

Bidang Ilmu : MIPA/
Gizi dan Penyakit Tropis

Laporan
Hibah Penelitian Strategis Nasional
Tahun Anggaran 2009



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SENSOR SENSITIF ASAM URAT
BERBASIS *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER*

Oleh:

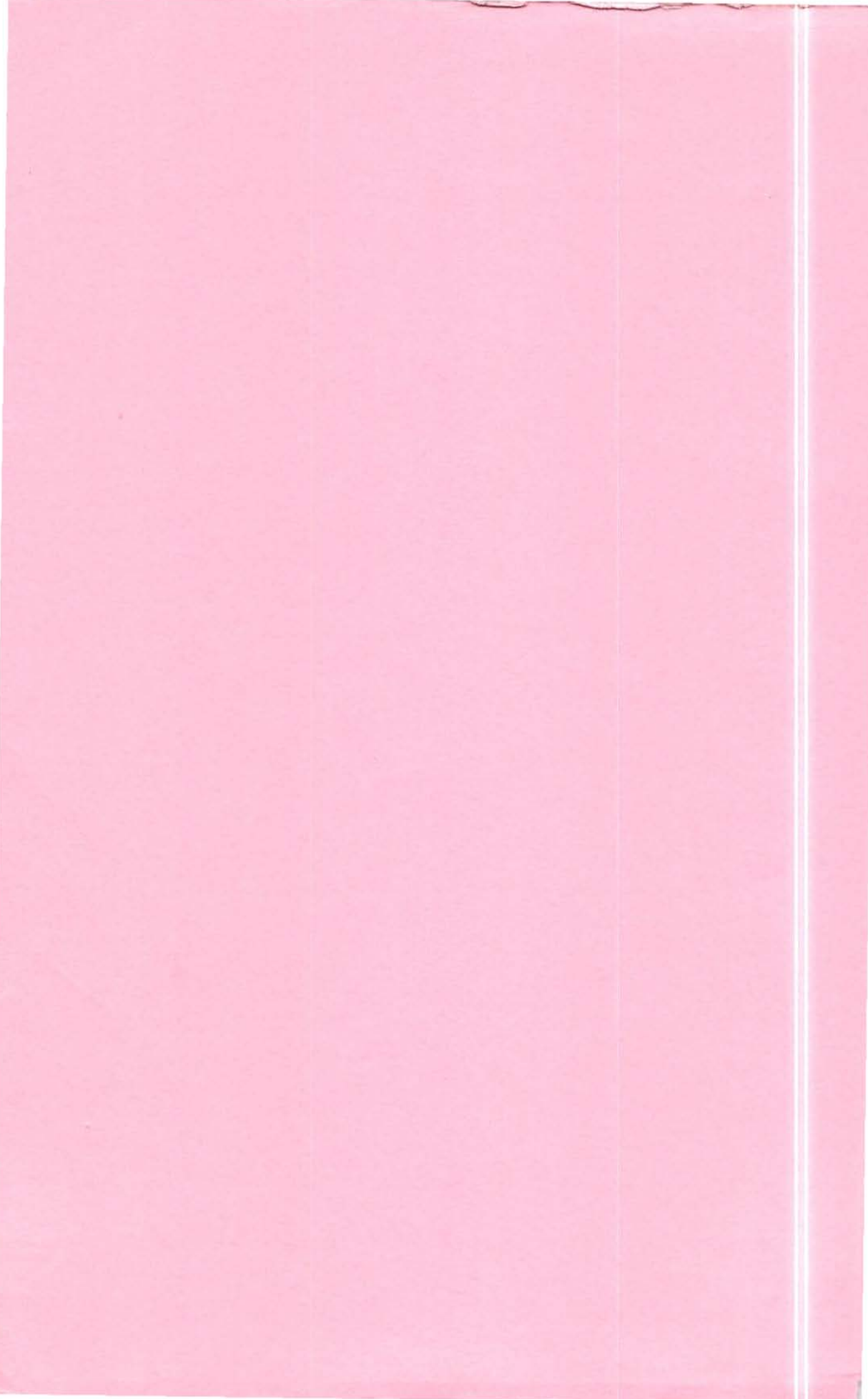
Dra. Miratul Khasanah, M.Si.

Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc

Siti Wafiroh, S.Si, M.Si

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga Tentang Kegiatan Penelitian Strategis Nasional Nomor: 276/H3/KR/2009, Tanggal 16 Februari 2009

UNIVERSITAS AIRLANGGA
OKTOBER 2009



Bidang Ilmu : MIPA/
Gizi dan Penyakit Tropis

Laporan
Hibah Penelitian Strategis Nasional
Tahun Anggaran 2009



l/c
l/c C
LP. 49/10
l/c a
S

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SENSOR SENSITIF ASAM URAT
BERBASIS *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER*

Oleh:

Dra. Miratul Khasanah, M.Si.
Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc
Siti Wafiroh, S.Si, M.Si

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga Tentang Kegiatan Penelitian Strategis Nasional Nomor: 276/H3/KR/2009, Tanggal 16 Februari 2009

UNIVERSITAS AIRLANGGA
OKTOBER 2009

HALAMAN PENGESAHAN


1. JUDUL : Sensor Sensitif Asam Urat berbasis *Molecularly Imprinted Polymer*
2. Ketua Peneliti
- a. Nama lengkap : Dra. Miratul Khasanah, M.Si
 - b. Jenis Kelamin : Laki-laki / Perempuan
 - c. NIP : 131 999 646
 - d. Pangkat / Golongan : Pembina / IV-a
 - e. Jabatan fungsional : Lektor kepala
 - f. Bidang Keahlian : Kimia Analisis dan Instrumentasi
 - g. Fakultas / Departemen : Fakultas Sains dan Teknologi / Kimia
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Tim Peneliti

No.	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS / DEPARTEMEN	PERGURUAN TINGGI
1.	Dr. rer.nat Ganden Supriyanto, M.Sc	Kimia Analisis dan Preparasi	FST / Kimia	Unair
2.	Siti Wafiroh, S.Si., M.Si	Kimia Polimer	FST / Kimia	Unair

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian :
- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 1 (satu) tahun
 - b. Biaya yang diusulkan : Rp 100.000.000,-
 - c. Biaya yang disetujui tahun 2009 : Rp 100.000.000,-

Mengetahui,
Dekan FST Unair



Drs. Salamun, M.Kes
NIP. 131 696 506

Surabaya,
Ketua Peneliti


Dra. Miratul Khasanah, M.Si.
NIP. 131 999 646



Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair,


Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh
NIP. 131 837 004

RINGKASAN

Telah diketahui secara luas bahwa tingginya konsentrasi senyawa asam urat dalam tubuh menunjukkan adanya gejala beberapa penyakit seperti diabetes, kolesterol tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Bahkan beberapa penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kenaikan level asam urat dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen et al, 2005). Penyakit-penyakit yang lain, seperti leukemia dan pneumonia juga diduga berkaitan dengan meningkatnya asam urat (Miland et al, 1996).

