akan diikat oleh elektropolimer yang terbentuk. Metode ini memiliki lifetime hingga 3-4 minggu.

#### 2.1.2.6. Amobilisasi enzim secara mikrokapsul

Pada metode ini, enzim dijebak di antara media amobilisasi dan tranduser, sehingga kontak antara media amobilisasi dan tranduser menjadi dekat. Enzim mikrokapsul terbentuk dengan memasukkan larutan enzim ke dalam membran polimer semipermeabel. Kelebihan metode ini adalah adanya luas permukaan yang lebar antara analit dengan enzim sehingga hanya diperlukan sedikit volume larutan enzim. Namun pada metode ini dapat terjadi enzim yang non-aktif akibat proses mikrokapsulasi sehingga dibutuhkan konsentrasi larutan enzim yang besar untuk menghindarinya. Selain itu perlu digunakan membran dengan ukuran pori yang sangat kecil untuk mengurangi terjadinya difusi. Metode ini stabil terhadap perubahan suhu, pH, kekuatan ionik dan komposisi kimia. Metode ini ditunjukkan pada Gambar 2.5 (Costa, *et al.*, 2005).



**Gambar 2.5.** Amobilisasi enzim secara (a) adsorpsi; (b) interaksi ionik; (c) ikatan kovalen; (d) ikatan silang; (e) penjebakan pada matriks; (f) penjebakan pada jaringan dan (g) mikrokapsul (Costa, *et al.*, 2005)

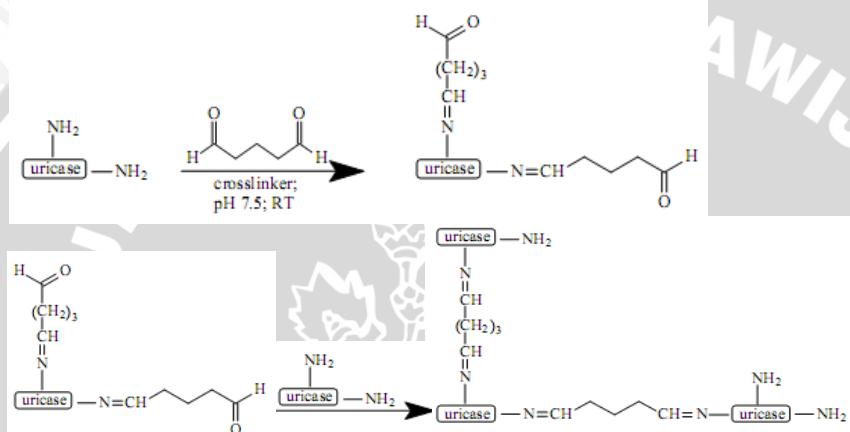
Metode amobilisasi secara adsorpsi banyak digunakan untuk menjaga aktivitas dan stabilitas enzim. Stabilitas enzim menunjukkan kestabilan kinerja enzim dalam kondisi reaksi yang optimal. Pada metode amobilisasi adsorpsi, kondisi optimal lingkungan perlu

diperhatikan untuk memperoleh hasil amobilisasi enzim yang bagus. Perlakuan ini dilakukan untuk menghindari banyaknya aktivitas enzim yang hilang akibat pembentukan endapan enzim saat proses amobilisasi berlangsung. Beberapa faktor yang menentukan kondisi optimum proses amobilisasi dan aktivitas enzim amobil adalah konsentrasi dan sifat alami enzim, konsentrasi dan sifat alami pereaksi pengikat-silang, pH, kekuatan ion, suhu dan waktu respon (Coutinho, 2009).

Metode amobilisasi secara adsorpsi membutuhkan perlakuan sebelum dilakukan proses amobilisasi (Costa, *et al.*, 2005). Perlakuan tersebut dapat dilakukan baik pada media amobilisasi maupun pada enzim bebas. Salah satu perlakuan pada enzim dapat dilakukan dengan mengubah struktur dan ukuran enzim menggunakan pereaksi pengikat silang untuk mengikat kuat antarenzim tanpa mengubah sisi aktif enzim. Dengan demikian akan menghasilkan ukuran makromolekul yang sesuai dengan pori media amobilisasi. Salah satu pereaksi pengikat silang yang dapat digunakan adalah glutaraldehida. Pada penelitian ini akan dilakukan amobilisasi urikase pada pori-pori dan permukaan membran *nata de coco* secara adsorpsi.

Konsentrasi dan sifat alami pereaksi pengikat-silang merupakan salah satu faktor yang menentukan kondisi optimum proses amobilisasi dan aktivitas enzim yang teramobilkan. Salah satu pereaksi pengikat-silang adalah glutaraldehida (Coutinho, 2009). Glutaraldehida, 5-karbon dialdehid, merupakan senyawa organik dengan struktur linier, berupa cairan bening berwarna kuning putus dan berbau tajam serta larut dengan baik dalam air, alkohol dan senyawa organic (Okuda, *et al.*, 1991). Pada pH netral dan basa, glutaraldehida bersifat sangat reaktif terhadap gugus amin pada protein. Reaksi tersebut menghasilkan basa schiff. Selain itu, glutaraldehida bersifat reaktif dengan gugus fungsi yang bersifat nukleofilik pada protein, seperti tiol, fenol dan imidazol. Glutaraldehida seringkali digunakan dalam amobilisasi enzim secara adsorpsi dan ikatan silang (Migneault, *et al.*, 2004). Glutaraldehida dapat digunakan untuk memodifikasi ukuran enzim. Pada amobilisasi urikase, adanya glutaraldehida dapat membentuk makromolekul melalui reaksi ikatan silang antara glutaraldehida dengan urikase yang ditunjukkan oleh Gambar 2.6. Reaksi ikatan silang glutaraldehida dengan urikase akan menghasilkan ukuran molekul urikase yang semakin besar. Pembentukan ukuran urikase yang tepat akan memaksimalkan jumlah urikase yang teramobilkan pada

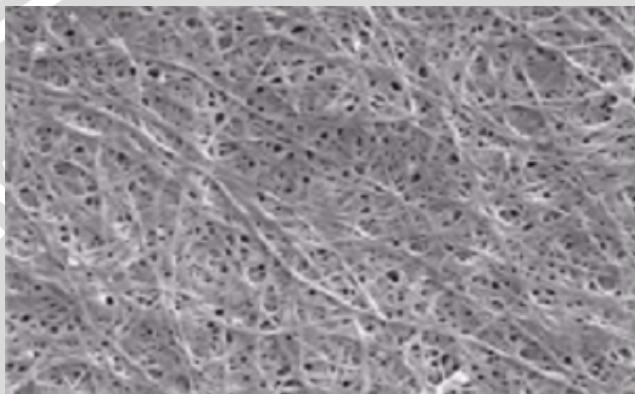
permukaan dan pori-pori media amobilisasi sehingga dapat meningkatkan kinerja biosensor. Menurut Shi, *et al.*, (2010), jumlah glutaraldeida yang digunakan berpengaruh terhadap kinerja biosensor. Aktivitas enzim amobil akan meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi larutan glutaraldeida. Namun aktivitas enzim akan menurun saat konsentrasi glutaraldeida telah berlebih. Hal ini disebabkan oleh terjadinya denaturasi enzim dan penutupan sisi aktif enzim oleh glutaraldeida.



**Gambar 2.6.** Reaksi ikatan silang antara glutaraldeida dan urikase (Schrenkhammer, 2008).

Media amobilisasi berperan sebagai tempat terikatnya enzim yang teramobilkan (Worsfold, 1995). Salah satu media amobilisasi enzim adalah *nata de coco*. *Nata de coco* merupakan bakterial selulosa yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* pada proses fermentasi air kelapa (Afrizal, 2007). Komponen kimia yang utama dari *nata de coco* adalah selulosa yang mengandung unit ulangan berupa monosakarida, D-glukosa, yang dihubungkan oleh ikatan glikosida dalam konformasi  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 (Ishihara and Yamanaka, 2003; Chawla, *et al.*, 2009). *Nata de coco* memiliki daya serap air yang tinggi, mempunyai ukuran pori 0,08 – 0,09  $\mu\text{m}$ , kerapatan antara 300 hingga 900 kg/m<sup>3</sup>, kemurnian tinggi, mempunyai ikatan hidrogen antar rantai dalam selulosa yang kuat, bersifat elastis dan mudah terbiodegradasi (Chawla, *et al.*, 2009; Piluharto, 2003 dan Wanichapichart, *et al.*, 2003). Selain itu *nata de coco* memiliki toksisitas yang rendah dan mudah dibuat dengan biaya yang sedikit serta dapat digunakan sebagai matriks pendukung dalam amobilisasi

biomolekul (Rezaee, *et al.*, 2008). Adanya pori-pori pada membran *nata de coco* memungkinkan enzim dapat teramobilkan secara adsorpsi. Struktur membran *nata de coco* ditunjukkan pada Gambar 2.7. Berdasarkan kajian mengenai sifat fisik maupun kimia beserta kelebihan membran selulosa, maka *nata de coco* dapat dijadikan sebagai media amobilisasi enzim dalam biosensor.



**Gambar 2.7.** Foto SEM (*Scanning Electron Microscopy*) membran *nata de coco* (Wanichapichart, *et al.*, 2003)

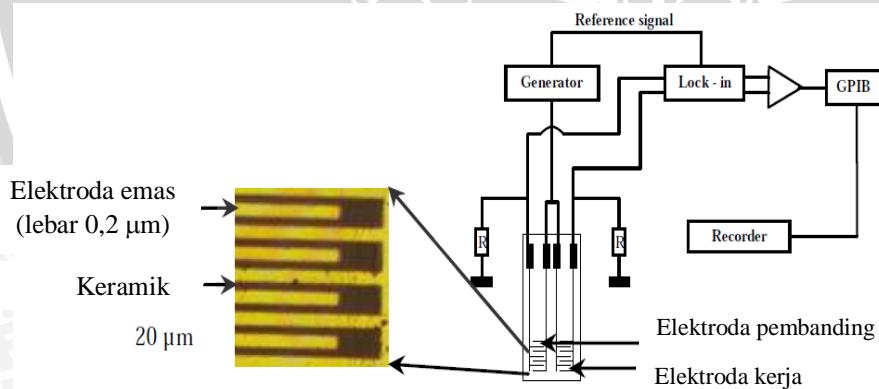
## 2.2. Biosensor Konduktometri

Biosensor konduktometri sederhana tersusun atas biorseptor seperti enzim yang teramobilkan pada suatu media amobilisasi dan terintegrasi dengan suatu tranduser, misalnya sel daya hantar. Tranduser konduktometri terdiri dari dua elektroda yakni elektroda kerja berlapis media amobilisasi yang memakai biorseptor dan elektroda pembanding berlapis media amobilisasi tanpa menggunakan biorseptor. Baik elektroda kerja maupun elektroda pembanding dapat berupa kawat logam platina, emas, paladium, silikon atau karbon gelas. Selanjutnya biosensor konduktometri tersebut dihubungkan dengan penguat daya dan detektor (Eggins, 2002; Vermeeren, 2008 dan Berezhetsky, 2007).

Biosensor konduktometri memiliki karakteristik antara lain mengukur perubahan daya hantar atau konduktivitas akibat perubahan muatan atau perubahan jumlah ion dalam larutan analit, hasil keluaran berupa daya hantar atau konduktivitas, selektifitas pengukuran ini didasarkan pada kemampuan enzim untuk bereaksi secara spesifik dengan analit yang akan dideteksi (Sheppard and Anthony, 1998 dan Nicole and Dzyadevych, 2008).

Pertama kali penelitian mengenai biosensor konduktometri dilakukan oleh Chin dan Kroontje pada tahun 1961 untuk penentuan urea. Prinsip kerja biosensor ini didasarkan pada perbedaan nilai daya hantar larutan urea dengan larutan ammonium karbonat sebagai hasil reaksi hidrolisis urea oleh enzim urease. Kisaran konsentrasi urea yang dapat dideteksi berkisar antara  $0,1 \mu\text{M}$  –  $2 \text{ mM}$  pada pH 7.

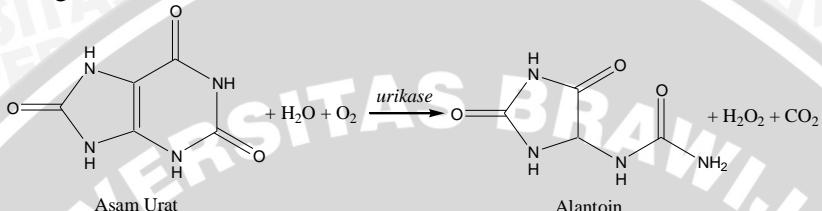
Pengembangan biosensor konduktometri juga telah dilakukan untuk penentuan pestisida (herbisida) diuron dan atrazin menggunakan enzim tirosinase. Gambar 2.8 menunjukkan rancangan biosensor konduktometri karya Nicole dan Dzyadevych (2008) untuk penentuan pestisida tersebut. Biosensor tersebut terdiri atas sepasang elektroda kerja dan sepasang elektroda pembanding yang terbuat dari emas dengan lebar  $0,2 \mu\text{m}$ . Kedua elektroda emas tersebut terintegrasi dengan media keramik sebagai media amobilisasi enzim. Selanjutnya biosensor konduktometri pestisida ini terhubung dengan generator sebagai penguat sinyal dan komponen pemroses sinyal hingga dihasilkan data yang ditunjukkan oleh detektor (*recorder*). Kinerja terbaik biosensor konduktometri pestisida ditunjukkan oleh penggunaan enzim tirosinase untuk penentuan kadar diuron dan atrazin dalam pestisida. Karakter biosensor tersebut memiliki waktu respon pada 30 menit, batas deteksi 2,3 hingga 2330 ppb untuk diuron dan 2,15 hingga 2150 ppb untuk atrazin serta *lifetime* hingga 23 hari.



