

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR KONDUKTOMETRI UNTUK PENENTUAN KADAR ASAM URAT DALAM SERUM DARAH MENGGUNAKAN SCREEN PRINTED CARBON ELECTRODE (SPCE)-NATA DE COCO**

***(THE DEVELOPMENT OF CONDUCTOMETRIC BIOSENSOR FOR DETERMINATION OF URIC ACID CONCENTRATION IN HUMAN SERUM USING SCREEN PRINTED CARBON ELECTRODE (SPCE) – NATA DE COCO)***

**Abdi Naufal Ramadhan, Luluil Maknun, Noerma juli Azhari, Anggun Tanduwinata, Izma Fitria Yulasandini, Ani Mulyasuryani\***

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang 65145 telp. (0341) 575838

\*email: [mulyasuryani@ub.ac.id](mailto:mulyasuryani@ub.ac.id)

*Received 10 May 2015, Accepted 4 September, Published 01 September 2015*

**ABSTRAK**

Kontrol kadar asam urat penting dilakukan. Kadar asam urat yang tinggi menyebabkan penyakit gout, Oleh karena itu diperlukan suatu metode yang sederhana, cepat dan akurat untuk menentukan kadar asam urat. Pada penelitian ini telah dikembangkan biosensor konduktometri menggunakan SPCE-Nata de coco untuk menentukan kadar asam urat. Biosensor dioptimasi agar didapatkan biosensor dengan kinerja yang baik dan dapat diaplikasikan pada serum darah. Variabel optimasi yaitu pengaruh konsentrasi enzim, ketebalan membran dan pH larutan. Kisaran konsentrasi enzim yang dipelajari pada 6 µg/mL; 12 µg/mL; 18 µg/mL; 24 µg/mL, ketebalan membran pada 5 µm; 10 µm; 15 µm dan pH larutan pada pH 7; 7,5; 8; 8,5; 9. Optimasi dilakukan untuk menghasilkan biosensor dengan kinerja yang baik dan dapat diaplikasikan pada sampel serum darah. Kondisi optimum biosensor diperoleh pada konsentrasi enzim 18 µg/mL, ketebalan membran 5 µm dan pH 8. Kisaran konsentrasi asam urat yang dapat diukur 0 – 1,2 ppm dengan kepekaan 7,74 µS/ppm dan batas deteksi 0 ppm. Biosensor ini telah diaplikasikan pada serum darah manusia dengan akurasi mencapai 95 %.

**Kata Kunci:** biosensor asam urat, konduktometri, SPCE-nata de coco

**ABSTRACT**

The control of uric acid is important. A high level of uric acid can cause gout disease. Therefore a simple, fast, and accurate method for uric acid determination is required. In this research a conductometric biosensor has been developed by SPCE – Nata de coco for uric acid determination. The prepared biosensor was optimized to get a good performance of biosensor and it is applicable for human serum samples. The optimized variables were enzyme concentration, membrane thickness and pH solution. The various enzyme concentration were 6 µg/mL; 12 µg/mL; 18 µg/mL; 24 µg/mL. The various membrane thickness were 5 µm; 10 µm; 15 µm. Meanwhile, the various pH solution were 7; 7.5; 8; 8.5; 9. The optimum enzyme concentration was 18 µg/mL with the membrane thickness and pH were 5 µm and 8, respectively. The prepared biosensor can determine the uric acid concentration at range of 0 – 1.2 ppm with the sensitivity of 7.74 µS/ppm and the

limit detection is 0 ppm. The biosensor was applied to uric acid detection in human serum with accuracy of 95 %.

**Keywords:** conductometric, SPCE-nata de coco, uric acid biosensor

## PENDAHULUAN

Asam urat merupakan hasil metabolisme purin dalam tubuh manusia yang kadar normalnya berkisar 2,6 – 6 mg/dL untuk wanita dan 3,5 – 7 mg/dL untuk pria. Jika kadar asam urat melebihi 7 mg/dL dapat menyebabkan penyakit gout. Pada kondisi yang kronis, gout akan menyebabkan seseorang mengalami kesulitan atau bahkan kehilangan kemampuan bergerak karena rasa sakit yang ditimbulkan akibat terbentuknya kristal urat (Nabena, 2013; Khasanah, 2012; Starkebaum, 2013). Oleh karena itu perlu dilakukan pengecekan kadar asam urat secara berkala. Pengecekan kadar asam urat umumnya dilakukan dengan metode spektrofotometri, namun metode ini memerlukan keahlian khusus dan waktu yang cukup lama sehingga diperlukan metode alternatif yang sederhana, cepat dan akurat yaitu biosensor.