Metode voltametri telah digunakan secara ekstensif di dalam analisis elektrokimia untuk penentuan konsentrasi dan sifat-sifat redoks suatu senyawa di dalam larutan, seperti asam urat. Pengembangan metode voltametri untuk analisis asam urat dalam darah dan urin menjadi kajian yang sangat menarik karena keberadaan senyawa tersebut dalam sampel bersama-sama dengan senyawa elektroaktif lainnya, misalnya asam askorbat (vitamin C). Potensial oksidasi asam urat dan asam askorbat yang berdekatan sehingga sangat sulit untuk dipisahkan dengan menggunakan elektoda padat dan cair tanpa modifikasi seperti *glassy carbon electrode* dan *hanging mercury drop electrode* (HMDE) karena respon voltametriknya seringkali overlap jika kedua senyawa tersebut berada bersama-sama dalam sampel. Kemajuan teknologi di bidang voltametri dengan dikembangkannya elektroda melalui modifikasi diharapkan dapat memperkaya riset di bidang elektroanalisis sehingga dihasilkan suatu metode analisis dengan selektivitas dan sensitivitas yang tinggi.

Tujuan penelitian yang akan dilakukan ini adalah memperoleh metode analisis asam urat yang cepat, sensitif, dan selektif, dengan limit deteksi yang rendah melalui pengembangan sensor dengan cara memodifikasi *hanging mercury drop electrode* dengan *molecularly imprinted polymer* (MIP) dan mengaplikasikannya untuk analisis asam urat dalam sampel serum. Modifikasi elektroda dilakukan dengan cara melapiskan polimer ter-*imprint* asam urat pada permukaan elektroda HMDE. Dengan sistem *imprinting* ini akan terbentuk cetakan yang hanya sesuai dengan analit yang

akan dianalisis, dengan demikian akan diperoleh selektivitas dan sensitivitas yang tinggi.

Pada penelitian ini polimer dibuat dari monomer asam metakrilat(MAA), *cross linker* etilen glikol dimetil metakrilat(EGDMA), inisiator azobis isobutironitril(AIBN) dengan variasi pelarut polimer. Polimer dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dan *scanning electron microscopy* (SEM). Parameter penelitian yang dipelajari adalah variasi komposisi polimer dan kondisi elektro-*coating*, serta kondisi pengukuran asam urat. Dilakukan uji validitas metoda meliputi batas deteksi, sensitivitas, reproduibilitas, dan recovery.

Hasil berupa MIP yang disintesis dengan perbandingan mol monomer : *cross linker* : template : inisiator = 1:1:1:0,01 dan 1:3:1:0,01. Dari hasil analisis menggunakan spektrofotometri IR diperoleh data bahwa polimer poli-MAA maupun MIP telah terbentuk. Dari analisis dengan SEM diperoleh bahwa rongga polimer poliMAA-co EGDMA yang terbentuk homogen. Polimer yang terbentuk memberikan kinerja elektroda yang optimum. Relatif tidak terjadi pergeseran *peak* potensial asam urat yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMDE dan HMDE- MIP. Dari hasil analisis secara *cyclic voltammetry* menunjukkan bahwa reaksi asam urat pada elektroda HMDE tidak reversibel.

Linieritas respon arus sangat bagus untuk konsentrasi larutan standar asam urat 0,2 – 1,0 ppb yang dinyatakan dengan persamaan regresi $Y = 16,45 x + 20,169$ dengan harga koefisien korelasi (r) sebesar 0,9963. Sensitivitas dan presisi (RSD) metoda yang diperoleh berturut-turut sebesar 16, 405 nA/ppb dan 0,46 – 1,84%. Limit deteksi yang diperoleh adalah 0,094 ppb. Recovery dalam serum kontrol menggunakan HMDE dan HMDE-MIP berturut-turut adalah 97,9% dan 66,7%. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,50%. Aplikasi elektroda modifikasi untuk penentuan kadar asam urat dalam serum memberikan hasil lebih kecil jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh menggunakan elektroda HMDE. Rentang penyimpangan yang terjadi adalah 1,08 – 2,16 % (jumlah sample 3 buah)

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga kami dapat menyelesaikan hibah penelitian Riset Strategis Nasional tahun 2009 beserta laporan akhirnya dengan baik.

Perkembangan penelitian di Universitas Airlangga dirancang sesuai dengan *academic milestones* yang akan dicapai Universitas Airlangga yang diarahkan pada internasionalisasi bidang pendidikan, penelitian dan publikasi, pengabdian masyarakat serta penjaminan mutu. Sebagai salah satu bidang yang diarahkan pada internasionalisasi, maka bidang penelitian dan publikasi mengembangkan roadmap penelitian (2007-2015) Universitas Airlangga melalui pemberian arah penelitian dengan program-program unggulan/hibah yang dapat dijadikan kekhususan bagi Universitas Airlangga. Salah satu program Hibah Penelitian yang dimaksud adalah Riset Strategis Nasional.

Penelitian yang berjudul "Sensor Sensitif Asam Urat berbasis *Molecularly Imprinted Polymer*" diharapkan menjadi metoda alternatif penentuan kadar asam urat dalam serum dan urin disamping metode spektrofotometri yang biasa digunakan di bidang medis, sehingga dapat memperkaya riset di bidang analisis yang menunjang bidang medis. Hasil lain dari penelitian ini adalah artikel yang dapat dipublikasikan dalam jurnal nasional terakreditasi dan seminar internasional.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada

1. Direktorat Pendidikan Tinggi (DP2M) melalui Universitas Airlangga yang telah memberikan dana kepada peneliti sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan lancar
2. Rektor dan Ketua LPPM Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini
3. Dekan dan Ketua Departemen Kimia FST Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas laboratorium selama penelitian ini berlangsung
4. Sejawat dosen dan para laboran serta analis di lingkungan Departemen Kimia FMIPA Unair yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini
5. Pimpinan dan Segenap Staf Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo yang telah membantu menyediakan sampel untuk penelitian ini
6. Para mahasiswa bimbingan skripsi yang telah dengan tekun membantu melaksanakan penelitian ini

Kami berharap semoga laporan hibah penelitian ini bermanfaat bagi pihak terkait.