**Gambar 2.8.** Desain biosensor konduktometri (Nicole and Dzyadevych, 2008)

### 2.3. Biosensor Asam Urat

Biosensor asam urat merupakan biosensor yang digunakan untuk menentukan kadar asam urat. Biosensor ini didasarkan pada reaksi oksidasi asam urat yang dikatalisis oleh urikase teramobilkan menghasilkan allantoin,  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Zhao *et al.*, 2009).



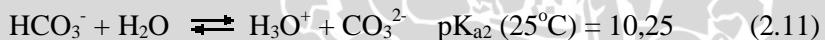
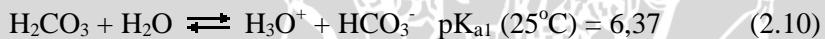
**Gambar 2.17.** Reaksi oksidasi asam urat oleh enzim urikase  
(Zhao, *et al.*, 2009)

Beberapa penelitian mengenai biosensor asam urat yang telah dikembangkan adalah biosensor asam urat menggunakan tranduser potensiometri, amperometri dan konduktometri, serta biosensor optik. Pengembangan biosensor asam urat yang didasarkan pada pengukuran  $\text{H}_2\text{O}_2$  adalah biosensor asam urat secara amperometri dan optik. Penelitian yang dilakukan oleh Arslan (2008) adalah menggunakan biosensor asam urat secara amperometri dengan mengamobilisasi urikase secara pencelupan menggunakan glutaraldehida ke dalam lapisan polianilin-polipirol (pani-ppy) pada permukaan elektroda Pt. Penentuan asam urat dilakukan berdasarkan reaksi oksidasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  secara enzimatis pada potensial 0,4 volt dan pH 9,0 dan suhu 55°C. Biosensor amperometri asam urat ini dapat mendekripsi pada kisaran konsentrasi  $2,5 \times 10^{-6}$  hingga  $8,5 \times 10^{-5}$  M dan waktu respon pada 70 detik. Sedangkan Schrenkhamer (2008) menentukan kadar asam urat menggunakan biosensor optik yang didasarkan pada reaksi oksidasi tiamin yang tidak berfluorosensi oleh adanya  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Metode amobilisasi urikase yang digunakan adalah metode ikatan silang dengan glutaraldehida 0,50% pada temperatur kamar dan dalam larutan buffer pH 7,5.

Biosensor asam urat yang dikembangkan berdasarkan pada deteksi  $\text{CO}_2$  adalah biosensor asam urat secara potensiometri dan konduktometri. Biosensor potensiometri asam urat telah dikembangkan oleh Setiyawati (2008) dengan mendekripsi  $\text{CO}_2$  sebagai  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Biosensor ini menggunakan urikase yang teramobilkan secara adsorpsi pada membran kitosan dengan

penambahan glutaraldeida 1,50% (w/v) dengan ketebalan membran sebesar 0,015 mm pada pH 9,0. Penelitian tersebut menghasilkan kisaran konsentrasi antara 0-25 ppm, batas deteksi 9,487, waktu respon 4,5 menit, dan efisiensi pemakaian biosensor sebanyak 16 kali. Biosensor asam urat yang dikembangkan oleh Karlinatasa (2010) secara konduktometri dilakukan dengan mengukur daya hantar ion-ion  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{CO}_3^{2-}$  hasil disosiasi  $\text{H}_2\text{CO}_3$  dalam larutan asam urat menggunakan urikase amobil secara langsung pada membran *nata de coco* melalui proses amobilisasi adsorpsi fisik dengan glutaraldeida pada elektroda Pt. Kinerja biosensor konduktometri asam urat yang baik diperoleh pada ketebalan membran *nata de coco* sebesar 2,40 mm, kepekaan 14,98 nmho/ppm, batas deteksi 5,12 ppm dan kisaran konsentrasi maksimal 1-5 ppm.

Biosensor asam urat dapat dikembangkan secara konduktometri. Molekul  $\text{CO}_2$  sebagai hasil oksidasi asam urat akan membentuk asam karbonat ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) dalam air. Kelarutan  $\text{CO}_2$  dalam air pada temperatur kamar adalah sebesar  $90 \text{ cm}^3/100 \text{ ml air}$  (Reid, *et al.*, 1987). Asam karbonat merupakan asam lemah yang dapat terionisasi dalam dua tahap (Takeuchi, 2008):



Spesies bermuatan hasil ionisasi asam karbonat berupa  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , dan  $\text{CO}_3^{2-}$  memiliki konduktivitas ion molar berturut-turut sebesar 349,6 mho-cm<sup>2</sup>/mol; 44,5 mho-cm<sup>2</sup>/mol; dan 138,6 mho-cm<sup>2</sup>/mol (Coury, 1999). Spesies bermuatan tersebut akan menghantarkan listrik sehingga dapat ditentukan konsentrasiannya secara konduktometri. Terbentuknya  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{CO}_3^{2-}$  akan menyebabkan perubahan daya hantar yang sebanding dengan konsentrasi asam urat dalam larutan. Kelarutan  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{CO}_3^{2-}$  dipengaruhi oleh pH larutan. Pada pH yang lebih kecil dari 6,37 dan lebih besar dari 10,25, molekul  $\text{CO}_2$  banyak terdapat dalam bentuk  $\text{CO}_2$  terlarut dan  $\text{CO}_3^{2-}$ . Pada kisaran pH antara 6,37 sampai 10,25,  $\text{CO}_2$  terlarut dalam bentuk  $\text{HCO}_3^-$ . Pada pH 7,5 ini, asam karbonat terdisosiasi lebih banyak menghasilkan ion  $\text{HCO}_3^-$  dan  $\text{H}^+$  sehingga diperkirakan sebagian besar ion yang bertindak memberikan daya hantar adalah ion  $\text{HCO}_3^-$ .

Kinerja biosensor konduktometri asam urat dipengaruhi oleh jumlah urikase yang teramobilkan. Menurut persamaan Michaelis-Menten, jumlah urikase amobil berbanding lurus dengan laju reaksi oksidasi asam urat sehingga dapat meningkatkan hasil reaksi. Jumlah urikase amobil dipengaruhi oleh metode amobilisasi enzim yang digunakan. Salah satu metode amobilisasi enzim adalah metode adsorpsi enzim. Ukuran molekul urikase yang sesuai dengan ukuran pori membran *nata de coco* akan memaksimalkan jumlah urikase yang teramobilkan. Ukuran molekul urikase dapat dimodifikasi dengan memperbesar ukuran molekul urikase melalui pembentukan ikatan silang antar enzim dengan glutaraldehida. Berdasarkan Gambar 2.6, maka diperkirakan jumlah glutaraldehida yang digunakan mempengaruhi jumlah ikatan silang urikase-glutaraldehida yang dihasilkan sehingga mempengaruhi ukuran molekul urikase-glutaraldehida yang terbentuk. Ukuran polimer urikase-glutaraldehida yang besar mengindikasikan jumlah enzim yang teramobilkan berjumlah besar. Dengan demikian jumlah glutaraldehida yang digunakan mempengaruhi ukuran molekul urikase-glutaraldehida yang terbentuk. Namun penggunaan glutaraldehida yang berlebih dapat menurunkan aktivitas enzim sehingga jumlah glutaraldehida perlu diatur agar dapat memaksimalkan kinerja biosensor ini. Kinerja biosensor konduktometri asam urat dipelajari berdasarkan pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kinerja biosensor. Dari kurva hubungan antara konsentrasi glutaraldehida dan daya hantar, maka dapat diketahui kepekaan, batas deteksi dan kisaran konsentrasi, waktu respon dan efisisensi biosensor konduktometri asam urat.

## 2.4. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka, peningkatan konsentrasi glutaraldehid dapat meningkatkan kepekaan biosensor konduktometri asam urat.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Biokimia, dan Kimia Instrumen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2010.

#### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1. Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi inkubator (merek *Heraeus* tipe B-5042), *centrifuge* dingin (merek *Jouan* tipe MR 18-22), *autoclave* (merek *All American Model 25X*), *shaker* (merek *Edmund* tipe 25), penangas air (merek *Memert NR 900660*), pH meter (merek *Schoot-Gerate* tipe CG.820), neraca analitik Mettler (tipe AE 50), pengaduk magnetik Ikamag RH, multimeter, kawat platina, dan peralatan gelas.

##### 3.2.2. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim urikase hasil isolasi dari *Candida utilis*, asam urat, sukrosa, natrium bikarbonat anhidrat ( $\text{NaHCO}_3$ ), tembaga (II) sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ), natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ), natrium kalium tartrat ( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ), asam asetat glasial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 85%, glisin, ekstrak *yeast*, air kelapa, starter nata, ammonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), larutan glutaraldehid 25% dan akuades.

#### 3.3. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian meliputi preparasi alat dan bahan, pembuatan biosensor konduktometri asam urat dan pengujian biosensor konduktometri asam urat. Preparasi alat dan bahan meliputi pembuatan larutan, isolasi urikase dari *Candida utilis* dan pembuatan membran *nata de coco*. Pembuatan biosensor konduktometri asam urat meliputi pembuatan sel daya hantar dari kawat platina, pelapisan elektroda platina dengan membran *nata de coco*, dan amobilisasi urikase dengan penggunaan glutaraldehida berbagai konsentrasi. Pengujian biosensor konduktometri asam urat

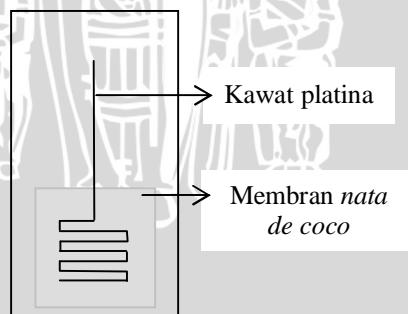
meliputi pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan sel daya hantar tanpa dilapisi membran *nata de coco*, pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan sel daya hantar yang dilapisi membran *nata de coco*, pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan biosensor konduktometri dan pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan biosensor optimum. Biosensor konduktometri asam urat digunakan pada pengukuran daya hantar larutan asam urat pada pH 7,5 selama 480 detik.

### 3.4. Cara Kerja Penelitian

#### 3.4.1. Preparasi alat dan bahan (Lampiran 1-2)

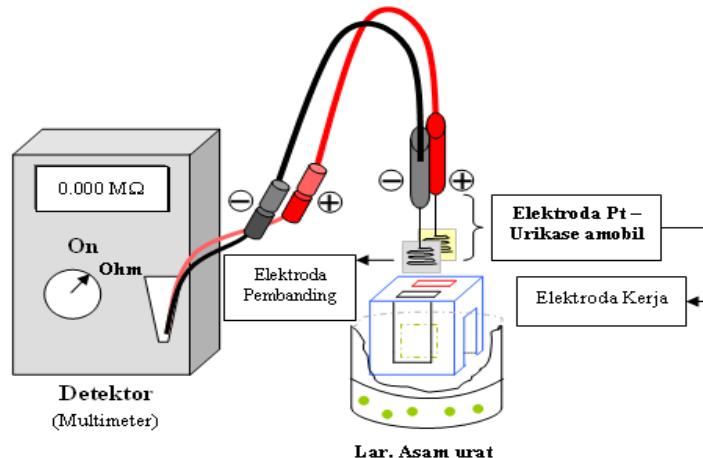
#### 3.4.2. Pembuatan biosensor konduktometri asam urat

Kawat platina dipotong sepanjang 5 cm dan dibuat bentuk seperti yang ditunjukkan Gambar 3.1, dengan lebar 0,5 cm dan lebar lekukan 0,1 cm sebanyak 6 lekukan. Bagian ujung kawat dibuat lurus dengan panjang  $\pm$  1,5 cm. Kedua elektroda (a dan b) dilapisi dengan membran *nata de coco* basah dengan ketebalan 5  $\mu\text{m}$  dan dikeringkan pada suhu 50°C selama  $\pm$  15 menit. Disiapkan 7 tabung masing-masing berisi 2 mL larutan urikase dengan pH 8,5. Masing-masing larutan ditambahkan glutaraldehida dengan konsentrasi 0,00% ; 0,25% ; 0,50% ; 0,75% ; 1,00% ; 1,25% dan 1,50% sebanyak 1 tetes. Elektroda (a) dimasukkan ke dalam larutan urikase di atas. Amobilisasi urikase dilakukan selama 24 jam pada suhu  $\pm$  4°C.