Biosensor asam urat dikembangkan berdasarkan reaksi oksidasi asam urat yang dikatalisis oleh urikase menjadi  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan allantoin. Berdasarkan reaksi tersebut telah dilakukan deteksi secara elektrokimia yaitu amperometri, potensiometri dan konduktometri. Deteksi asam urat secara amperometri didasarkan pada pengukuran arus dari  $\text{H}_2\text{O}_2$  hasil reaksi atau jumlah  $\text{O}_2$  yang terpakai, sedangkan secara potensiometri didasarkan pada perbedaan potensial pada elektroda (Zhao *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2011; Ivekovic *et al.*, 2012). Biosensor konduktometri didasarkan pada perubahan daya hantar dalam larutan akibat ionisasi  $\text{H}_2\text{CO}_3$  dalam air. Biosensor konduktometri asam urat yang telah dikembangkan yaitu menggunakan urikase yang diamobilkan pada membran Nata de Coco dengan elektroda Pt dan film komposit polianilin–poli (*n*-butil methacrylate) (Mulyasuryani and Srihardiastuti, 2011; Castillo-Ortega *et al.*, 2002). Pada penelitian ini dikembangkan biosensor menggunakan SPCE (*Screen Printed Carbon Electrode*) - Nata de Coco yang sederhana dan dapat digunakan untuk menentukan kadar asam urat dalam serum darah pada volume sampel kurang dari 1 mL.

Secara teori kinerja biosensor dipengaruhi oleh aktivitas katalitik enzim, ketebalan membran dan pH larutan. Aktivitas katalitik enzim berhubungan dengan kecepatan reaksi. Menurut persamaan Michaelis-Menten kecepatan reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim. pH berhubungan dengan jenis ion dalam larutan (Prayoga *et al.*, 2014; Mulyasuryani and Srihardiastuti, 2011). Pada pH 6,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  terdisosiasi menghasilkan

$\text{H}_3\text{O}^+$  dan  $\text{HCO}_3^-$  sedangkan  $\text{H}_3\text{O}^+$  dan  $\text{CO}_3^{2-}$  terbentuk pada pH 11 (Skoog *et al.*, 2014). Kondisi keasamaan (pH) juga mempengaruhi kecepatan reaksi karena enzim hanya bekerja optimum pada pH tertentu. Enzim dapat dijaga aktivitasnya dengan mengambalkannya pada membran. Ketebalan membran akan mempengaruhi laju difusi ion-ion hasil reaksi menuju permukaan elektroda (Prayoga *et al.*, 2014; Mulyasuryani *and* Dhofir, 2014; Mulyasuryani *and* Srihardiastuti, 2011). Oleh karena itu pada penelitian ini dipelajari pengaruh konsentrasi enzim, ketebalan membran dan pH larutan agar didapatkan biosensor dengan kinerja optimum dan dapat digunakan untuk mengukur kadar asam urat pada serum darah.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain enzim urikase hasil isolasi dari *Candida Utilis* 1139,212 ppm (0,0285 U/mg), Nata de coco (produk lokal), NaOH 1 M (*merck*),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,01 M (*merck*),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,01 M (*merck*), padatan asam urat (*merck*), aqua DM (air bebas mineral), dan sampel serum darah dari laboratorium klinik.

### **Pembuatan Biosensor**

*Screen Printed Carbon Electrode* (SPCE) dengan luas permukaan elektroda  $1 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$  dibatasi dengan selotip untuk menentukan area yang akan dilapisi membran. Membran nata de coco dipreparasi menggunakan NaOH 1 M. Elektroda dilapisi membran Nata de Coco yang mengandung enzim urikase pada berbagai konsentrasi  $6 \mu\text{g/mL}$ ;  $12 \mu\text{g/mL}$ ;  $18 \mu\text{g/mL}$  dan  $24 \mu\text{g/mL}$  serta diatur pada ketebalan membran  $5 \mu\text{m}$ ,  $10 \mu\text{m}$  dan  $15 \mu\text{m}$  selanjutnya dikeringkan dan disimpan pada temperatur  $4^\circ\text{C}$ .

### **Pengukuran Daya Hantar**

Biosensor yang telah dibuat digunakan untuk mengukur larutan asam urat pada kisaran konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 ppm pada pH 7; 7,5; 8; 8,5; 9. Pengondisian pH larutan menggunakan buffer fosfat 0,01 M. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan permukaan elektroda kerja kedalam larutan. Hasil pengukuran daya hantar dibuat kurva hubungan antara konsentrasi asam urat terhadap daya hantar kemudian dari persamaan  $y = ax + b$  untuk menentukan kepekaan masing masing perlakuan.