Surabaya,
Tim peneliti

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
LAPORAN EKSEKUTIF	x
SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Analisis secara voltammetri	5
2.2 Analisis Umum terhadap Asam Urat	6
2.3 Analisis Asam Urat secara Voltammetri	8
2.4 Modifikasi Elektrodapada Voltammetri	9
2.5 Modifikasi Elektroda menggunakan Polimer tercetak Molekul	10
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian	13
3.2 Manfaat Penelitian	13
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan dan Alat Penelitian	14
4.2 Prosedur Penelitian	14
4.3 Diagram Alir Penelitian	19
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat secara <i>stripping voltammetry</i> menggunakan elektroda HMDE	20
5.2 Sintesis serta karakterisasi polimer dan MIP	20
5.3 Aplikasi MIP-HMDE untuk analisis asam urat	25
5.4 Uji Reversibilitas Reaksi pada Elektroda	29
5.5 Reaksi Kimia yang terjadi	30
5.6 Uji Validitas Metode	31
5.7 Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat menggunakan elektroda modifikasi HMD-MIP	32
5.8 Publikasi dalam Seminar dan Pertemuan Ilmiah	33
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	34
6.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No Tabel	Judul Tabel	halaman
5.3.1	Hasil optimasi pH larutan asam urat	28
5.6.1	Data pembuatan kurva baku asam urat dengan elektroda HMDE-MIP	31
5.7.1	Data hasil uji interferensi asam askorbat (AA) pada analisis asam urat (UA) menggunakan elektroda HMDE=MIP	32
5.8.1	Hasil analisis asam urat dalam sampel serum	33

DAFTAR GAMBAR

No Gambar	Judul Gambar	halaman
2.2.1	Struktur asam urat	6
2.5.1	Gambar konsep pencetakan molekul (<i>molecular imprinting</i>) melalui pendekatan non kovalen	12
5.2.1	Spektra IR asam metakrilat	21
5.2.2	Spektra IR poli-asam metakrilat	22
5.2.3	Spektra IR polimer yang terbuat dari asam metakrilat, EGDMA dan asam urat (sebelum diekstraksi)	23
5.2.4	Spektra IR dari polimer yang terbentuk dari asam metakrilat dan EGDMA (asam urat telah diekstraksi dari jaringan)	24
5.2.5	Hasil analisis SEM terhadap (a) permukaan dan (b) penampang lintang MIP	25
5.3.1	Voltammogram hasil analisis asam urat 40 ppb menggunakan (a) HMDE dan (b) HMDE-MIP	27
5.4.1	Voltammogram siklik asam urat 40 ppb	30
5.6.1	Kurva baku asam urat	31

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul Lampiran
1	Spektra hasil analisis polimer dengan spektrofotometer merah infra(IR)
2	Hasil Analisis polimer dengan SEM
3	Contoh voltammogram hasil analisis asam urat dengan voltametri menggunakan modifikasi HMDE -MIP
4	Contoh voltammogram hasil analisis asam urat dengan voltametri siklik
5	Makalah <ol style="list-style-type: none">1. <i>"The Influence of Ascorbic Acid on Uric Acid Determination in Serum and Urine with Stripping Voltammetry using Hanging Mercury Drop Electrode"</i>2. "Sintesis dan karakterisasi <i>molecular imprinted polymer</i> dan aplikasinya sebagai material sensor sensitif dan selektif terhadap asam urat"
6	Abstrak makalah disampaikan pada seminar dalam rangka Dies Natalis ke-54 FMIPA UGM tahun 2009
7	Dukungan sarana penelitian dan personalia peneliti

ABSTRAK

Tingginya konsentrasi asam urat di dalam tubuh seringkali dikaitkan dengan beberapa penyakit berbahaya seperti hiperurisemia, hipertensi, penyakit ginjal dan kardiovaskuler, sehingga diperlukan metoda yang tepat untuk mendeteksi secara akurat kadar asam urat dalam tubuh. Metode voltametri telah banyak dikembangkan untuk penentuan kadar asam urat, tetapi analisis asam urat dengan metoda ini diganggu oleh vitamin C yang biasanya terdapat bersama-sama dengan asam urat dalam sampel serum dan urin.

Tujuan penelitian yang dilakukan ini adalah memperoleh metode analisis asam urat yang cepat, sensitif, dan selektif, dengan limit deteksi yang rendah melalui pengembangan sensor dengan cara memodifikasi *hanging mercury drop electrode* dengan *molecularly imprinted polymer* dan mengaplikasikannya untuk analisis asam urat dalam sampel serum.

Pada penelitian ini polimer dibuat dari monomer asam metakrilat(MAA), *cross linker* etilen glikol dimetil metakrilat(EGDMA), inisiator azobis isobutironitril(AIBN). Polimer dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dan *scanning electron microscopy* (SEM). Parameter penelitian yang dipelajari adalah komposisi polimer dan kondisi elektropolimerisasi, serta kondisi pengukuran. Dilakukan uji validitas metoda meliputi batas deteksi, sensitivitas, reproduisibilitas, dan recovery.

Dari hasil analisis menggunakan spektrofotometri IR diperoleh data bahwa polimer poli-MAA maupun MIP telah terbentuk. Dari analisis dengan SEM diperoleh bahwa rongga polimer poliMAA-co EGDMA yang terbentuk homogen. MIP yang disintesis dengan perbandingan mol monomer : *cross linker* : template : inisiator = 1:1:1:0,01 dan 1:3:1:0,01 memberikan kinerja optimum. Terjadi pergeseran *peak* potensial asam urat yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMDE dan HMDE-termodifikasi MIP. Dari hasil analisis secara *cyclic voltammetry* menunjukkan bahwa reaksi asam urat pada elektroda HMDE tidak reversibel.

Linieritas respon arus sangat bagus untuk konsentrasi larutan standar asam urat 0,2 – 1,0 ppb yang dinyatakan dengan persamaan regresi $Y = 16,45 x + 20,169$ dengan harga koefisien korelasi (r) sebesar 0,9963. Sensitivitas dan presisi (RSD) metoda yang diperoleh berturut-turut sebesar 16,405 nA/ppb dan 0,46 – 1,84%. Limit deteksi yang diperoleh adalah 0,094 ppb. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,50%. Recovery dalam serum kontrol menggunakan HMDE dan HMDE-MIP berturut-turut sebesar 97,9% dan 66,7%.

Dari hasil aplikasi elektroda modifikasi HMDE-MIP untuk penentuan kadar asam urat dalam sampel serum diperoleh penyimpangan sebesar 1,08 – 2,16% jika dibandingkan dengan HMDE.

Kata kunci : sensor - asam urat - molecularly imprinted polimer - hanging mercury drop electrode

LAPORAN EKSEKUTIF

SENSOR SENSITIF ASAM URAT BERBASIS *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER*

Oleh:

Dra. Miratul Khasanah, M.Si.

Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc

Siti Wafiroh, S.Si, M.Si

I. PERMASALAHAN DAN TUJUAN PENELITIAN

Metoda voltametri dengan elektroda padat dan cair telah digunakan untuk penentuan konsentrasi asam urat dalam cairan tubuh. Namun dengan elektroda tanpa modifikasi keberadaan asam askorbat (vitamin C) sering mengganggu analisis asam urat. Dengan menggunakan elektroda padat seperti *glassy carbon (GC)* atau pasta karbon (*carbon paste, CP*), atau elektroda cair merkuri tanpa modifikasi terjadi tumpangtuh antara respon voltammetrik asam urat dan asam askorbat. Limit deteksi yang diperoleh dengan elektroda tersebut berkisar pada skala milimolar – mikromolar. Pada penelitian ini dilakukan pengembangan sensor melalui modifikasi elektroda *hanging drop mercury electrode* dengan MIP. Dengan sistem MIP ini diharapkan terbentuk cetakan yang hanya akan sesuai dengan analit yang akan dianalisis (asam urat), sehingga hasil yang diperoleh lebih selektif dan sensitif.

II. INOVASI IPTEKS

Kontribusi yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini terhadap pembaharuan dan pengembangan Ipteks adalah metoda alternatif untuk analisis asam urat secara lebih cepat, selektif, sensitif, reproduisibel serta mempunyai batas deteksi yang rendah dan nilai *recovery* yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk diagnosa secara lebih dini terhadap konsentrasi asam urat dalam tubuh. Inovasi metode ini diharapkan memberikan kontribusi yang bermakna pada perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kimia analitik dan biomedis.

Cakupan penelitian berupa pengembangan sensor yang sensitif dan selektif terhadap asam urat. Dari hasil penelitian ini diharapkan juga akan terbuka kemungkinan untuk dikembangkan sensor yang sensitif dan selektif untuk monitoring kadar senyawa yang keberadaannya di dalam tubuh harus selalu dikontrol seperti kreatin, kreatinin, kolesterol, dll.

III. KONTRIBUSI TERHADAP PEMBANGUNAN

Hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang bermakna pada bidang analisis dan biomedis untuk menjadi metoda alternatif dalam pengontrolan kadar asam urat dalam tubuh yang dapat mendampingi bahkan menggantikan metode baku yang selama ini digunakan di dunia kesehatan. Dikembangkannya metode analisis asam urat yang cepat, selektif, dan sensitif dengan limit deteksi yang rendah serta mempunyai *recovery* yang tinggi akan mengurangi resiko kesalahan diagnosis. Sensor yang sensitif dan mempunyai limit deteksi rendah akan dapat digunakan untuk analisis sampel dalam jumlah yang relatif sangat kecil serta dapat mendeteksi analit sampai konsentrasi skala nanogram. Dengan demikian adanya penyakit yang disebabkan oleh asam urat dapat dideteksi secara dini dan dapat diberikan *treatment* yang tepat pada penderitanya.

IV. MANFAAT BAGI INSTITUSI

Penelitian ini dilakukan di Departemen Kimia FST Universitas Airlangga, serta menggunakan fasilitas laboratorium berupa peralatan utama dan beberapa peralatan penunjang. Analisis terhadap material polimer dilakukan di laboratorium Kimia ITS dan Laboratorium Geologi Kuartener PPGL Bandung.

Penerapan metoda alternatif yang dihasilkan akan melibatkan laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Sutomo sebagai salah institusi yang secara rutin menangani/melakukan analisis kadar asam urat dalam sampel serum.

Salah satu manfaat hasil penelitian bagi institusi adalah meningkatkan jumlah publikasi yang diterbitkan dalam jurnal nasional terakreditasi maupun publikasi dalam

seminar internasional. Peningkatan jumlah publikasi staf di institusi ini akan berdampak pada peningkatan kualitas/mutu penelitian dan mutu institusi dalam dunia internasional, dengan demikian akan meningkatkan peringkat Universitas Airlangga dalam dunia internasional. Selain itu akan terbangun jaringan kerjasama dengan insitusi medis, sebagai pengguna teknologi, yang menerapkan hasil-hasil penelitian dari intitusi pada bidang medis.

Sebagai kontribusi pada percepatan masa studi mahasiswa, penelitian ini melibatkan 4 (empat) orang mahasiswa S1 angkatan 2006. Dengan melibatkan mahasiswa tersebut dalam penelitian ini, akan berdampak pada pendeknya masa studi mahasiswa. Sampai laporan ini ditulis, belum dapat disertakan naskah skripsi mahasiswa, karena mahasiswa yang terlibat pada penelitian ini belum memenuhi persyaratan untuk memprogram Skripsi (sedang menempuh semester 7, dan baru memprogram mata kuliah Seminar). Naskah skripsi akan selesai ditulis pada bulan Juli 2010 (di akhir masa studi mahasiswa yang bersangkutan). Adapun nama mahasiswa dan rencana judul penelitian skripsi ditampilkan dalam tabel berikut.

No	Nama	NIM	Rencana Judul Skripsi
1	Dwi Ikasari	080610189	Modifikasi elektroda merkuri dengan <i>molecularly imprinted polymer</i> dan aplikasinya untuk analisis asam urat
2	Fransisca N. Tambunan	080610154	Peningkatan selektivitas elektroda untuk deteksi asam urat melalui pemanfaatan teknik <i>imprinted polymer</i>
3	Paramita R. Arwindah	080610237	Pengembangan sensor HMDE-polianilin untuk analisis asam urat dalam serum
4	Serly Ovaria Putri	080610033	Pemanfaatan teknik <i>molecularly imprinted polymer</i> pada pembuatan sensor yang selektif dan sensitif terhadap asam urat

V. PUBLIKASI ILMIAH (artikel terlampir)

Hasil penelitian ini sebagian telah dipresentasikan di pertemuan ilmiah nasional dan seminar internasional, sedangkan sebagian lagi akan dipublikasikan pada jurnal nasional terakreditasi. Judul artikel dan jenis publikasi hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Seminar Internasional

Khasanah, M., Supriyanto, G., Roheni, I., Mudasir, Kuncaka, A., and Sugiharto, E., 2009, **Influence of Ascorbic Acid on the Determination of Uric Acid in Serum and Urine with Hanging Mercury drop Electrode**, *Proceeding of the 2nd International Seminar ICOWOBAS – RAFSS*, Universiti Teknologi Malaysia, June, 2nd – 4th 2009 (makalah terlampir)

2. Pertemuan Ilmiah (Seminar MIPA UGM)

Khasanah, M., Mudasir, Kuncaka, A., and Sugiharto, E., 2009, **Modifikasi Elektroda Hanging Mercury Drop Dengan Cetakan Molekul Untuk Analisis Asam Urat Secara Voltammetri Lucutan (Bagian dari Penelitian)**, *Seminar Hasil Penelitian dalam rangka Dies Natalis FMIPA UGM ke-54*, 10 Oktober 2009, Yogyakarta (abstrak terlampir)

3. Rencana Publikasi dalam jurnal nasional terakreditasi

Khasanah, M., Supriyanto, G., dan Wafiroh, S., **“Sintesis dan karakterisasi *molecular imprinted polymer* dan aplikasinya sebagai material sensor sensitif dan selektif terhadap asam urat”**, *Indonesian Journal of Chemistry*, Jurusan Kimia FMIPA UGM, tahun 2010 (makalah terlampir).

SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN

Penelitian aplikasi HMDE untuk penentuan kadar asam urat dalam sampel serum dan urin secara voltametri telah dilakukan. Hasil yang diperoleh menunjukkan sensitivitas, recovery dan reproduibilitas yang tinggi serta limit deteksi yang rendah. Namun analisis asam urat dengan metode ini diganggu oleh asam askorbat (Khasanah, dkk, 2007; 2009). Modifikasi HMDE - *molecular imprinting polymer* (MIP) untuk penentuan kadar asam urat secara voltametri juga telah dilakukan (Khasanah, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan HMDE-MIP diperoleh respon pengukuran yang bagus seperti jika menggunakan HMDE tanpa modifikasi. Bahkan dengan sistem *imprinting* ini diperoleh suatu cetakan yang hanya sesuai dengan analit target, terbukti dengan relatif tidak terpengaruhnya analisis asam urat oleh adanya asam askorbat. Namun demikian, elektroda hasil modifikasi hanya dapat digunakan untuk sekali pengukuran. Hal ini sangat tidak ekonomis karena biaya pengukuran per sampelnya menjadi mahal. Selain itu waktu yang dibutuhkan untuk analisis menjadi lebih lama, karena setiap kali analisis harus selalu dibuat elektroda modifikasi yang baru.

Masalah ini akan dijadikan dasar untuk pengusulan penelitian selanjutnya. Pada penelitian selanjutnya akan dibuat dan dikembangkan modifikasi dengan cara melapisi elektroda pendukung padat berupa *glassy carbon* dengan *molecular imprinted polymer* (MIP) yang terbuat dari monomer melamin co kloranil. Pembuatan polimer dari monomer melamin ini tidak membutuhkan *crosslinker* dan inisiator, karena polimer yang terbentuk dari monomer tersebut berstruktur sederhana, mempunyai kelenturan yang bagus dan reaksi pembentukannya sangat cepat serta mudah tanpa memerlukan bantuan inisiator (Prasad, 2007). Modifikasi elektroda dengan pendukung elektroda padat dan dengan polimer yang sederhana ini diharapkan dapat meningkatkan ketahanan elektroda sehingga elektroda dapat digunakan untuk beberapa kali pengukuran. Selain itu diharapkan selektivitas pengukuran akan meningkat, dan menurunkan limit deteksi.

BAB I PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Asam urat di dalam tubuh merupakan hasil akhir metabolisme purin. Kadar normal asam urat dalam tubuh manusia berkisar 3,5 – 7 mg/dL untuk pria dan 2,6 – 6 mg/dL untuk wanita. Sering dijumpainya kasus abnormalitas konsentrasi asam urat dalam serum dan urin telah menjadi perhatian peneliti dalam bidang biomedis dan biokimia analisis. Hal ini dikarenakan asam urat memegang peranan yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh. Selain itu, tingginya konsentrasi senyawa ini dalam tubuh dapat mengindikasikan adanya gejala beberapa penyakit seperti diabetes, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati, serta dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen *et al.*, 2005).

Metoda penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah spektrofotometri dengan pereaksi asam fosfotungstat atau menggunakan enzim *uricase* (Chen *et al.*, 2005). Kelemahan metoda ini adalah membutuhkan perlakuan sampel yang rumit, sehingga memerlukan waktu analisis yang lama, jumlah sampel yang diperlukan relatif banyak dan mempunyai batas deteksi yang tinggi (mM) sehingga kurang sensitif.

Pengembangan metoda voltametri untuk analisis asam urat dalam darah dan urin menjadi kajian yang sangat menarik karena keberadaan senyawa tersebut dalam sampel bersama-sama dengan senyawa elektroaktif lainnya, seperti asam askorbat (vitamin C) yang sering mengganggu analisis asam urat. Dengan menggunakan elektoda padat murni seperti *glassy carbon (GC)* atau pasta karbon (*carbon paste, CP*), respon voltametrik asam urat dan asam askorbat berdekatan bahkan cenderung tumpangtuh (*overlap*). Selain itu penggunaan elektoda padat murni memerlukan perlakuan awal yang membutuhkan waktu lama sebelum digunakan untuk analisis, serta tidak dapat digunakan untuk analisis larutan yang mempunyai keasaman tinggi (Cai *et al.*, 1997; Strochkova *et al.*, 1997; John, 2005).

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, para peneliti melakukan analisis asam urat menggunakan elektroda padat yang dimodifikasi, diantaranya *screen printed carbon-based electrode* (Carsol *et al.*, 1997), *nafion coated carbon paste electrode* (Zen dan Hsu 1998), elektroda emas-paladium (Matos *et al.*, 2000), elektroda modifikasi GC – propionil kolin (Qin dan Ping, 2005), elektroda modifikasi serbuk grafit – DNA (Luo *et al.*, 2005), GC – norepinefrin (Zare *et al.*, 2005), GC – 5-hidroksi triptofan) (Lin dan Li, 2006), dan elektroda GC termodifikasi nanopartikel CeO₂ (Wei *et al.*, 2006). Dengan elektroda modifikasi tersebut, analisis asam urat sangat diganggu oleh adanya oksigen terlarut yang dihasilkan akibat penggunaan potensial oksidasi yang tinggi. Selain itu modifikasi elektroda memerlukan tahapan yang sangat rumit dan memerlukan waktu lama, serta elektroda yang dihasilkan hanya mampu untuk analisis dengan rentang konsentrasi yang relatif tinggi (mM).

Khasanah dkk (2006; 2007) melakukan analisis asam urat dalam sampel urin dan serum secara voltametri lucutan menggunakan elektroda cair berupa *hanging mercury drop electrode* (HMDE). Batas deteksi yang diperoleh adalah 5,08 µg/L dengan sensitivitas 0,1515 nA L/µg, namun penentuan kadar asam urat dengan metoda ini diganggu oleh asam askorbat. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat menyebabkan sinyal arus voltammogram turun sebesar 24,96% (Khasanah dkk, 2009).

Melihat kendala-kendala analisis asam urat tersebut, pada penelitian ini dilakukan modifikasi HMDE menggunakan polimer dengan cetakan molekul (*molecularly imprinted polymer, MIP*) untuk analisis asam urat secara voltametri lucutan. Dengan sistem *imprinting* ini akan dibentuk cetakan yang spesifik untuk molekul tertentu sehingga analisis terhadap analit tidak diganggu oleh adanya matriks lain karena cetakan hanya akan sesuai terhadap spesi yang dianalisis.