Gambar 3.1. Elektroda platina berlapis membran *nata de coco*

Kedua elektroda (a dan b) dihubungkan dengan multimeter. Elektroda (a) dihubungkan dengan kutub positif (anoda), sedangkan elektroda (b) dihubungkan dengan kutub negatif (katoda) sehingga dihasilkan biosensor konduktometri asam urat. Rancangan biosensor konduktometri asam urat ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Rancangan biosensor konduktometri asam urat

### 3.4.3. Pengujian biosensor konduktometri asam urat

Untuk mengetahui kinerja biosensor maka dilakukan pengujian terhadap biosensor konduktometri asam urat yang dapat diuraikan sebagai berikut:

- Pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan sel daya hantar tanpa dilapisi membran nata de coco*  
Diukur daya hantar larutan asam urat 0 ; 1 ; 5 ;10 ; 15 ; 20; 25 ; 30 ; 35 dan 40 ppm pada pH 7,5 menggunakan sel daya hantar tanpa dilapisi membran *nata de coco*. Daya hantar diamati dan dicatat setiap 30 detik selama 600 detik.
- Pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan sel daya hantar yang dilapisi membran nata de coco*  
Diukur daya hantar larutan asam urat 0 ; 1 ; 5 ;10 ; 15 ; 20; 25 ; 30 ; 35 dan 40 ppm pada pH 7,5 menggunakan sel daya hantar yang dilapisi membran *nata de coco*. Daya hantar diamati dan dicatat setiap 30 detik selama 600 detik.

- c. Pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan biosensor konduktometri

Diukur daya hantar larutan asam urat 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20; 25 ; 30 ; 35 dan 40 ppm pada pH 7,5 menggunakan biosensor konduktometri asam urat dengan penggunaan konsentrasi glutaraldehida 0,00% ; 0,25% ; 0,50% ; 0,75%; 1,00% ; 1,25% dan 1,50%. Daya hantar diamati dan dicatat setiap 30 detik selama 600 detik. Pengukuran daya hantar oleh biosensor asam urat dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

- d. Pengukuran daya hantar larutan asam urat menggunakan biosensor optimum

Diujicoba biosensor konduktometri asam urat dengan penggunaan glutaraldehida 1,50%. Diukur daya hantar larutan asam urat 0 ; 15 ; 20 ; 23 ; 26 ; 29 ; 32 ; 35 dan 40 ppm pada pH 7,5 menggunakan biosensor tersebut. Daya hantar diamati dan dicatat setiap 30 detik selama 600 detik. Pengukuran daya hantar oleh biosensor asam urat dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### 3.4.4. Pengolahan data

#### 3.4.4.1. Pengaruh konsentrasi glutaraldehida

- a. Penentuan kepekaan

Dibuat kurva hubungan konsentrasi larutan asam urat terhadap selisih daya hantar. Dihitung selisih daya hantar antara daya hantar (c) dengan daya hantar (b). Ditentukan persamaan garis ( $Y = aX + b$ ) dari kurva di atas. Diambil titik-titik yang mempunyai hubungan lurus antara konsentrasi larutan asam urat terhadap selisih daya hantar. Kepekaan biosensor ditunjukkan oleh kemiringan garis kurva di atas. Kemiringan garis ditunjukkan oleh nilai  $a$ .

- b. Kisaran konsentrasi

Dari kurva di atas (3.4.4.1.a), ditentukan daerah linier dan non linier. Daerah linier ditentukan dari titik-titik yang mempunyai hubungan lurus antara konsentrasi larutan asam urat terhadap selisih daya hantar. Kisaran konsentrasi ditentukan dari daerah linier kurva di atas.

### 3.4.4.2. Karakterisasi biosensor optimum

#### a. Penentuan kepekaan

Dibuat kurva hubungan konsentrasi larutan asam urat terhadap daya hantar ( $d$ ). Ditentukan persamaan garis ( $Y = aX + b$ ) dari kurva di atas. Diambil titik-titik yang mempunyai hubungan lurus antara konsentrasi larutan asam urat terhadap daya hantar. Kepekaan biosensor ditunjukkan oleh kemiringan garis kurva di atas. Kemiringan garis ditunjukkan oleh nilai  $a$ .

#### b. Kisaran konsentrasi dan batas deteksi

Dari kurva di atas (3.4.4.2.a) ditentukan daerah linier dan non linier. Daerah linier ditentukan dari titik-titik yang mempunyai hubungan lurus antara konsentrasi larutan asam urat terhadap selisih daya hantar. Kisaran konsentrasi ditentukan dari daerah linier kurva di atas. Batas deteksi ditentukan dari titik potong persamaan garis daerah linier dan persamaan garis daerah non linier. Nilai batas deteksi ditentukan dengan cara mengekstrapolasikan titik potong garis singgung pada sumbu X. Nilai absis (sumbu X) dari titik potong menunjukkan batas deteksi biosensor.

#### c. Waktu respon

Dibuat kurva hubungan antara waktu terhadap selisih daya hantar pada kisaran konsentrasi biosensor. Dihitung selisih daya hantar antara daya hantar ( $d$ ) dengan daya hantar ( $b$ ). Dari kurva tersebut ditentukan waktu pada saat daya hantar larutan asam urat mulai memberikan harga yang relatif tetap. Waktu respon ditunjukkan oleh harga daya hantar yang relatif tetap.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Biosensor konduktometri asam urat diuji menggunakan larutan asam urat 0 – 40 ppm pada pH 7,5 selama 10 menit. Hasil pengukuran daya hantar disampaikan pada Tabel 4.1. Dari data tersebut diketahui bahwa daya hantar hasil pengukuran sel daya hantar (tanpa membran *nata de coco*) menghasilkan daya hantar yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi asam urat. Akan tetapi dengan adanya membran *nata de coco* pada kedua elektroda dapat menghasilkan penurunan daya hantar, dan berbanding terbalik terhadap konsentrasi asam urat. Daya hantar hasil pengukuran dengan biosensor konduktometri asam urat (tanpa glutaraldehida) berbanding terbalik terhadap kenaikan konsentrasi asam urat. Daya hantar tersebut bernilai lebih kecil dibandingkan daya hantar sel daya hantar berlapis membrane *nata de coco*. Hal tersebut dapat dijelaskan seperti di bawah ini.

**Tabel 4.1.** Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat oleh (A) sel daya hantar; (B) sel daya hantar berlapis membran *nata de coco* dan (C) biosensor konduktometri asam urat – 0,00% glutaraldehida

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar (nmho)			
	(A)	(B)	(C)	(C) – (B)
25	2242,15	166,67	47,49	-119,18
30	2994,01	147,71	45,72	-101,99
35	3512,47	128,37	44,20	-84,17

Di dalam larutan asam urat terdapat ion  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{OH}^-$  dan ion urat. Jumlah ion urat dan  $\text{HCO}_3^-$  berbanding lurus terhadap kenaikan konsentrasi asam urat, sehingga menghasilkan peningkatan daya hantar. Akan tetapi daya hantar larutan hasil pengukuran sel daya hantar yang dilapisi membran *nata de coco* menghasilkan penurunan terhadap kenaikan konsentrasi asam urat. Penurunan daya hantar tersebut disebabkan oleh adanya membran *nata de coco* yang dapat menghalangi difusi ion-ion di atas ke permukaan elektroda. Penurunan daya hantar juga disebabkan oleh adanya halangan ion urat terhadap difusi ion-ion yang lain. Ukuran ion urat diperkirakan lebih besar dibandingkan ukuran ion-ion yang lain, sehingga ion urat menghalangi difusi ion-ion yang lain ke permukaan elektroda. Saat konsentrasi asam urat meningkat,

maka jumlah ion urat juga meningkat. Hal ini mengakibatkan halangan ion urat terhadap difusi ion-ion yang lain menjadi lebih besar, sehingga hanya sedikit ion yang sampai ke permukaan elektroda. Dengan demikian daya hantar yang terukur lebih rendah.

Pada biosensor konduktometri asam urat, penurunan daya hantar disebabkan oleh ion-ion yang sampai di permukaan elektroda terhalang oleh molekul urikase amobil pada membran *nata de coco*. Dengan demikian daya hantar larutan asam urat lebih kecil. Pada biosensor ini, sebagian ion urat telah dioksidasi oleh urikase amobil, sehingga halangan ion urat terhadap difusi ion-ion yang lain berkurang. Akan tetapi, hasil reaksi oksidasi asam urat (alantoin dan  $H_2O_2$ ) menutupi pori-pori membran, sedangkan  $CO_2$  akan terdifusi ke permukaan elektroda dan terdeteksi oleh tranduser sebagai ion  $HCO_3^-$  dan  $H^+$ . Dengan demikian, jumlah ion-ion dan  $CO_2$  yang terdifusi ke permukaan elektroda relatif kecil sehingga daya hantar menjadi rendah. Akan tetapi selisih daya hantar antara daya hantar hasil pengukuran biosensor dengan sel daya hantar berlapis membran *nata de coco* adalah berbanding lurus terhadap kenaikan konsentrasi larutan asam urat. Selisih daya hantar tersebut menunjukkan nilai daya hantar hasil reaksi oksidasi asam urat. Jumlah hasil reaksi tersebut berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi larutan asam urat sehingga menghasilkan peningkatan nilai daya hantar terhadap kenaikan konsentrasi asam urat.

#### **4.1. Pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat**

Hasil pengukuran biosensor konduktometri asam urat pada berbagai konsentrasi glutaraldehida ditunjukkan pada Tabel 4.2. Berdasarkan Tabel tersebut diketahui bahwa konsentrasi glutaraldehida berpengaruh terhadap kepekaan biosensor. Berdasarkan Tabel 4.2, terlihat bahwa jumlah urikase amobil dalam biosensor tanpa penggunaan glutaraldehida (0,00%) hingga 1,25% mempunyai jumlah urikase amobil sangat rendah dan bernilai relatif sama. Jumlah urikase amobil tersebut jauh lebih kecil dibandingkan dengan jumlah urikase amobil pada biosensor dengan glutaraldehida 1,50%. Hal ini disebabkan oleh ketidaksesuaian antara ukuran molekul urikase dengan ukuran pori membran *nata de coco*. Pada biosensor tanpa penggunaan glutaraldehida, molekul urikase tidak berikat silang dengan molekul urikase yang lain. Ukuran molekul

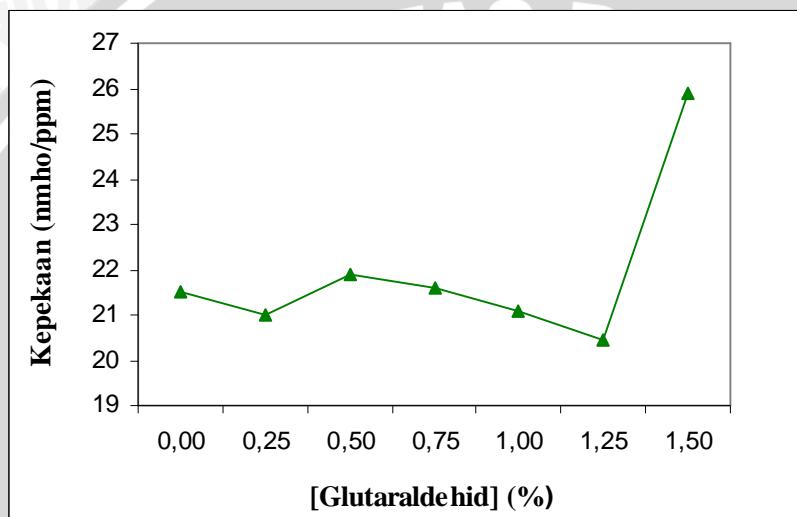
urikase lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran *nata de coco*, sehingga molekul urikase mudah terlepas dari pori-pori membran. Pada biosensor dengan penggunaan glutaraldehida 0,25% hingga 1,25%, molekul urikase yang teramobilkan telah berikat silang dengan molekul urikase yang lain. Hal ini menyebabkan ukuran molekul urikase yang teramobilkan lebih besar dibandingkan ukuran molekul urikase bebas. Namun, ukuran molekul urikase yang termobilkan diperkirakan lebih kecil dibandingkan ukuran pori-pori membran *nata de coco*. Molekul urikase amobil tersebut mudah terlepas dari pori-pori membran *nata de coco*. Oleh karena jumlah urikase amobil sangat sedikit, maka oksidasi asam urat tidak sempurna. Hal ini mengakibatkan jumlah CO<sub>2</sub> yang terdifusi ke permukaan elektroda juga rendah. Oleh karena itu biosensor tersebut menghasilkan kepekaan yang relatif rendah (Gambar 4.1).

**Tabel 4.2.** Pengaruh konsentrasi glutaraldehida terhadap kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri asam urat serta jumlah enzim yang teramobilkan pada kisaran konsentrasi asam urat 20 – 35 ppm

[Glutaraldehida] (% b/v)	Kepakaan (nmho/ppm)	Linieritas	Jumlah enzim yang teramobilkan (mg)
0,00	21,508	0,9774	0,225
0,25	20,983	0,9824	0,206
0,50	21,882	0,9837	0,470
0,75	21,581	0,9856	0,228
1,00	21,106	0,9818	0,593
1,25	20,447	0,9730	0,381
1,50	25,887	0,9850	2,995

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Gambar 4.1, biosensor konduktometri asam urat dengan penggunaan glutaraldehida 1,50% memberikan kinerja biosensor yang baik. Kinerja biosensor konduktometri asam urat dengan glutaraldehida 1,50% menghasilkan jumlah urikase amobil yang terbesar. Pada biosensor konduktometri asam urat dengan glutaraldehida 1,50%, diperkirakan interaksi molekul urikase dengan glutaraldehida telah menghasilkan ukuran molekul urikase yang sesuai dengan ukuran pori membran *nata de coco*. Hal ini mengakibatkan molekul urikase dapat teramobilkan secara optimal baik di permukaan membran maupun di pori-pori

membran *nata de coco*. Oleh karena jumlah urikase yang teramobilkan bernilai tinggi, sehingga dapat mengoptimalkan reaksi oksidasi asam urat. Jumlah hasil reaksi oksidasi asam urat tersebut tinggi, sehingga jumlah  $\text{CO}_2$  yang terdifusi ke permukaan elektroda juga tinggi. Dengan demikian biosensor dengan penggunaan glutaraldehida 1,50% menghasilkan kepekaan yang bernilai tinggi (Gambar 4.1).