### **Karakterisasi**

Karakterisasi yang dilakukan meliputi kisaran konsentrasi yang dapat diukur, kepekaan dan batas deteksi. Karakterisasi dilakukan dengan mengukur larutan asam urat

pada kisaran konsentrasi 0 – 2 ppm menggunakan biosensor dengan konsentrasi enzim sebesar 18  $\mu\text{g/mL}$ , ketebalan membran 5  $\mu\text{m}$  dan pH pengukuran pada pH 8.

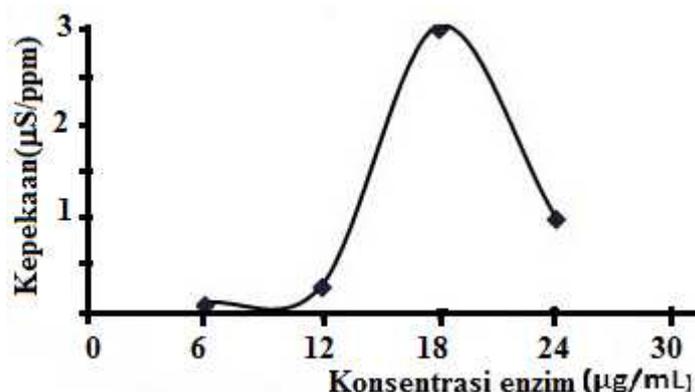
### Validasi Biosensor

Validasi dilakukan dengan menentukan kadar asam urat pada serum dari sampel darah dengan metode adisi standar menggunakan biosensor. Hasil pengukuran kemudian dibandingkan dengan data yang didapatkan dari laboratorium klinik untuk menentukan akurasi (%) biosensor.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh Konsentrasi Enzim

Berdasarkan hasil penelitian, enzim berpengaruh terhadap kepekaan biosensor seperti terlihat pada Gambar 1. Konsentrasi enzim optimum dicapai pada konsentrasi 18  $\mu\text{g/mL}$  dengan kepekaan sebesar 3,04  $\mu\text{S/ppm}$ . Hasil tersebut diperoleh dengan kondisi pengukuran pada ketebalan membran 5  $\mu\text{m}$  dan pH larutan sebesar 7,5.



**Gambar 1.** Kepekaan biosensor pada berbagai konsentrasi enzim.

Pada konsentrasi enzim 6  $\mu\text{g/mL}$  sampai 18  $\mu\text{g/mL}$  ditunjukkan adanya peningkatan kepekaan biosensor (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan hukum Michaelis Menten bahwa peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi. Jika kecepatan reaksi meningkat, maka pada konsentrasi asam urat dan waktu pengukuran yang sama, pengukuran dengan biosensor yang mengandung konsentrasi enzim lebih tinggi akan menghasilkan ion-ion hasil reaksi yang lebih banyak sehingga akan menghasilkan sinyal yang lebih tinggi. Besarnya perubahan sinyal yang dihasilkan pada pengukuran per ppm konsentrasi substrat menunjukkan kepekaan biosensor, sehingga peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan kepekaan biosensor. Namun pada konsentrasi enzim 24  $\mu\text{g/mL}$  terjadi penurunan kepekaan. Hal ini terjadi karena permukaan SPCE yang dilapisi membran hanya memiliki luas permukaan 5  $\text{mm}^2$  dengan ketebalan membran sebesar 5  $\mu\text{m}$

sehingga pada konsentrasi enzim 24  $\mu\text{g/mL}$ , tidak semua enzim terserap ke dalam pori membran, akibatnya terjadi akumulasi enzim di permukaan elektroda yang menghalangi difusi ion-ion hasil reaksi oksidasi asam urat menuju permukaan elektroda yang menyebabkan penurunan kepekaan.

### **Pengaruh Ketebalan Membran**

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ketebalan membran mempengaruhi kinerja biosensor. Berdasarkan Tabel 1, kepekaan biosensor menurun seiring dengan meningkatnya ketebalan membran. Ketebalan membran optimum dicapai pada ketebalan paling kecil yaitu 5  $\mu\text{m}$  dengan kondisi pengukuran konsentrasi enzim 18  $\mu\text{g/mL}$  dan pH larutan sebesar 7,5. Ketebalan membran akan mempengaruhi kecepatan difusi ion hasil reaksi ke permukaan elektroda. Semakin tebal membran maka laju difusi semakin lambat. Hal ini berarti, pada konsentrasi asam urat dan waktu pengukuran yang sama, biosensor yang memiliki membran lebih tebal akan menghasilkan sinyal yang lebih rendah karena difusi ionnya lebih lambat sehingga menyebabkan kepekaan biosensor semakin rendah.