Prasad dan Lakshmi (2005) telah melakukan modifikasi HMDE dengan suatu polimer tercetak molekul (HMDE-cetakan molekul) yang terbuat dari monomer melamin dan kloranil untuk analisis asam barbiturat dalam darah. Lakshmi *et al.* (2006; 2007) telah mengaplikasikan sistem HMDE- cetakan molekul untuk analisis

kreatinin dan kreatin, sedangkan Prasad *et al.* (2007) telah memanfaatkan polimer dengan cetakan molekul yang terikat silikagel sebagai sorben pada sistem *solid phase extraction (SPE)* untuk memisahkan asam urat dari matrik lain.

Pada penelitian ini, polimer dibuat dari monomer asam metakrilat (MAA) menggunakan *cross linker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan inisiator 2,2'-azobis isobutironitril (AIBN), sedangkan sebagai *template* adalah asam urat. Polimer dibuat dengan cara mencampurkan monomer, *cross linker* dan *template* dengan perbandingan mol bervariasi. Karakterisasi terhadap polimer yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dan *scanning electron microscopy (SEM)*. Pelarut polimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah dimetilformamida (DMF). Variabel penelitian yang dipelajari meliputi komposisi polimer yaitu perbandingan mol monomer, *cross linker* dan *template* (asam urat), serta kondisi pelapisan/elektro-*coating* polimer ke HMDE meliputi potensial dan waktu deposisi. Dari hasil optimasi potensial terpasang saat pelapisan (*coating*) polimer ke permukaan HMDE tersebut akan dapat ditentukan apakah HMDE bertindak sebagai katoda atau anoda.

Elektroda modifikasi yang terbentuk digunakan untuk analisis larutan asam urat dan voltammogram yang dihasilkan dibandingkan dengan voltammogram yang diperoleh menggunakan elektroda HMDE dan elektroda modifikasi HMD berbasis polimer tanpa cetakan molekul (*non imprinted polymer, NIP*). Sebelum dilakukan analisis asam urat, dilakukan optimasi parameter pengukuran meliputi potensial akumulasi (prekonsentrasi) dan waktu akumulasi. Sedangkan pH larutan asam urat dibuat tetap yaitu pH 5 dengan menambahkan buffer setat.

Uji validitas metoda dilakukan melalui penentuan batas deteksi, sensitivitas, reproduisibilitas, dan *recovery*. Pada penelitian ini juga dipelajari pengaruh asam askorbat (biasanya terdapat dalam sampel serum dan urin) pada penentuan kadar asam urat secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul. Selanjutnya untuk menunjukkan keterpakaian metoda yang dikembangkan,

elektroda modifikasi yang diperoleh diaplikasikan untuk analisis kadar asam urat dalam sampel serum dan urin.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang permasalahan di atas maka dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut.

1. Bagaimanakah perbandingan mol monomer, *cross linker* dan *template* penyusun polimer dengan cetakan molekul (MIP) yang menghasilkan elektroda modifikasi dengan kinerja optimum?
2. Bagaimanakah kondisi optimum elektro-*coating* polimer pada HMDE?
3. Berapakah batas deteksi (LOD), sensitivitas, reproduibilitas dan *recovery* metoda voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMD-MIP untuk analisis asam urat?
4. Bagaimanakah pengaruh asam askorbat yang sering terdapat dalam sampel serum dan urin terhadap analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMD-MIP?

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Analisis secara Voltammetri

Teknik elektroanalisis banyak digunakan untuk menentukan kandungan spesi elektroaktif dalam larutan sampel. Kelebihan teknik analisis secara elektrometri adalah waktu yang dibutuhkan relatif cepat, batas deteksi rendah, sensitivitas tinggi, dapat menganalisis analit dengan rentang konsentrasi yang luas, dan membutuhkan sedikit preparasi sampel.

Suatu metoda elektroanalisis yang sangat peka yaitu *electrochemical stripping* (ES) telah dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan terhadap analisis spesi elektroaktif hingga skala mikrogram/liter. Metoda ES meliputi voltammetri lucutan (*stripping voltammetry, SV*) dan analisis lucutan potensiometrik (*potentiometric stripping analysis, PSA*). Prosedur analisis secara ES terdiri dari dua tahap yaitu deposisi (akumulasi) dan lucutan (*stripping*). Pada metoda voltammetri lucutan, mula-mula analit dilapiskan pada elektroda kerja kemudian dengan menggeser potensial ke arah anodik/katodik analit tersebut akan terluat kembali (*stripping*) dan pada saat itu diperoleh sinyal berupa voltamogram yang menyatakan hubungan potensial dan arus. Voltamogram yang dihasilkan dari analisis secara voltammetri dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif analit. Pada kondisi tertentu, secara kualitatif tiap-tiap analit mempunyai potensial akumulasi yang spesifik, sedangkan analisis kuantitatif dinyatakan dengan besarnya arus difusi yang ditimbulkan oleh analit elektroaktif karena konsentrasi analit sebanding dengan besarnya arus difusi (Wang, 2000).

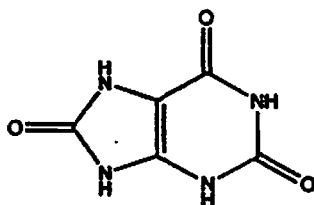
Instrumentasi analisis voltammetri adalah seperangkat peralatan voltammeter yang terdiri atas prosesor, wadah sampel dan elektroda. Elektroda yang digunakan meliputi elektroda kerja, elektroda pembanding dan elektroda pembantu (*counter/auxiliary*). Elektroda kerja adalah elektroda dimana reaksi analit berlangsung. Elektroda kerja yang digunakan pada voltammetri mempunyai luas permukaan yang

sangat kecil. Sebagai elektroda kerja dapat digunakan elektroda padat, diantaranya *glassy carbon electrode* (GCE), elektroda emas atau elektroda grafit. Selain elektroda padat juga dapat digunakan elektroda cair diantaranya *hanging mercury drop electrode*(HMDE) atau *mercury drop electrode*(MDE). Pemilihan elektroda kerja sangat penting dilakukan agar diperoleh hasil yang sensitif dan reproduibel saat proses lucutan. Elektroda pembanding yang digunakan pada voltametri adalah elektroda Ag/AgCl dan sebagai elektroda pembantu digunakan elektroda platina (Pt).

Kelebihan HMDE dan MDE adalah mempunyai luas permukaan yang reproduibel, arus *background* rendah, overpotensial yang diperlukan untuk pembentukan gas H₂ sangat tinggi sehingga memungkinkan dilakukan analisis terhadap larutan yang sangat asam. Teknik SV dengan HMDE dipakai secara luas untuk penentuan logam berat, senyawa fenolik, heterosiklik, dan senyawa nitro dalam sampel biologi (Lawrence, 2002), analisis antioksidan dalam serum (Martinez, 2006), serta analisis formulasi dan *biofluid* dalam obat (El-Maali, 2004).