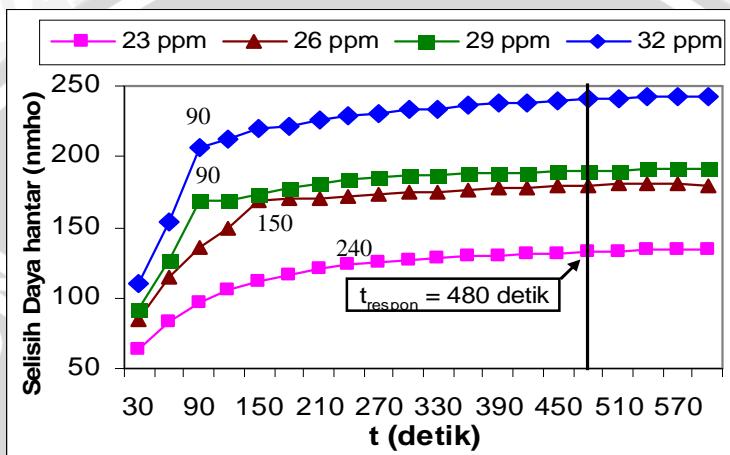


**Gambar 4.1.** Kurva hubungan konsentrasi glutaraldehida (%) terhadap kepekaan biosensor konduktometri asam urat (nmho/ppm)

Berdasarkan penelitian ini, diketahui bahwa konsentrasi glutaraldehida berpengaruh terhadap jumlah urikase amobil, sehingga secara tidak langsung dapat mempengaruhi kinerja biosensor. Kinerja biosensor yang baik dihasilkan oleh biosensor dengan penggunaan glutaraldehida 1,50%. Biosensor tersebut menghasilkan kepekaan biosensor sebesar 25,887 nmho/ppm pada kisaran konsentrasi antara 20 ppm hingga 35 ppm. Dengan demikian kinerja biosensor sangat dipengaruhi oleh jumlah enzim yang teramobilkan.

## 4.2. Karakterisasi Biosensor Konduktometri Asam Urat

Karakterisasi biosensor konduktometri asam urat dilakukan pada biosensor konduktometri asam urat dengan penggunaan glutaraldehida 1,50%. Parameter yang diuji meliputi waktu respon, kepekaan, kisaran konsentrasi, dan batas deteksi.



Gambar 4.2. Kurva Waktu Respon Biosensor

Waktu respon biosensor ditentukan dari kurva hubungan antara waktu pengukuran terhadap daya hantar larutan asam urat (Gambar 4.2), pada kisaran konsentrasi 23 – 32 ppm setiap 30 detik selama 10 menit. Waktu respon tercapai saat daya hantar menunjukkan nilai relatif tetap terhadap waktu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asam urat berpengaruh terhadap waktu respon. Berdasarkan Gambar 4.2, diketahui bahwa waktu respon berbanding terbalik dengan konsentrasi asam urat. Hal ini dapat dijelaskan berdasarkan persamaan Michaelis-Menten. Konsentrasi asam urat berbanding lurus terhadap laju reaksi oksidasi asam urat. Pada kondisi tersebut kesetimbangan difusi CO<sub>2</sub> lebih cepat tercapai, sehingga menghasilkan waktu respon yang relatif tetap. Gambar tersebut menunjukkan bahwa biosensor konduktometri asam urat memiliki waktu respon pada detik ke-480.

Berdasarkan Gambar 4.2, dapat dibuat kurva hubungan konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi (Lampiran 6). Kurva tersebut menghasilkan K<sub>M</sub> sebesar 201,35 ppm dan V<sub>maks</sub> sebesar 0,0608 μmol·menit<sup>-1</sup>. Secara analitis, pengukuran biosensor harus dilakukan di bawah daerah K<sub>M</sub>. Dengan demikian kisaran konsentrasi

(23 hingga 32 ppm) masih dapat diterima. Untuk memperbaiki kinerja biosensor, perlu diuji penggunaan kisaran konsentrasi asam urat hingga mendekati nilai  $K_M$ .

Kepekaan biosensor konduktometri asam urat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang digunakan (Tabel 4.3). Pada pemakaian 9 sampel yang pertama, biosensor mempunyai kepekaan yang rendah. Hal ini diperkirakan pori-pori membran *nata de coco* tertutupi oleh molekul urikase amobil, sehingga menghalangi difusi  $\text{CO}_2$  ke permukaan elektroda. Namun kepekaan biosensor meningkat setelah pemakaian 9 sampel ketiga (27 sampel). Pada pengukuran ketiga, biosensor ini mempunyai kepekaan yang paling tinggi, yaitu 71,212 nmho/ppm. Kepekaan biosensor tersebut lebih besar dibandingkan kepekaan biosensor saat optimasi glutaraldehida. Hal ini disebabkan oleh penggunaan volume larutan urikase yang berbeda. Volume urikase pada biosensor saat optimasi lebih kecil daripada biosensor saat karakterisasi. Dengan kata lain, jumlah urikase amobil pada biosensor saat optimasi lebih kecil daripada biosensor saat karakterisasi. Oleh karena itu untuk memperoleh kepekaan yang terbaik, sebelum digunakan dalam pengukuran daya hantar, maka biosensor perlu dikondisikan dalam larutan *buffer* 7,5 hingga diperoleh daya hantar tetap.

**Tabel 4.3.** Hubungan jumlah pengukuran, kepekaan dan kisaran konsentrasi

Jumlah Pengukuran	Kepekaan (nmho/ppm)	Kisaran konsentrasi
1 (9 sampel)	-1,921	23 – 32 ppm
2 (18 sampel)	1,169	23 – 32 ppm
3 (27 sampel)	<b>71,212</b>	23 – 32 ppm

Pada penelitian ini, diketahui bahwa konsentrasi glutaraldehida mempengaruhi jumlah urikase amobil, sehingga secara tidak langsung mempengaruhi kinerja biosensor. Kinerja biosensor yang baik ditunjukkan oleh biosensor dengan penggunaan glutaraldehida 1,50%. Biosensor tersebut mempunyai waktu respon 480 detik, kepekaan sebesar 71,212 nmho/ppm, kisaran konsentrasi 23 hingga 32 ppm dan batas deteksi 0,513 ppm. Untuk meningkatkan kinerja biosensor, perlu diuji penggunaan kisaran konsentrasi asam urat hingga mendekati nilai  $K_M$ . Sebelum digunakan dalam pengukuran daya hantar, biosensor perlu dikondisikan dalam larutan *buffer* 7,5 hingga diperoleh daya hantar yang tetap.

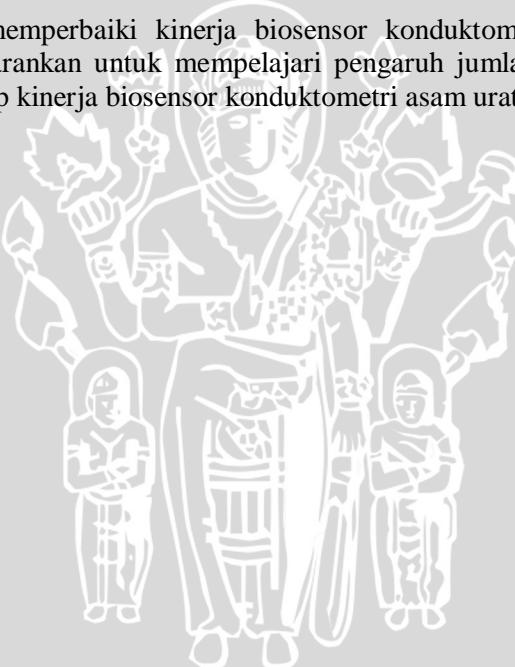
## BAB V PENUTUP

### 5.1. Kesimpulan

Konsentrasi glutaraldehida berpengaruh terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat. Kinerja biosensor yang baik dihasilkan pada penambahan glutaraldehida 1,50% (b/v). Pada kondisi tersebut, biosensor mempunyai waktu respon 480 detik, kepekaan sebesar 71,212 nmho/ppm, kisaran konsentrasi 23 – 32 ppm dengan batas deteksi sebesar 0,513 ppm.

### 5.2. Saran

Untuk memperbaiki kinerja biosensor konduktometri asam urat maka disarankan untuk mempelajari pengaruh jumlah urikase amobil terhadap kinerja biosensor konduktometri asam urat.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afrizal, 2008, Selulosa Bakterial *Nata De Coco* Sebagai Adsorban Pada Proses Adsorpsi Logam Cr(III), *J. Gradien*, **4** (1) : 308-313.
- Alamillo, J.M., J. Cárdenas and M. Pineda, 2003, Purification and molecular properties of urate oxidase from *Chlamydomonas reinhardtii*, *BBA*, **1076** (2) : 203-208.
- Antiochia, R. and L. Gorton, 2007, Development of A Carbon Nanotube Paste Electrode Osmium Polymer-Mediated Biosensor for Determination of Glucose in Alcohol Beverages, *Biosens. Bioelectron*, **22** : 2611-2617.
- Arslan, F., 2008, An Amperometric Biosensor for Uric Acid Determination Prepared From Uricase Immobilized in Polyaniline-Polypyrrole Film, *Sensors*, **9** : 5492-5500.
- Ayhan, F., H. Ayhan, E. Piskin, and A. Tanyolac, 2002, **Optimization of Urease Immobilization onto Non-porous HEMA Incorporated Poly (EGDMA) Microbeds and Estimation of Kinetic Parameters**, [online] <http://lib.Bioinfo.pl/pmid:11762905>. tanggal akses 20 April 2010.
- Berezhetskyy, M.A., 2007, Development of An Alkaline Phosphatase Based Conductometric Biosensors for An Assessment of Heavy Metal Ions in Water, Diplome of Doctor, University of Claude Bernard – Lyon I and Institute of Molecular Biology and Genetics (IMBG) of National Academy of Sciences of Ukraine (NASU).
- Chauhan, S., V. Rai and H. B. Singh, 2004, Biosensors, *Resonance Magz*, December 2004 : 33-44.
- Chawla, P.R., I.B. Bajaj, S.A. Survase, and R.S. Singal, 2009, Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications – A Review, *Food Technol. Biotechnol.*, **47** (2): 107-124.
- Chin, W.T. and W. Kroontje, 1961, Conductivity Method for Determination of Urea, *Anal. Chem.*, **33** : 1757-1760.

- Costa, S.A., H. S. Azevedo, and R. L. Reis, 2005, Chapter 17: Enzyme Immobilization in Biodegradable Polymers for Biomedical Applications, CRC Press LLC, 301-323.
- Coury, L., 1999, **Conductance Measurements**, [online] [www.currentseparations.com/issues/18-3/cs18-3c.pdf](http://www.currentseparations.com/issues/18-3/cs18-3c.pdf), tanggal akses : 8 Mei 2010.
- Coutinho, P., 2009, **Biocatalys Appliquée: Immobilized Biocatalysis**, <http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p199/1.InBioApp.pdf> tanggal akses 3 Mei 2010.
- Dialesi, A.D., 2010, Pengaruh pH terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Asam Urat Menggunakan Membran *Nata de coco*, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.
- Eggins, B.R., 2002, **Chemical Sensors And Biosensors**, John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex.
- Gent, J. and D. Saucedo, 2002, **Enzyme Kinetics**, [online] <http://dept.physics.upenn.edu/courses/gladney/mathphys/subsection416.html> tanggal akses 20 April 2010.
- Ghouchian, H., A.M. Rad, and H. Elyavandi, 2004, A Conductometric Urea Biosensor By Direct Immobilization Of Urease On Pt Electrode, *Iran J. Chem. & Chem. Eng.*, **23** (2) : 55-56.
- Grieshaber, D., R. MacKenzie, J. Voros, dan E. Reimhult, 2008, Electrochemical Biosensors, Principles And Architectures, *Sensor*, **8** :1400-1458.
- Gupta, N., S. Sharma, I. A. Mir, and D. Kumar, 2006, Advances in Sensor Based on Conducting Polymer, *J. Sci. & Ind. Research*, **65**, pp.549-557.
- Gustian, I., T.D. Sutanto, M. Adfa, 2006, Efek Perendaman Larutan Alkali Terhadap Prilaku Film Kertas Dari *Nata De Coco* Yang Dimodifikasi, *J. Gradien*, **2** (1) : 126-129.
- Ishihara, M. and S. Yamanaka, 2003, Modified Bacterial Cellulose, *US Patent*, US 6,627,419 B2.
- Worsfold, P.J., 1995, Classification and Chemical Characteristic of Immobilized Enzymes, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (4) : 597-600.