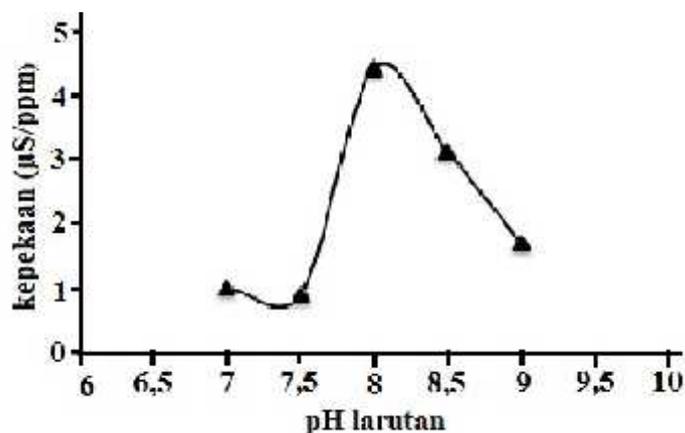
**Tabel 1.** Kepekaan biosensor pada berbagai ketebalan membran

Ketebalan membran ( $\mu\text{m}$ )	Kepekaan ( $\mu\text{S/ppm}$ )
5	9,16
10	1,99
15	0,44

### **Pengaruh pH**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH mempengaruhi kepekaan biosensor seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Salah satu komponen penting dalam biosensor yaitu enzim yang hanya bekerja pada pH tertentu. Enzim tidak dapat bekerja optimal pada kondisi pH yang tidak sesuai dengan pH kerja enzim. Kerja enzim yang tidak optimal akan menyebabkan reaksi oksidasi asam urat menjadi tidak sempurna sehingga akan menurunkan jumlah produk reaksi. Penurunan jumlah produk reaksi inilah yang akan mempengaruhi kepekaan biosensor. Pada penelitian ini pH optimum dicapai pada pH 8 dengan kepekaan sebesar 4,41  $\mu\text{S/ppm}$  sedangkan kondisi pengukurannya pada konsentrasi enzim 18  $\mu\text{g/mL}$  dan ketebalan membran 5  $\mu\text{m}$ . pH optimum ini berbeda dengan pH optimum enzim bebas urikase (pH 8,5). Hal ini disebabkan adanya perubahan konformasi enzim akibat adanya interaksi antara gugus amina pada enzim urikase dengan gugus  $-\text{OH}$  pada membran nata de coco sehingga mempengaruhi aktivitasnya. Selain itu pada pH 8 asam karbonat terdisosiasi lebih banyak ( $> 90\%$ ) menghasilkan ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{HCO}_3^-$ ,

sehingga akan meningkatkan sinyal yang berpengaruh pada peningkatan kepekaan biosensor.



**Gambar 2.** Kepekaan biosensor pada berbagai pH.

### Karakterisasi Biosensor dan Aplikasi Pada Sampel Darah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kisaran konsentrasi asam urat 0 - 1,2 ppm, daya hantar terus mengalami kenaikan kemudian pada konsentrasi 1,4 ppm daya hantar turun dan kemudian konstan. Hal ini menunjukkan bahwa diatas konsentrasi 1,2 ppm biosensor tidak mampu mendeteksi perubahan daya hantar yang terjadi di dalam larutan sehingga didapatkan bahwa kisaran konsentrasi yang dapat dideteksi oleh biosensor adalah 0 sampai 1,2 ppm. Biosensor memiliki kepekaan sebesar 7,74 µS/ppm.

Hasil penelitian ini telah diaplikasikan pada sampel berupa serum darah yang didapatkan dari laboratorium klinik. Konsentrasi normal asam urat dalam tubuh manusia berkisar 2,6 – 6 mg/dL (26 – 60 ppm) untuk wanita dan 3,5 – 7 mg/dL (35 – 70 ppm) untuk pria, sehingga agar biosensor dapat digunakan pada sampel nyata, harus dilakukan pengenceran sampel sebanyak seratus kali. Berdasarkan hasil pengukuran dengan metode adisi standar, biosensor asam urat SPCE – nata de coco memiliki tingkat akurasi mencapai 95 % jika dibandingkan dengan data pengukuran dari laboratorium klinik (Tabel 2).