2.2. Analisis Umum terhadap Asam Urat

Senyawa asam urat atau 7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trione berbentuk kristal putih, mempunyai rumus molekul C₅H₄N₄O₃ dengan massa molekul relatif 168,11 g/mol, pKa 5,75, berat jenis 1,89, larut dalam gliserol, alkali hidroksida, alkali karbonat, natrium asetat, natrium fosfat, dan tidak larut dalam alkohol dan eter (O'Neil dan Maryadete, 2001). Struktur kimia asam urat adalah seperti Gambar 2.2.1.

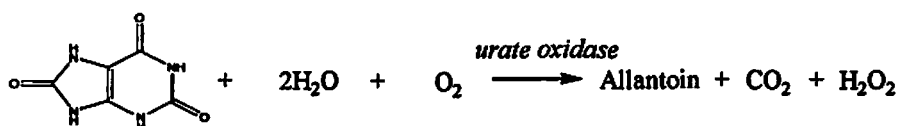


Gambar 2.2.1. Struktur asam urat

Di dalam tubuh, asam urat merupakan produk akhir metabolisme purin, dan biasanya terdapat dalam darah dan urin. Senyawa ini mendapatkan perhatian sangat

luas di kalangan biomedis dan bioanalisis karena peranannya yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh (Zare *et al.*, 2006). Telah diketahui secara luas bahwa konsentrasi abnormal asam urat dalam tubuh menunjukkan adanya gejala beberapa penyakit seperti diabetes, kolesterol tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kenaikan level asam urat juga dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen *et al.*, 2005). Penyakit-penyakit yang lain, seperti leukemia dan peneumonia juga diduga berkaitan dengan meningkatnya kadar asam urat dalam tubuh (Miland *et al.*, 1996). Metoda penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah metoda spektrofotometri menggunakan pereaksi asam fosfotungstat atau dengan menggunakan enzim *uricase* (Chen *et al.*, 2005). Pada metoda yang pertama, asam urat dalam serum direaksikan dengan asam fosfotungstat dalam suasana basa sehingga asam fosfotungstat akan direduksi oleh asam urat menghasilkan larutan berwarna biru. Analisis dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang (λ) 660 nm. Kelemahan metoda ini adalah membutuhkan perlakuan sampel yang rumit sehingga membutuhkan waktu analisis yang lama, jumlah sampel yang diperlukan relatif banyak serta mempunyai batas deteksi yang tinggi (mM).

Pada pendekatan enzimatik dibutuhkan beberapa tahapan pengerjaan yang relatif sulit yaitu dengan cara mereaksikan sampel dengan enzim *urate oxidase* berlebih, diikuti pengendapan sisa enzim dengan asam trikloroasetat. Kadar asam urat ditentukan berdasarkan perbedaan absorbansi antara larutan sampel dengan larutan asam urat kontrol pada $\lambda = 290$ nm. Asam urat dioksidasi oleh enzim *urate oxidase* menghasilkan allantoin dan hasil samping reaksi berupa H_2O_2 dengan persamaan reaksi sebagai berikut (Akyilmaz *et al.*, 2003).



Reaksi tersebut juga dapat digunakan dalam penentuan kadar asam urat secara enzimatis menggunakan metoda amperometri. Sinyal yang terukur menunjukkan jumlah oksigen yang digunakan dan sebanding dengan konsentrasi asam urat. Metoda analisis seperti ini membutuhkan tahapan preparasi sampel yang rumit dengan waktu analisis yang lama serta jumlah sampel yang banyak, sedangkan batas deteksi yang diperoleh cukup tinggi.

2.3. Analisis Asam Urat secara Voltammetri

Asam urat merupakan senyawa yang bersifat elektroaktif sehingga memungkinkan dilakukan analisis terhadap kadarnya secara voltammetri. Walaupun metoda analisis asam urat secara voltammetri telah dikembangkan, adanya senyawa lain dalam sampel yang mempunyai respon voltammetrik berdekatan dengan asam urat dapat mengganggu analisis asam urat. Elektroda adalah komponen terpenting dalam metoda voltammetri karena selektivitas, sensitivitas dan akurasi metoda voltammetri salah satunya ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Elektroda yang selama ini banyak digunakan adalah elektroda padat yang terbuat dari *glassy carbon (GC)*, karbon atau emas (Skoog, 1996). Beberapa peneliti telah melakukan analisis asam urat secara voltammetri menggunakan elektroda padat seperti elektroda pasta karbon (*CPE*) (Cai *et al.*, 1994), *screen printed carbon paste electrode (CPE)* (Carsol *et al.*, 1997), *glassy carbon electrode (GCE)* (John, 2005 dan Ren *et al.*, 2006), *rotating glassy carbon electrode (RGCE)* (Strochkova *et al.*, 1997), *glassy carbon oxidised (GCO)* (Premkumar dan Khoo, 2005). Kelemahan penggunaan elektroda tersebut diantaranya adalah memerlukan perlakuan awal yang lama sebelum digunakan untuk analisis, jangkauan analisis hanya pada konsentrasi tinggi, memiliki batas deteksi yang tinggi serta harganya relatif mahal (*GCE*) atau penyiapannya yang rumit (*CPE*).

2.4. Modifikasi Elektroda pada voltammetri

Elektroda adalah komponen terpenting dalam metoda voltammetri karena sensitivitas dan akurasi metoda voltammetri salah satunya ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Elektroda yang selama ini banyak digunakan adalah elektroda padat yang terbuat dari *glassy carbon (GC)*, karbon atau emas (Skoog, 1996). Perkembangan teknologi di bidang voltammetri ditandai dengan pengembangan elektroda yaitu dengan cara memodifikasi elektroda melalui pelapisan senyawa tertentu di permukaan elektroda atau mencampur senyawa tertentu pada material elektroda, seperti karbon pasta (Wang, 2000).

Modifikasi elektroda dilakukan untuk menambah selektivitas elektroda atau untuk mengurangi gangguan matriks dalam sampel yang dianalisis. Ada tiga macam cara modifikasi elektroda (Brett and Brett, 1998) yaitu

- a. melapisi elektroda dengan film melalui reaksi kimia secara *self-assembled monolayer (SAM)*. Sebagai contoh elektroda emas dimodifikasi dengan n-alkanatiol dengan cara merendam elektroda emas pada larutan alkanatiol selama jangka waktu tertentu,
- b. melapisi elektroda dengan lapisan polimer dengan cara elektropolimerisasi pada permukaan elektroda. Beberapa tipe polimer yang dapat digunakan untuk teknik ini dapat juga berfungsi sebagai polimer penukar ion seperti nafion,
- c. memodifikasi keseluruhan elektroda. Modifikasi elektroda dengan cara ini memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan modifikasi permukaan elektroda. Di sini material modifikasi dicampur dengan material elektroda seperti pasta karbon. Permukaan elektroda dapat diperoleh dengan mudah dan cepat hanya dengan pemolesan atau pemotongan.