- Thévenot, D.R., K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson, 1999, Electrochemical Biosensors: Recommended Definition and Classification, *Pure & Appl. Chem.*, **71** (12) : 2333-2348.
- Karlinatasa, E.D., 2010, Pengaruh Ketebalan Membran Nata De Coco terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Asam Urat, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.
- Krisna, A.W., 2008, Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Asam Urat Hasil Perancangan Menggunakan Membran Kitosan, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.
- Kusnady, C., 2008, [INFO] **Asam Urat / Uric Acid**, <http://dhamma-citta.org/forum/index.php?topic=5584> tanggal akses 28 Maret 2010.
- Lee, Y.H., 2000, **Engineering Biotechnology Gateway Coalition: Biosensors**, Drexel University.
- León, L.P., J.B. Smith, A. Yeung, and C.K. Yeh, 1982, Immobilized Uricase for Automated Uric Acid Assay, *J. Auto. Chem.*, **4** (1) : 11-16.
- Marangoni, A.G., 2005, Book Review: Enzyme Kinetics A Modern Approach, *Envi. Eng. and Man. J.*, **4** (3) : 425-428.
- Migneault, I., C. Dartiguenave, M.J. Bertrand, and K. C. Waldron, 2004, Glutaraldehyde: Behavior in Aqueous Solution, Reaction with Protein, and Application to enzyme Crosslinking, *Bio. Tech.*, **37** (5) : 790-802.
- Mulchandani, A., 1998, **Enzyme and Microbial Biosensors, Techniques and Protocols, Principles of Enzyme Biosensors**, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.
- Mulyono, H.A.M., 2006, **Membuat Reagen Kimia di Laboratorium**, PT. Bumi Aksara, Bandung.
- Nicole J. and S.V. Dzyadevych, 2008, Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitori, *Sensors*, **8**, 2569-2588.
- Okuda, K., I. Urabe, Y. Yamada and H. Okada, 1991, Reaction of Glutaraldehyde with Amino and Thiol Compounds, *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 100-105.

- O'Neill, H., B. R. Evans and J. Woodward, 2002, Bacterial Cellulose Membranes, Oak Ridge National Laboratory, Golden, Colorado.
- Pohanka, M., and P. Skládal, 2008, Electrochemical Biosensors – Principles and Application – A Review, *J. Appl. Biomed.*, **6** : 57-64.
- Piluharto, B., 2003, Kajian Sifat Fisik Film Tipis Nata de Coco sebagai Membran Ultrafiltrasi, *J. Ilmu Dasar*, **4** (1) : 52-57.
- Pisesidharta, E., Zulfikar, dan B. Kuswandi, 2009, Preparasi Membran Nata de Coco-Etilendiamin dan Studi Karakteristik Pengikatannya Terhadap Ion Cu<sup>2+</sup>, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, **2**.
- Qian, W., X. Zhao, S. Tian, Z. Liu, S. Tong, Q. Yao, L. Chen, M. Xu, D. Wang, Y. Meng, 2007, **Properties of Uricase from Candida utilis**, School of Live Science, Sichuan University, Chengdu, China.
- Rabbani, K.S., 2009, **Conductometer**, Dhaka University.
- Reid, R.C., J.M. Prausnitz, and B.E. Poling, 1987, **The Properties of Gases & Liquids**, 4 ed., McGraw-Hill, Boston.
- Rezaee, A., H. Godini, and H. Bakhtou, 2008, Microbial Cellulose As Support Material for the Immobilization of Denitrifying Bacteria, *Envi. Eng. and Man. J.*, **7** (5) : 589-594.
- Rogers, A. and Y. Gibon, 2009, Chapter 4: Enzyme Kinetics: Theory and Practice, *Springer Sci. Business Media, LLC*. 71–102.
- Schrenkhammer, P., 2008, New Optical Biosensors for Uric Acid and Glucose, Doctoral Thesis, Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg, Aidenbach, German.
- Setiyawati, A., 2008, Pembuatan dan Karakterisasi Biosensor Asam Urat Menggunakan Enzim Urikase Amobil dalam Membran Kitosan, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.

Sheppard, N.F., Jr. and Anthony G., 1998, **Enzyme and Microbial Biosensors, Techniques and Protocols, Enzyme Sensors Based on Conductimetric Measurement**, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.

Shi, Lue-E, Y. Yi, Z. Tang, W. Xiong, J. Mei, and G. Ying, 2010, Nuclease p1 Immobilized On DEAE Cellulose, *Braz. J. Chem. Eng.*, **27** (1) : 31-39.

Syahrir, M., 2009, Penulisan Hibah S3, [online] <http://arhicivil.blogspot.com/2009/04/penulisan-hibah-s3.html> tanggal akses 29 April 2010.

Tipton, P.A., 2003, **Urate Oxidase**, [online] <http://www.chem.ucsb.edu/%7Ekalju/urate.html> tanggal akses 17 Oktober 2010.

Vermeeren, V., 2008, Towards Label-Free, Real-Time Biosensors: A Nanocrystalline Diamond-Based Sensor Platform for DNA- and Immunosensors, *Physiology Immunology-Biochemistry PhD Theses*, Universiteit Hasselt.

Wanichapichart, P., S. Kaewnopparat, K. Buaking and W. Puthai, 2002, Characterization of Cellulose Membranes Produced by *Acetobacter xylinum*, *J. Sci. Technol.*, **24**: 855-862.

Wongkittisuksa, B., C. Limsakul, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, P. Asawatreratanakul, W. Limbuf and S. Suwansa-ard, 2004, A Conductimetric Transducer for biosensor Systems, *NECTEC Tech. J.*, **4** (14) : 369-374.

Zhao, C., L. Wan, Q. Wang, S. Liu, and K. Jiao, 2009, Highly Sensitive and Selective Uric Acid Biosensor Based on Direct Electron Transfer of Hemoglobin-encapsulated Chitosan-modified Glassy Carbon Electrode, *Anal. Sci.*, **25**, 1013.

## LAMPIRAN 1

### PEMBUATAN LARUTAN

#### L.1.1. Pembuatan larutan asam asetat 0,2 M

Pada pembuatan larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M dalam 100 mL larutan, yang diperlukan adalah (Mulyono, 2006):

$$\text{BJ } \text{CH}_3\text{COOH} = 1,05 \cdot 10^{-3} \text{ g/L}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi } \text{CH}_3\text{COOH} &= \frac{1,05 \times 10^{-3} \text{ g / L}}{60 \text{ g / mol}} \\ &= 17,5 \text{ M}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume } \text{CH}_3\text{COOH} &= 100 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{17,5 \text{ M}} \\ &= 1,14 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi, dipipet sebanyak 1,14 mL asam asetat glasial ke dalam labu takar 100 mL, selanjutnya ditambahkan dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M.

#### L.1.2. Pembuatan larutan NaOH 1 M

Untuk mendapatkan larutan NaOH 1 M dalam 100 mL larutan, maka massa padatan NaOH yang perlu ditimbang adalah (Mulyono, 2006):

$$\begin{aligned}\text{Massa NaOH} &= 40 \text{ g/mol} \times (1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L}) \\ &= 4 \text{ g}\end{aligned}$$

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 4 g, kemudian dilarutkan dalam gelas kimia 100 mL dengan sedikit akuades hingga larut sempurna. Setelah dingin, larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

#### L.1.3. Pembuatan larutan *buffer* asetat 0,2 M pH 5

Sebanyak 100 mL larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M dipipet ke dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 12,69 mL larutan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga pH larutan menjadi 5. Diukur menggunakan pH meter sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*, jika pH larutan lebih dari 5 maka larutan ditambahkan dengan larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M dan jika pH larutan kurang dari 5 maka larutan

ditambahkan dengan larutan NaOH 1 M hingga diperoleh pH larutan sebesar 5.

#### L.1.4. Pembuatan larutan glisin 1 M

Larutan glisin 1 M sebanyak 100 mL diperoleh dari pelarutan padatan glisin. Massa glisin yang diperlukan adalah (Mulyono, 2006):

$$\begin{aligned}\text{Massa glisin} &= 75 \text{ g/mol} \times (1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L}) \\ &= 7,5 \text{ g}\end{aligned}$$

Ditimbang 7,5 g padatan glisin dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL, dilarutkan dengan sedikit akuades, lalu dituang ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

#### L.1.5. Pembuatan larutan *buffer* glisin pH 8,5

Sebanyak 100 mL larutan  $\text{CH}_2\text{NHCOOH}$  1 M dipipet dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 4,99 mL larutan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga pH larutan menjadi 8,5. perubahan pH diukur menggunakan pH meter sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

#### L.1.6. Pembuatan larutan $\text{H}_3\text{PO}_4$ 0,2 M

Pada pembuatan larutan  $\text{H}_3\text{PO}_4$  0,2 M dalam 500 mL larutan, maka volume yang diperlukan adalah (Mulyono, 2006):

$$BJ = 1,685 \times 10^3 \text{ g/L}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi } \text{H}_3\text{PO}_4 85\% &= \frac{1,685 \times 10^3 \text{ g/L}}{98 \text{ g/mol}} \\ &= 17,194 \text{ M}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume larutan } \text{H}_3\text{PO}_4 85\% &= 500 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{17,194 \text{ M}} \\ &= 5,82 \text{ mL}\end{aligned}$$

$\text{H}_3\text{PO}_4$  pekat dipipet sebanyak 5,82 mL ke dalam labu takar 500 mL, selanjutnya ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

#### L.1.7. Pembuatan larutan *buffer* fosfat 0,2 M pH 7,5

Sebanyak 100 mL larutan  $\text{H}_3\text{PO}_4$  0,2 M dipipet dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 66,09 mL larutan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga pH larutan menjadi 7,5. Perubahan pH diukur menggunakan pH meter sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

### L.1.8. Pembuatan larutan NaOH 10%

Untuk membuat larutan NaOH 10% (B/V), maka perhitungannya adalah (Mulyono, 2006):

$$\text{NaOH 10\%} = \frac{5 \text{ g NaOH}}{50 \text{ mL}}$$

Jadi, ditimbang sebanyak 5 g padatan NaOH dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL. Akuades yang akan digunakan dipanaskan selama 5 menit dan didinginkan agar bebas CO<sub>2</sub> sehingga diperoleh akuades bebas karbonat. Padatan NaOH dilarutkan dengan sedikit akuades dan diaduk hingga larut. Selanjutnya dituang ke dalam labu ukur 50 mL dan ditandabataskan dengan akuades lalu dikocok hingga homogen.

### L.1.9. Pembuatan larutan pereaksi biuret

Pereaksi biuret dapat dibuat dengan cara menimbang 0,15 g CuSO<sub>4</sub> dan 0,6 g Na-K-tartrat, dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL dan dilarutkan dengan akuades bebas karbonat sambil diaduk hingga larut seluruhnya. Kemudian ditambahkan dengan 30 mL larutan NaOH 10%, dituang ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

### L.1.10. Pembuatan larutan glutaraldehida

Pada pembuatan larutan glutaraldehida 0,25% sebanyak 100 mL, maka volume larutan glutaraldehida 25% yang dipipet adalah:

$$\begin{aligned} V_{\text{Glutaraldehida 25\%}} &= \frac{0,25\%}{25\%} \times 100 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Larutan glutaraldehida 0,25% dibuat dengan memipet sebanyak 1 mL larutan glutaraldehida 25% ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Volume larutan glutaraldehida 25% yang diperlukan dalam pembuatan larutan glutaraldehida 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,00%; 1,25% dan 1,50% tercantum dalam tabel L.1.1.

**Tabel L.1.1.** Komposisi volume glutaraldehida 25% pada pembuatan larutan glutaraldehida berbagai konsentrasi

[glutaraldehida]	V <sub>Glutaraldehida 25%</sub> (mL)
0,25%	1
0,50%	2
0,75%	3
1,00%	4
1,25%	5
1,50%	6

### L.1.11. Pembuatan larutan asam urat berbagai konsentrasi

#### L.1.11.1. Pembuatan larutan asam urat 250 ppm

Untuk membuat larutan asam urat 250 ppm, maka massa padatan asam urat yang ditimbang adalah:

$$\begin{aligned}\text{Massa asam urat} &= 250 \text{ mg/L} \times 0,5 \text{ L} \\ &= 125 \text{ mg} \\ &= 0,125 \text{ g}\end{aligned}$$

Sebanyak 0,125 g asam urat ditimbang dan dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL, ditambahkan sebanyak 0,125 mg NaHCO<sub>3</sub> dan dilarutkan dengan sedikit air hingga larut seluruhnya. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Setelah larutan asam urat diperoleh, maka larutan disimpan dalam botol gelap di lemari pendingin (Leon, *et al.*, 1982).

#### L.1.11.2. Pembuatan larutan asam urat 1 ppm

Untuk membuat larutan asam urat 1 ppm sebanyak 25 mL, maka volume asam urat 250 ppm yang dipipet sebanyak:

$$\begin{aligned}V_{\text{asam urat 250 ppm}} &= \frac{1 \text{ ppm}}{250 \text{ ppm}} \times 25 \text{ mL} \\ &= 0,1 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dipipet sebanyak 0,1 mL asam urat 250 ppm pH 7,5 dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditandabataskan dengan larutan buffer fosfat pH 7,5 dan dikocok hingga homogen.