**Tabel 2.** Kadar asam urat hasil pengukuran laboratorium klinik dan biosensor

Kode sampel	konsentrasi asam urat (mg/dL)		Akurasi (%)
	Biosensor	laboratorium klinik	
A	6,4	5,7	95,1
B	4,3	4,1	87,7
C	2,4	4,3	55,8
D	2,3	6,1	37,7
E	0,74	5,1	14,5

Berdasarkan Tabel 2, biosensor SPCE – Nata de coco telah memiliki tingkat akurasi yang cukup baik, walaupun pada beberapa sampel menunjukkan tingkat akurasi dibawah 55 %. Hal ini dikarenakan kondisi sampel yang berbeda beda yang dapat mempengaruhi kerja enzim urikase pada biosensor serta difusi ion ion hasil reaksi menuju permukaan elektroda, sehingga sebelum dilakukan pengukuran dengan biosensor perlu adanya preparasi pada serum darah untuk mengurangi jumlah ion pengganggu.

## **KESIMPULAN**

Biosensor asam urat SPCE – Nata de coco memiliki kinerja optimum pada konsentrasi enzim 18 µg/mL, ketebalan membran nata de coco 5 µm dan pH pengukuran pada pH 8. Kisaran konsentrasi yang dapat dideteksi 0 – 1,2 ppm dengan kepekaan 7,74 µS/ppm dan batas deteksi sebesar 0 ppm. Biosensor dapat digunakan untuk mengukur kadar asam urat dalam serum darah dengan akurasi mencapai 95 %.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terimakasih kepada DIKTI yang telah memberikan hibah dana untuk penelitian melalui Universitas Brawijaya dalam Program Kreativitas Mahasiswa tahun pendanaan 2015.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Ali, S.U., Alvi, N.U.H., Ibupoto, Z.H., Nur, O., Willander, M., and Danielsson, B., 2011, Selective Potentiometric Determination Of Uric Acid With Uricase Immobilized On ZnO Nanowires, 2011, *Sensors and Actuators B Chemical*, vol. 152, no. 2, pp. 241-247.
- Castillo-Ortega, M.M., Rodriguez D.E., Encinas J.C., Plascencia M., F.A. Mendez-Velarde, and Olayo R., 2002, Conductometric Uric Acid and Urea Biosensor Prepared from Electroconductive Polyaniline–poly (n-butylmethacrylate) Composites, *Sensors and Actuators B Chemical*, vol. 85, pp. 19–25.
- Ivekovic, D., Japcec, M., Solar, M., and Zivkovic, N., 2012, Amperometric Uric Acid Biosensor with Improved Analytical Performances Based on Alkaline-stable H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Transducer, *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 7, pp. 3252–3264.
- Khasanah, M., 2012, *Pengembangan Metode Voltametri Lucutan untuk Analisis Asam Urat Melalui Pelapisan Elektroda dengan Cetakan Molekul*, Jurusan Kimia FMIPA UGM, Yogyakarta.
- Nabena, E. 2013, *Karakteristik Biosensor Asam Urat Berelektroda Kaki Lengkung Berbasis Film Tebal Hibrid Polimer Polyaniline dan Polypyrrote*, Universitas Pendidikan Indonesia, Jakarta

- Mulyasuryani, A., and Dofir, M., 2014, Enzyme Biosensor for Detection of Organophosphate Pesticide Residues Base on Screen Printed Carbon Electrode (SPCE)-Bovine Serum Albumin (BSA), *Engineering*, vol. 6, pp. 230–235, <http://dx.doi.org/10.4236/eng.2014.65027>.
- Mulyasuryani, A., and Srihardiastuti, A., 2011, Conductimetric Biosensor for the Detection of Uric Acid by Immobilization Uricase on Nata de Coco Membrane Pt Electrode, *Analytical Chemistry Insight*, vol. 6, pp. 47-51.
- Prayoga, I., Mulyasuryani, A., and Prasetyawan, S., 2014, Construction and Characterization of Conductometric Biosensor for Determination of Diazinon Concentration, *Makara Journal of Science*, vol. 18, no. 1, pp 26–30.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2014, Fundamentals of Analytical Chemistry Ninth Edition, *Brooks/Cole Cengage Learning*, USA
- Starkebaum, G.A., 2013, *Medical Encyclopedia : Gout*, diakses pada 5 juni 2015, (<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000422.htm>).
- Zhao, C., Wan, L., Wang, Q., Liu, S., and Jiao, K., 2009, Highly Sensitive and Selective Uric Acid Biosensor Based on Direct Electron Transfer of Hemoglobin-encapsulated Chitosan-modified Glassy Carbon Electrode, *Analytical Sciences*, vol. 25, p. 1013.