**Tabel L.1.2.** Komposisi volume asam urat untuk pengenceran

[asam urat] yang dibuat (ppm)	V <sub>asam urat</sub> yang dibuat (mL)	V <sub>asam urat 250 ppm pH 7,5</sub> yang dipipet (mL)
1	25	0,1
5	25	0,5
10	25	1,0
15	25	1,5
20	25	2,0
25	25	2,5
30	25	3,0
35	25	3,5
40	25	4,0

### L.1.12. Pembuatan larutan kasein

#### L.1.12.1. Pembuatan larutan kasein 10000 ppm

Larutan kasein 10000 ppm sebanyak dapat dibuat dengan cara berikut:

$$\begin{aligned}\text{Massa kasein} &= 10000 \text{ ppm} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 1000 \text{ mg} \\ &= 1,0 \text{ g}\end{aligned}$$

Dtimbang sebanyak 1 g kasein dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL, ditambahkan dengan larutan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga padatan terlarut seluruhnya. Kemudian dituang larutan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabataskan dengan akuades lalu dikocok hingga homogen.

#### L.1.12.2. Pembuatan larutan kasein 1000 ppm

Untuk membuat larutan kasein 1000 ppm sebanyak 25 mL, maka volume larutan kasein 10000 ppm yang dipipet adalah:

$$\begin{aligned}V_{\text{kasein } 10000 \text{ ppm}} &= \frac{1000 \text{ ppm}}{10000 \text{ ppm}} \times 25 \text{ mL} \\ &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dipipet larutan kasein 10000 ppm sebanyak 2,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

**Tabel L.1.3.** Komposisi volume pada pengenceran larutan kasein 10000 ppm

[Kasein] yang dibuat (ppm)	V <sub>kasein</sub> yang dibuat (mL)	V <sub>kasein</sub> 1000 ppm yang dipipet (mL)
2000	25	5,0
3000	25	7,5
4000	25	10,0
5000	25	12,5
6000	25	15,0
7000	25	17,5
8000	25	20,0
9000	25	22,5

### L.1.13.Pembuatan larutan NaHCO<sub>3</sub>

#### L.1.13.1. Pembuatan larutan NaHCO<sub>3</sub> 100 ppm

Massa padatan NaHCO<sub>3</sub> yang diperlukan untuk membuat larutan NaHCO<sub>3</sub> 100 ppm sebanyak 100 mL adalah:

$$\begin{aligned}\text{Massa NaHCO}_3 &= 100 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 10 \text{ mg} \\ &= 0,01 \text{ g}\end{aligned}$$

Ditimbang sebanyak 0,01 g NaHCO<sub>3</sub> dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, dilarutkan dengan sedikit akuades dan diaduk hingga padatan larut seluruhnya. Selanjutnya dituang ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabataskan dengan akuades lalu dikocok hingga homogen.

#### L.1.13.2. Pembuatan larutan NaHCO<sub>3</sub> 15 ppm

Untuk membuat larutan NaHCO<sub>3</sub> 15 ppm sebanyak 50 mL, maka volume larutan NaHCO<sub>3</sub> 100 ppm yang harus dipipet adalah:

$$\begin{aligned}V_{\text{NaHCO}_3 \text{ 100 ppm}} &= \frac{15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 50 \text{ mL} \\ &= 7,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dipipet sebanyak 7,5 mL larutan NaHCO<sub>3</sub> 100 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditandabataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

**Tabel L.1.4.** Komposisi Volume pada Pengenceran Larutan NaHCO<sub>3</sub> 100 ppm

[NaHCO <sub>3</sub> ] yang dibuat (ppm)	Vol. NaHCO <sub>3</sub> yang dibuat (mL)	Vol. NaHCO <sub>3</sub> 100 ppm yang dipipet (mL)
15	50	7,5
20	50	10
23	50	11,5
26	50	13
29	50	14,5
32	50	16
35	50	17,5
40	50	20



## LAMPIRAN 2

### ISOLASI ENZIM URIKASE DARI *Candida utilis* DAN PEMBUATAN MEMBRAN NATA DE COCO

#### L.2.1. Penyiapan media pembiakan *Candida utilis*

Pada pembuatan media pembiakan ini dilakukan pada dua media yang berbeda, yakni media padat dan media cair (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

##### L.2.1.1. Pembuatan media padat

Pembuatan media padat dilakukan dengan menimbang 1,5 g ekstrak yeast; 0,5 g asam urat; 12,5 g glukosa, 7 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 5 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; 1,08 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 1,78 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,008 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,008 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; dan 15 g agar. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan 1000 mL akuades, diaduk hingga larut. Kemudian diukur pH larutan dan ditambahkan asam asetat 0,2 M hingga pH menjadi 5 serta ditambahkan 10 mL larutan *buffer* asetat pH 5. Larutan tersebut dididihkan hingga jernih lalu dimasukkan sebanyak 5 mL larutan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan kapas steril. Selanjutnya tabung reaksi disterilkan menggunakan *autoclave* selama 3 jam pada tekanan 15 psi. Setelah disterilisasi, tabung reaksi diletakkan dalam posisi miring untuk memperluas media pertumbuhan kultur (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

##### L.2.1.2. Pembuatan media cair

Pada pembuatan media cair ini dibuat dari bahan-bahan yang sama dengan bahan pada pembuatan media padat, tetapi tanpa penambahan agar. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan 1000 mL akuades, diaduk hingga larut. Kemudian diukur pH larutan dan ditambahkan asam asetat 0,2 M hingga pH menjadi 5 serta ditambahkan 10 mL larutan *buffer* asetat pH 5. Larutan tersebut dididihkan hingga jernih dan larut seluruhnya lalu dimasukkan sebanyak 100 mL larutan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas steril. Selanjutnya tabung reaksi disterilkan menggunakan *autoclave* selama 3 jam pada tekanan 15 psi. Setelah disterilkan, erlenmeyer didinginkan (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

### **L.2.2. Peremajaan kultur murni *Candida utilis***

Kapang *Candida utilis* dari biakan murni diambil sebanyak satu otse dan dipindahkan ke dalam media padat steril . Mulut tabung reaksi disterilkan dengan bunsen selama proses pemindahan, kemudian diinkubasi selama 4 hari pada temperatur 30°C dalam inkubator (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

### **L.2.3. Produksi enzim urikase**

Akuades steril dipipet sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam 1 tabung biakan murni *Candida utilis* kemudian dikocok. Inokulum yang terbentuk dituang ke dalam media cair steril, kemudian ditempatkan dalam *shaker* pada temperatur kamar lalu diinkubasi selama 26 jam (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

### **3.4.5. Isolasi enzim urikase**

Media cair hasil peremajaan kultur murni disentrifugasi dingin pada kecepatan 3000 rpm dan suhu 4°C selama 20 menit. Endapan yang terbentuk ditambah dengan larutan *buffer* glisin pH 8,5 hingga diperoleh konsentrasi 100 mg/mL, kemudian pengeluaran enzim dilakukan dengan penggerusan menggunakan serpihan kaca lalu disentrifugasi dingin selama 20 menit. Supernatan yang merupakan ekstrak enzim disimpan dalam botol gelap steril pada temperatur 5°C (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

### **3.4.6. Penentuan kadar protein**

#### **3.4.6.1. Penentuan panjang gelombang maksimum kasein**

Dipipet sebanyak 2 mL larutan kasein 5000 ppm ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 8 mL pereaksi biuret dan 2 mL *buffer* glisin pH 8,5. Campuran dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada temperatur kamar. Sebagai blanko, dipipet sebanyak 2 mL akuades ditambah dengan 8 mL pereaksi biuret dan 2 mL *buffer* glisin pH 8,5, dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada temperatur kamar. Larutan kasein 5000 ppm dan blanko diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada kisaran panjang gelombang 200 hingga 400 nm. Panjang gelombang maksimum diperoleh pada saat serapan larutan kasein maksimum (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

#### **3.4.6.2. Pembuatan kurva baku kasein**

Masing-masing larutan kasein konsentrasi 1000 hingga 10000 ppm dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, ditambah 8 mL pereaksi biuret dan 2 mL larutan *buffer* glisin pH 8,5. Campuran dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan duplo. Selanjutnya dibuat kurva linier yang menunjukkan hubungan antara absorbansi (sumbu Y) dan konsentrasi kasein (sumbu X) (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

#### **3.4.6.3. Penentuan kadar protein urikase hasil isolasi**

Urikase hasil isolasi dipipet sebanyak 2 mL, ditambah 8 mL pereaksi biuret dan 2 mL larutan *buffer* glisin pH 8,5. Campuran dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan duplo. Hasil pengukuran diekstrapolasikan terhadap kurva baku kasein sehingga diperoleh nilai konsentrasi protein (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

#### **3.4.6.4. Penentuan kadar protein urikase yang teramobilikan**

Sebanyak 2 mL supernatan enzim urikase sisa amobilisasi dipipet dan ditambah 8 mL pereaksi biuret dan 2 mL larutan *buffer* glisin pH 8,5. Campuran dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan duplo. Hasil pengukuran diekstrapolasikan terhadap kurva baku kasein sehingga diperoleh nilai konsentrasi protein. Kadar protein urikase yang teramobilikan diperoleh dari selisih antara kadar protein urikase hasil isolasi dengan kadar protein urikase sisa amobilisasi (Krisna, 2008 dan Karlinatasa, 2010).

### **3.4.7. Pembuatan membran *nata de coco***

*Nata de coco* dibuat dengan mendidihkan 1000 mL air kelapa, ditambahkan dengan 10 g sukrosa, 5 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 1 g  $\text{MgSO}_4$ , lalu didinginkan. Setelah dingin, larutan air kelapa ditambah dengan asam asetat pekat hingga pH 4 dan starter sebanyak 100 mL, dituangkan ke dalam cetakan, ditutup rapat menggunakan kertas koran dan dibiarkan selama 3-4 hari. Hasil membran *nata de coco* dinetralkan menggunakan larutan NaOH dengan merendam membran seluruhnya sampai pH netral (Pisesidharta, dkk., 2009).

### LAMPIRAN 3

#### PEMBUATAN BIOSENSOR

##### L.3.1. Hasil pengukuran daya hantar dengan sel daya hantar

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar Sampel (nmho)
25	2242,15
30	2994,01
35	3512,47

##### L.3.2. Hasil pengukuran daya hantar dengan sel daya hantar berlapis membran *nata de coco*

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar Sampel (nmho)
25	166,67
30	147,71
35	128,37

##### L.3.3. Hasil pengukuran daya hantar dengan biosensor konduktometri asam urat – 0,00% glutaraldehida

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar Sampel (nmho)			
	A	B	C	Rata-rata
25	51,07	49,78	41,61	47,49
30	44,94	52,41	39,81	45,72
35	40,72	53,48	38,42	44,20

## LAMPIRAN 4

### DATA HASIL PENELITIAN

L.4.1. Data daya hantar larutan asam urat hasil pengukuran dengan biosensor konduktometri asam urat pada berbagai konsentrasi glutaraldehida

Tabel L.4.1. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat tanpa menggunakan glutaraldehida diukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	70,22	81,17	82,71	24,01	34,96	36,50
1	39,00	63,29	63,13	63,49	24,29	24,13	24,49
5	35,82	59,00	57,60	55,90	23,18	21,79	20,09
10	147,93	54,82	55,34	51,28	-93,10	-92,59	-96,65
15	277,09	56,31	51,87	46,17	-220,78	-225,22	-230,92
20	198,02	50,30	49,24	44,13	-147,72	-148,78	-153,89
25	166,67	51,07	49,78	41,61	-115,59	-116,89	-125,05
30	147,71	44,94	52,41	39,81	-102,77	-95,30	-107,90
35	128,37	40,72	53,48	38,42	-87,65	-74,89	-89,95
40	200,92	33,90	53,05	37,85	-167,03	-147,87	-163,07
Kepakaan		19,302	24,326	20,896			

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(19,302 + 24,326 + 20,896) \text{ nmho / ppm}}{3} = 21,508 \text{ nmho/ ppm}$$

Tabel L.4.2. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 0,25% diukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	79,74	95,97	85,54	50,16	66,38	55,96
1	39,00	57,87	65,36	63,45	29,30	36,79	34,88
5	35,82	49,80	51,33	56,24	9,93	11,46	16,37
10	147,93	44,44	42,75	50,43	13,51	11,82	19,50
15	277,09	41,15	38,40	47,62	14,90	12,14	21,37
20	198,02	39,08	35,31	44,74	14,12	10,35	19,79
25	166,67	37,19	32,31	43,33	12,03	7,15	18,17
30	147,71	35,03	30,61	41,67	10,65	6,23	17,29
35	128,37	33,97	29,42	40,23	9,87	5,32	16,13
40	200,92	32,30	28,35	38,99	8,07	4,12	14,76
Kepakaan					21,055	21,041	20,853

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(21,055 + 21,041 + 20,853) \text{ nmho/ppm}}{3} = 20,983 \text{ nmho/ppm}$$

Tabel L.4.3. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 0,50% diukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	72,52	69,11	60,06	26,31	22,90	13,85
1	39,00	59,00	40,19	45,68	20,00	1,19	6,68
5	35,82	51,28	32,67	40,10	15,47	-3,15	4,28
10	147,93	45,72	29,52	36,75	-102,20	-118,40	-111,18
15	277,09	42,50	27,78	34,87	-234,59	-249,31	-242,22
20	198,02	40,52	25,81	33,33	-157,50	-172,21	-164,69
25	166,67	38,20	24,89	32,34	-128,47	-141,77	-134,33
30	147,71	37,19	24,44	32,11	-110,52	-123,27	-115,60
35	128,37	36,38	24,16	30,60	-91,99	-104,21	-97,77
40	200,92	35,97	24,34	29,82	-164,95	-176,59	-171,11
Kepakaan					21,447	22,252	21,948

$$\text{Kepekakan rata-rata} = \frac{(21,447 + 22,252 + 21,948) \text{ nmho / ppm}}{3} = 21,882 \text{ nmho/ ppm}$$

Tabel L.4.4. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 0,75% diukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	80,65	91,58	83,61	34,43	45,36	37,40
1	39,00	65,92	74,29	74,52	26,92	35,29	35,51
5	35,82	62,03	65,75	70,47	26,22	29,93	34,66
10	147,93	57,94	60,83	66,80	-89,99	-87,10	-81,13
15	277,09	54,05	58,07	63,17	-22,03	-219,01	-213,91
20	198,02	50,81	55,99	61,09	-147,21	-142,03	-136,93
25	166,67	48,66	54,70	58,55	-118,00	-111,96	-108,12
30	147,71	46,58	54,41	57,31	-101,13	-93,30	-90,40
35	128,37	49,75	53,11	55,04	-78,62	-75,26	-73,33
40	200,92	43,23	51,36	54,35	-157,69	-149,56	-146,58
Kepakaan		22,264	21,898	20,851			

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(22,264 + 21,898 + 20,851) \text{ nmho/ppm}}{3} = 21,581 \text{ nmho/ppm}$$

Tabel L.4.5. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,00% diukur pada masing-masing ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa untukase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	82,78	91,24	98,62	36,57	45,03	52,41
1	39,00	94,43	69,74	56,59	55,43	30,73	17,59
5	35,82	83,40	57,37	45,77	47,59	21,56	9,95
10	147,93	76,16	51,95	41,36	-71,77	-95,98	-106,57
15	277,09	68,07	51,33	39,02	-209,01	-225,75	-238,07
20	198,02	64,68	46,04	35,91	-133,34	-151,98	-162,11
25	166,67	59,24	43,05	38,74	-107,42	-123,62	-127,92
30	147,71	57,14	41,10	37,04	-90,57	-106,61	-110,67
35	128,37	54,85	38,42	38,43	-73,52	-89,95	-89,94
40	200,92	52,55	37,40	40,40	-148,38	-163,53	-160,52
Kepakaan					19,632	20,309	23,377

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(19,632 + 20,309 + 23,377) \text{ nmho/ppm}}{3} = 21,106 \text{ nmho/ppm}$$

Tabel L.4.6. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,25% diukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase amobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)		
		I	II	III	I	II	III
0	46,21	111,36	61,77	206,19	65,15	15,56	159,97
1	39,00	80,84	42,74	151,75	41,84	3,73	112,74
5	35,82	63,01	37,05	129,20	27,20	1,23	93,38
10	147,93	52,22	120,19	126,42	-95,71	-27,74	-21,51
15	277,09	45,66	99,50	115,21	-231,42	-177,58	-161,88
20	198,02	42,43	85,84	106,04	-155,59	-112,18	-91,98
25	166,67	38,39	88,89	103,63	-128,28	-77,78	-63,04
30	147,71	35,65	87,57	99,30	-112,06	-60,14	-48,41
35	128,37	34,40	82,64	96,62	-93,97	-45,73	-31,75
40	200,92	32,87	80,13	91,66	-168,05	-120,80	-109,27
Kepakaan		20,109			21,701		
		19,531					

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(20,109 + 21,701 + 19,531) \text{ nmho / ppm}}{3} = 20,447 \text{ nmho/ ppm}$$

Tabel L.4.7. Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50% dinukur pada menit ke-8

[Asam urat] ppm	Daya hantar tanpa urikase arnobil (nmho)	Daya Hantar Sampel (nmho)			Selisih Daya Hantar (nmho)
		I	II	III	
0	46,21	79,37	52,94	99,40	33,15
1	39,00	61,39	66,49	78,43	22,39
5	35,82	56,05	55,99	59,52	20,24
10	147,93	80,78	146,20	53,02	-67,15
15	277,09	110,25	223,71	157,23	-166,83
20	198,02	102,99	84,10	80,45	-95,03
25	166,67	100,81	88,89	90,17	-65,86
30	147,71	99,21	89,93	93,55	-48,50
35	128,37	100,20	97,37	100,00	-28,17
40	200,92	102,56	101,63	114,03	-98,36
Kepekaan		21,795	26,875	28,993	

$$\text{Kepakaan rata-rata} = \frac{(21,795 + 26,875 + 28,993) \text{ nmho / ppm}}{3} = 25,887 \text{ nmho / ppm}$$

#### L.4.2. Penentuan waktu respon biosensor konduktometri asam urat pada konsentrasi glutaraldehida 1,50%

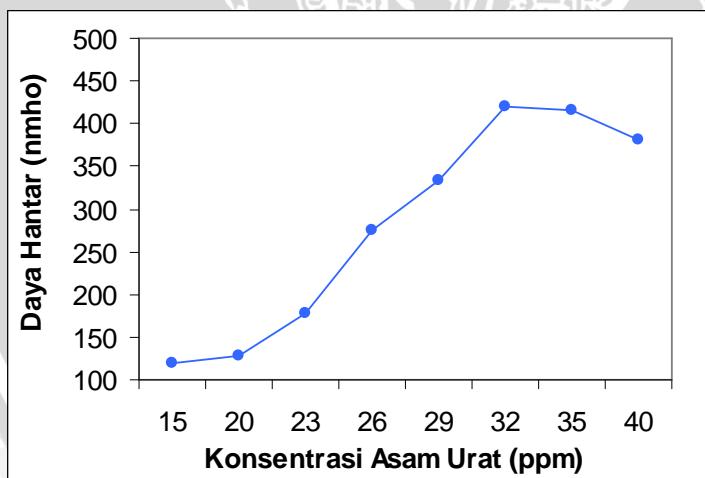
**Tabel L.4.8.** Hasil pengukuran daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat untuk penentuan waktu respon biosensor menggunakan glutaraldehida 1,50%

t (detik)	Konsentrasi Asam Urat (ppm)			
	23	26	29	32
30	63,88	84,10	92,85	109,97
60	83,71	115,12	127,39	154,32
90	96,65	135,69	<b>168,36</b>	<b>206,65</b>
120	105,75	149,70	169,10	212,48
150	112,40	<b>168,48</b>	173,63	219,73
180	116,73	170,50	177,44	221,26
210	120,34	170,48	181,03	225,19
240	<b>123,00</b>	172,06	183,40	228,26
270	125,37	173,03	184,85	230,50
300	126,96	174,22	186,52	232,81
330	128,26	175,28	187,18	234,19
360	129,31	176,14	187,76	235,72
390	130,15	177,12	188,32	237,60
420	131,06	177,89	188,98	238,47
450	131,93	178,81	189,66	239,64
480	132,57	179,62	189,91	240,40
510	133,16	180,23	190,27	241,53
540	133,63	180,22	190,86	242,11
570	134,05	180,23	191,16	242,42
600	134,23	180,01	191,62	243,05

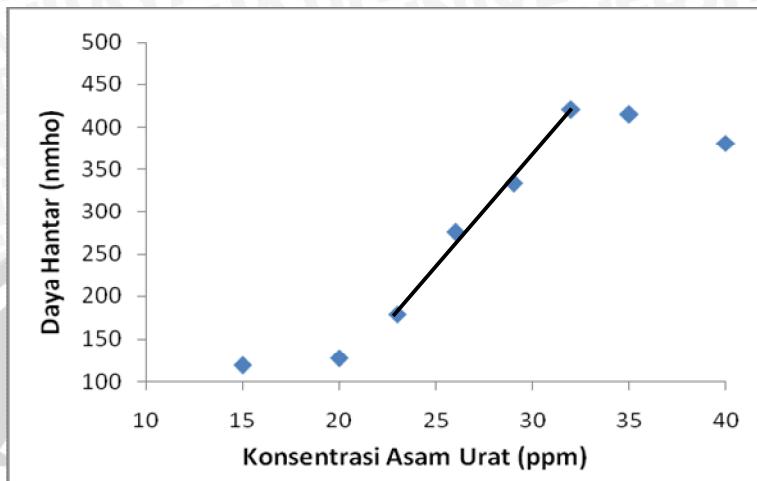
#### L.4.3. Data karakterisasi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50%

**Tabel L.4.9.** Data daya hantar larutan asam urat untuk karakterisasi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50%

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar (nmho)		
	I	II	III
0	102,88	1750,39	128,53
15	118,76	2463,05	125,47
20	127,71	2262,44	118,48
23	178,89	1964,64	118,48
26	275,33	2079,00	186,57
29	333,67	2145,92	223,71
32	420,34	2227,17	272,48
35	415,11	2320,19	242,48
40	380,95	2469,14	218,34
Kepakaan	78,270	85,453	49,913
Linieritas	0,9921	0,9874	0,9855

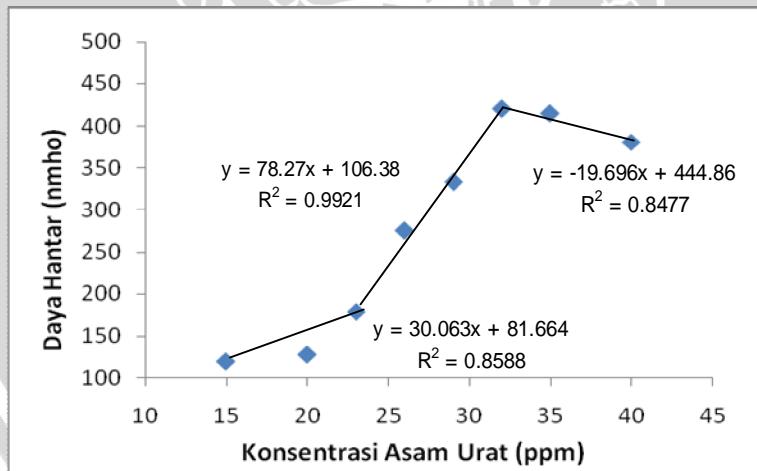


**Gambar L.4.1.** Contoh kurva hubungan antara konsentrasi asam urat (ppm) dengan daya hantar (nmho) pada konsentrasi glutaraldehida 1,50%



**Gambar L.4.2.** Contoh kurva penentuan kisaran konsentrasi biosensor konduktometri asam urat pada konsentrasi glutaraldehida 1,50%

Kisaran konsentrasi biosensor konduktometri asam urat ditentukan dari daerah linier daya hantar terhadap perubahan konsentrasi asam urat. Berdasarkan kurva pada Gambar L.5.2 diperoleh kisaran konsentrasi antara 23 ppm hingga 32 ppm.



**Gambar L.4.3.** Contoh kurva penentuan batas deteksi biosensor konduktometri asam urat pada konsentrasi glutaraldehida 1,50%

Berdasarkan kurva di atas, nilai kepekaan biosensor konduktometri adalah sebesar 78,270 nmho/ppm. Batas deteksi ditentukan dari titik potong persamaan garis singgung daerah linier dan daerah non linier, nilai absis (sumbu x) dari titik potong menunjukkan batas deteksi dari biosensor. Berikut perhitungan penentuan batas deteksi biosensor konduktometri asam urat:

1. Batas bawah ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut :

$$30,063x + 81,664 = 78,27x + 106,38$$

$$(78,27 - 30,063)x = 81,664 - 106,38$$

$$48,207x = -24,716$$

$$[\text{asam urat}] = \frac{-24,716}{48,207}$$

$$= 0,513 \text{ ppm}$$

2. Batas atas ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut :

$$78,27x + 106,38 = -19,696x + 444,86$$

$$(78,27 + 19,696)x = 444,86 - 106,38$$

$$97,966x = 338,48$$

$$[\text{asam urat}] = \frac{338,48}{97,966}$$

$$= 3,455 \text{ ppm}$$

**L.4.4. Penentuan efisiensi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50%, kisaran konsentrasi 23 – 32 ppm dan t = 8 menit**

**Tabel L.4.10.** Data daya hantar larutan asam urat untuk penentuan efisiensi biosensor konduktometri asam urat menggunakan glutaraldehida 1,50% pada menit ke-8

1. Pengukuran I

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar (nmho)
0	36,569
15	38,432
20	42,087
23	34,281
26	36,101
29	38,095
32	43,744
35	37,693
40	52,770

2. Pengukuran II

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar (nmho)
0	62,754
15	63,735
20	64,021
23	61,350
26	39,324
29	42,753
32	36,510
35	36,778
40	35,038

3. Pengukuran III

[Asam Urat] ppm	Daya Hantar (nmho)
0	102,887
15	118,765
20	127,714
23	178,891
26	275,33
29	333,667
32	420,345
35	415,110
40	380,952

## LAMPIRAN 5

### PENENTUAN KADAR PROTEIN ENZIM

#### L.5.1. Penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) kasein

$$[\text{Kasein}] = 5000 \text{ ppm}$$

$$\lambda_{\text{maks}} = 543,0 \text{ nm}$$

$$\text{Absorbansi} = 0,1508$$

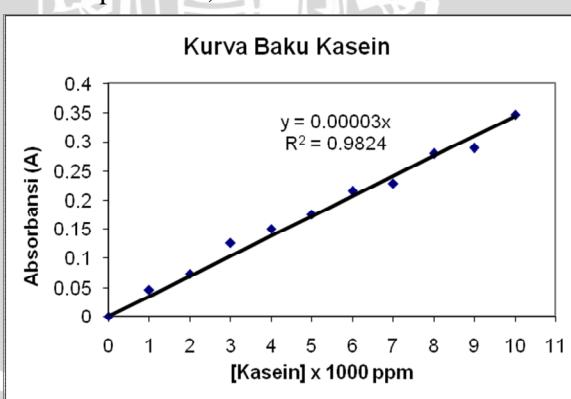
Tabel L.5.1. Data absorbansi kasein berbagai panjang gelombang

$\lambda$ (nm)	Abs (A)	$\lambda$ (nm)	Abs (A)	$\lambda$ (nm)	Abs (A)	$\lambda$ (nm)	Abs (A)
200	0,2047	310	0,9136	410	0,0825	510	0,1334
210	0,0856	320	0,6224	420	0,0730	520	0,1427
220	0,1271	330	0,4810	430	0,0681	530	0,1487
230	0,0029	340	0,3743	440	0,0675	540	0,1508
240	0,0470	350	0,2921	450	0,0708	550	0,1498
250	0,0077	360	0,2292	460	0,0773	560	0,1459
260	0,0916	370	0,1812	470	0,0863	570	0,1396
270	0,0708	380	0,1450	480	0,0972	580	0,1316
280	0,1127	390	0,1174	490	0,1094	590	0,1221
290	0,9889	400	0,0970	500	0,1221	600	0,1111
300	1,3359						

#### L.5.2. Pembuatan kurva baku kasein

Tabel L.5.2. Absorbansi kasein pada 543,0 nm

[Kasein] ppm	Absorbansi (A)
0	0
1000	0,0466
2000	0,0737
3000	0,1270
4000	0,1506
5000	0,1759
6000	0,2155
7000	0,2291
8000	0,2795
9000	0,2891
10000	0,3478



Gambar L.5.1. Kurva baku kasein

### L.5.3. Penentuan kadar protein

**Tabel L.5.3.** Absorbansi enzim urikase murni dan sisa amobilisasi

No.	[GA] (%)	Absorbansi Urikase bebas			Absorbansi Urikase Sisa Amobilisasi		
		I	II	Rataan	I	II	Rataan
1	0,00	0,0366	0,0343	0,0355	0,0323	0,0305	0,0314
2	0,25	0,0391	0,0420	0,0406	0,0374	0,0363	0,0369
3	0,50	0,0449	0,0489	0,0469	0,0386	0,0383	0,0385
4	0,75	0,0466	0,0531	0,0499	0,0463	0,0452	0,0458
5	1,00	0,0654	0,0709	0,0682	0,0577	0,0573	0,0575
6	1,25	0,0723	0,0732	0,0728	0,0653	0,0665	0,0659
7	1,50	0,1450	0,1449	0,1450	0,0917	0,0906	0,0912

Kadar protein urikase ditentukan dengan mengkonversikan absorbansi larutan pada persamaan kurva baku kasein persamaan regresi  $y = 0,00003x$ .

Contoh perhitungan kadar protein urikase murni dengan absorbansi 0,0355 yaitu:

$$y = 0,00003x$$

$$0,0355 = 0,00003x$$

$$x = \frac{0,0355}{0,00003}$$

$$= 1183,33 \text{ ppm}$$

dalam 1,67 mL urikase, maka jumlah enzim urikase adalah

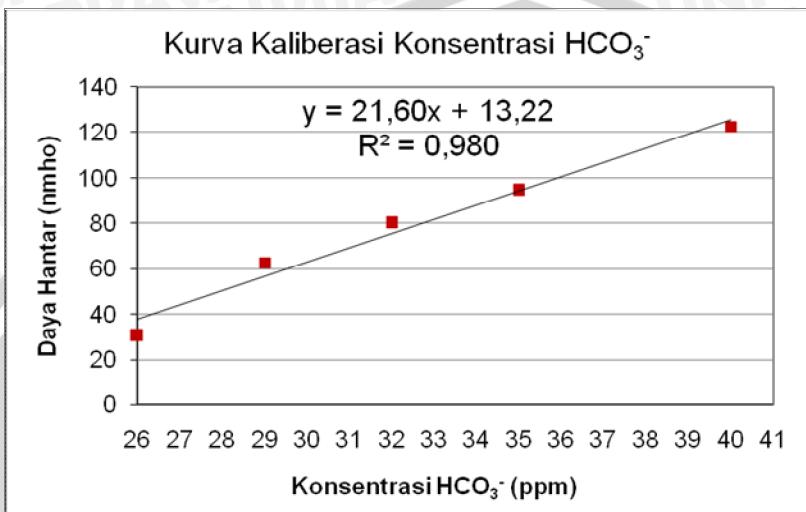
$$x = 1,67 \text{ mL} \times 1183,33 \text{ mg}/1000 \text{ mL}$$

$$= 1,973 \text{ mg}$$

**Tabel L.5.4.** Jumlah protein (mg) enzim urikase murni dan sisa amobilisasi ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda = 543 \text{ nm}$

No.	[glutaraldehida] (%)	Jumlah Protein (mg)		
		Urikase bebas	Urikase setelah amobilisasi	Urikase teramobilisasi
1	0,00	1,973	1,748	0,225
2	0,25	2,257	2,051	0,206
3	0,50	2,611	2,140	0,470
4	0,75	2,775	2,547	0,228
5	1,00	3,794	3,201	0,593
6	1,25	4,050	3,668	0,381
7	1,50	8,069	5,074	2,995

**L.5.4. Penentuan aktivitas enzim urikase amobil pada berbagai konsentrasi glutaraldehida**



**Gambar L.5.2.** Kurva kalibrasi konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  (ppm) terhadap daya hantar (nmho)

**Tabel L.5.5.** Data daya hantar larutan asam urat dengan biosensor konduktometri asam urat pada berbagai konsentrasi glutaraldehida pada menit ke-8

[Glutaraldehida]	Konsentrasi asam urat (ppm)				
	0	20	25	30	35
0,00	78,036	47,890	47,488	45,721	44,203
0,25	87,086	39,710	37,609	35,767	34,538
0,50	67,228	33,219	31,811	31,248	30,379
0,75	85,277	55,964	53,971	52,763	52,631
1,00	90,881	48,877	47,011	45,094	43,901
1,25	126,43	78,103	76,968	74,174	71,221
1,50	124,48	132,57	179,62	189,91	240,40

Konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  ditentukan dengan mengkonversikan nilai daya hantar larutan asam urat pada persamaan kurva kaliberasi konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$

**Tabel L.5.6.** Data konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  (ppm) pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8

[Glutaraldehyda]	Konsentrasi asam urat (ppm)				
	0	20	25	30	35
0,00	3,001	1,605	1,586	1,505	1,434
0,25	3,420	1,226	1,129	1,044	0,987
0,50	2,500	0,926	0,861	0,835	0,794
0,75	3,336	1,979	1,887	1,831	1,825
1,00	3,595	1,651	1,564	1,476	1,420
1,25	5,242	3,004	2,951	2,822	2,685
1,50	5,151	5,525	7,704	8,180	10,518

Data konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  (ppm) pada tabel 5.5.6 dikonversikan ke dalam satuan  $\mu\text{mol}$ .

**Tabel L.5.7.** Data konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  ( $\mu\text{mol}$ ) pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8

[Glutaraldehyda]	Konsentrasi asam urat (ppm)				
	0	20	25	30	35
0,00	0,082	0,044	0,043	0,041	0,039
0,25	0,094	0,034	0,031	0,029	0,027
0,50	0,068	0,025	0,024	0,023	0,022
0,75	0,091	0,054	0,052	0,050	0,050
1,00	0,098	0,045	0,043	0,040	0,039
1,25	0,143	0,082	0,081	0,077	0,073
1,50	0,141	0,151	0,211	0,224	0,288

**Tabel L.5.8.** Data konsentrasi  $\text{HCO}_3^-$  ( $\mu\text{mol}$ ) dikurangi blanko pada berbagai konsentrasi glutaraldehyda pada menit ke-8

[Glutaraldehyda]	Konsentrasi asam urat (ppm)			
	20	25	30	35
0,00	0,000	0,000	0,000	0,000
0,25	0,000	0,000	0,000	0,000
0,50	0,000	0,000	0,000	0,000
0,75	0,000	0,000	0,000	0,000
1,00	0,000	0,000	0,000	0,000
1,25	0,000	0,000	0,000	0,000
1,50	0,010	0,070	0,083	0,147

$$\text{Laju reaksi enzim} = \frac{\text{Jumlah produk } HCO_3^- \text{ yang dihasilkan } (\mu\text{mol})}{t \text{ (menit)}}$$

**Tabel L.5.9.** Data laju reaksi enzim ( $\mu\text{mol} \cdot \text{menit}^{-1}$ ) pada berbagai konsentrasi glutaraldehida pada menit ke-8

[Glutaraldehida]	Konsentrasi asam urat (ppm)			
	20	25	30	35
0,00	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,25	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,50	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,75	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
1,00	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
1,25	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
1,50	0,0013	0,0087	0,0104	0,0184

## LAMPIRAN 6

### PENENTUAN TETAPAN MICHAELIS-MENTEN ( $K_M$ ) DAN $V_{maks}$

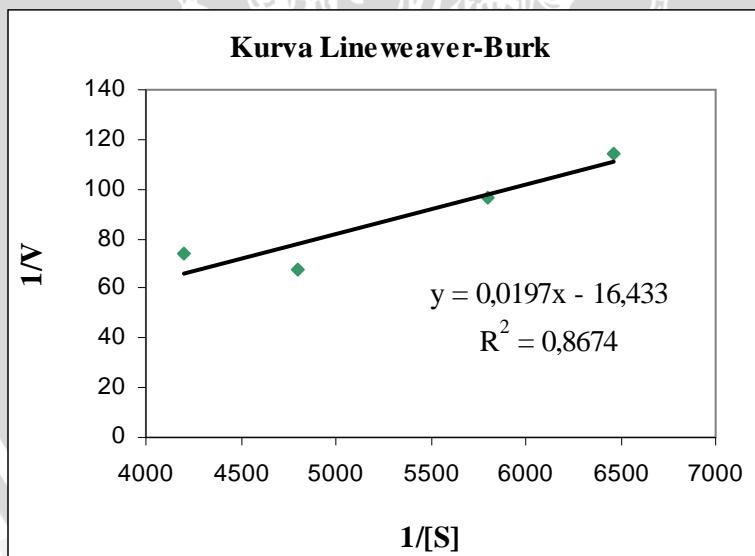
#### L.6.1. Pembuatan grafik untuk menentukan $K_M$ dan $V_{maks}$

Substrat/ S ( $10^{-4}M$ )	Laju Enzim/ V ( $\mu\text{mol.menit}^{-1}$ )	1/S	1/V
1,55	0,0087	6465,77	114,51
1,73	0,0104	5796,90	96,50
2,08	0,0147	4803,14	67,95
2,38	0,0135	4202,75	74,23

Dari tabel L.6.1. dapat dibuat grafik untuk menentukan  $K_M$  dan  $V_{maks}$  dengan hubungan :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{maks}}$$

$$y = a x + b$$



Gambar L.6.1. Kurva Lineweaver-Burk

### L.6.2.Perhitungan $K_M$ dan $V_{maks}$

Dari gambar L.6.1. diperoleh persamaan :

$$\begin{aligned}y &= 1,97 \cdot 10^{-2} x - 16,433 \\ \frac{1}{V} &= \frac{K_M}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{maks}}\end{aligned}$$

maka  $V_{maks}$  dan  $K_M$  adalah :

$$\begin{aligned}\frac{1}{V_{maks}} &= -16,433 \\ V_{maks} &= |-0,0608| \\ &= 0,0608 \mu\text{mol.menit}^{-1}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\frac{K_M}{V_{maks}} &= 1,97 \cdot 10^{-2} \\ K_M &= 1,97 \cdot 10^{-2} \times V_{maks} \\ &= 1,97 \cdot 10^{-2} \times 0,0608 \\ &= 1,198 \cdot 10^{-3} M \\ &= 201,35 \text{ ppm}\end{aligned}$$

## LAMPIRAN 7

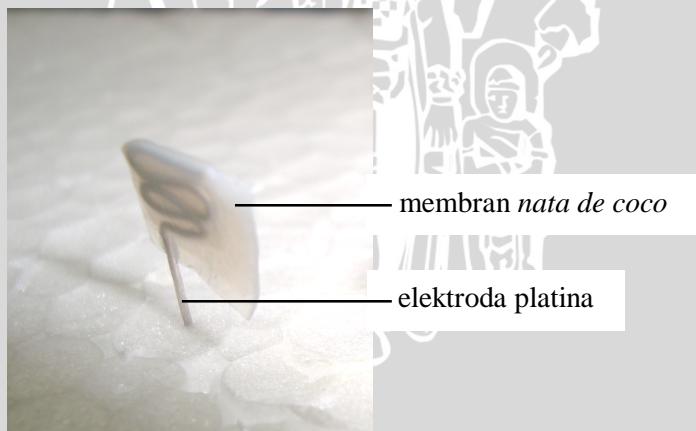
### GAMBAR PENDUKUNG HASIL PENELITIAN

#### L.7.1. Membran *nata de coco* hasil fermentasi selama 3 hari



**Gambar L.7.1.** Membran *nata de coco* hasil fermentasi selama 3 hari

#### L.7.2. Pembuatan elektroda biosensor



**Gambar L.7.2.** Elektroda biosensor konduktometri asam urat

### L.7.3. Pembuatan elektroda biosensor



Gambar L.7.3. Rancangan biosensor konduktometri asam urat