Analisis asam urat secara voltammetri menggunakan elektroda modifikasi telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Metoda *square-wave voltammetric* menggunakan elektroda modifikasi *nafion-coated carbon paste electrode* telah digunakan untuk menentukan kadar asam urat yang berada bersama-sama dengan asam askorbat dengan kadar yang jauh lebih tinggi dari asam urat (Zen dan Hsu,

1998). Dengan metoda ini diperoleh batas deteksi yang tinggi yaitu 0,25 mM. Analisis asam urat secara voltametri dengan menggunakan elektroda *thionine-nafion modified electrode* telah dilakukan oleh Shahrokhian dan Ghalkhani (2006). Batas deteksi yang diperoleh menggunakan elektroda tersebut secara voltametri denyut deferensial (*differential pulse voltammetry, DPV*) adalah sebesar 5×10^{-8} M.

Zare *et al.* (2006) menggunakan elektroda modifikasi *GCE - oracet blue (OB)* untuk penentuan kadar dopamin, asam askorbat, dan asam urat secara bersamaan (simultan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan metoda tersebut potensial oksidasi dopamin, asam urat, dan asam askorbat pada elektroda tidak saling mengganggu sama lain, sehingga pengukuran campuran senyawa ini secara bersamaan dapat dilakukan. Namun penyiapan elektroda ini memerlukan waktu yang lama karena harus selalu dilakukan preaktivasi elektrokimia terhadap elektroda sebelum digunakan untuk analisis. Ren *et al.* (2006) menganalisis campuran epinefrin, asam urat, dan asam askorbat secara voltametri menggunakan *GCE* termodifikasi asam kafeat. Dari penelitian tersebut diperoleh batas deteksi asam urat yang tinggi yaitu sebesar $6,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

Elektroda modifikasi *GCE-propionilkolin* (Qin dan Ping, 2005), *GCE - triptofan* (Lin dan Li, 2006), *GCE - nanopartikel CeO₂* (Wei *et al.*, 2006), *GCE-norepinefrin* (Zare, 2005), mikroelektroda *Au-Pd* (Matos *et al.*, 2000) juga telah digunakan untuk analisis asam urat secara voltametri. Namun elektroda tersebut memberikan batas deteksi yang tinggi, proses pembuatan elektroda rumit dan memerlukan waktu lama.

2.5. Modifikasi Elektroda menggunakan Polimer tercetak Molekul (MIP)

Selektivitas dan sensitivitas elektroda kerja pada voltametri dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi elektroda menggunakan polimer dengan cetakan molekul (*molecularly imprinted polymer, MIP*). Prinsip pembuatan polimer dengan cetakan molekul adalah mereaksikan monomer, *cross linker* dan molekul target sehingga terjadi kopolimerisasi antara monomer dan *cross linking* monomer dengan adanya analit target yang bertindak sebagai *template*. Ada beberapa cara

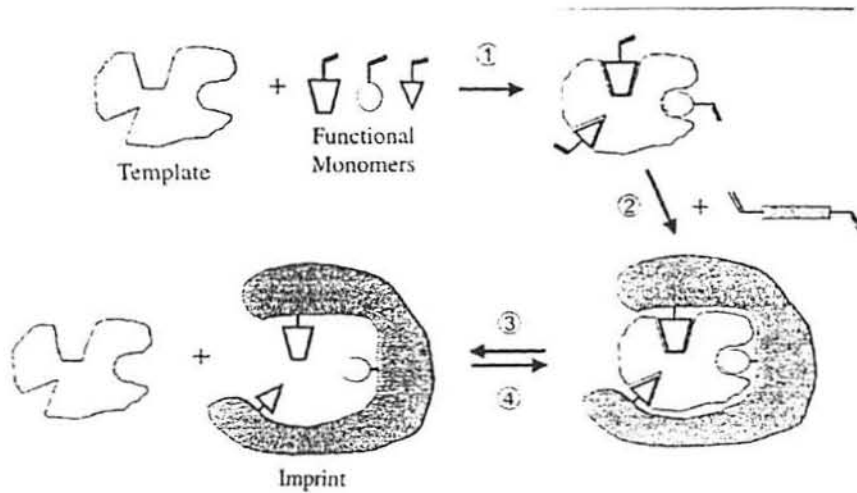
pembuatan polimer dengan cetakan molekul yaitu *chemical grafting*, teknik *soft lithography*, pendekatan *molecular self assembled* dan elektropolimerisasi.

Pada teknik elektropolimerisasi, film dapat dibentuk *in situ* pada permukaan elektroda. Teknik ini mempunyai beberapa kelebihan diantaranya film polimer mudah menempel ke permukaan elektroda, bentuk dan ukuran ketebalan mudah dikontrol dengan cara mengoptimasi kondisi deposisi saat elektropolimerisasi. Pada pembuatan cetakan molekul secara elektrosintesis, penempelan polimer dapat terjadi melalui metoda potensiostatik dan voltametri siklik. Stabilitas ikatan dalam polimer yang terbentuk sangat tergantung dari jenis monomer, *cross linker* polimer, dan pelarut yang digunakan pada proses polimerisasinya (Ozcan and Sahin, 2007).

Interaksi yang terjadi antara molekul target dan monomer dapat berupa ikatan kovalen, ikatan non kovalen, dan ikatan semikovalen. Pembuatan MIP dapat dilakukan melalui pendekatan kovalen dan non kovalen. Pendekatan kovalen didasarkan pada derivatisasi kimia dari analit dengan molekul yang berisi senyawa yang dapat dipolimerisasi menggunakan ikatan kovalen reversibel. Setelah terjadi polimerisasi, analit diekstraksi dari jaringan/ikatan polimer dengan cara memecah ikatan kovalen. Pembentukan dan pemecahan ikatan membutuhkan waktu yang lama (Bruggemann, 2002).

Teknik *imprinting* yang lebih cepat adalah pembuatan polimer dengan cetakan molekul melalui pendekatan non kovalen dimana analit berikatan secara sederhana dengan monomer. Pada tipe non kovalen, interaksi monomer dan analit meliputi ikatan van der Waals, hidrofobik atau interaksi elektrostatis. Polimerisasi tipe non kovalen dapat digambarkan seperti Gambar 2.5.1.

Prasad dan Lakshmi (2005) telah menggunakan elektroda modifikasi HMDE-cetakan molekul untuk analisis asam barbiturat dalam sampel darah. Batas deteksi yang diperoleh dari penelitian tersebut adalah 0,54 ppm. Analisis asam barbiturat dengan metoda ini diganggu oleh adanya tiobarbiturat, teofilin dan asam urat.



Gambar 2.5.1. Gambar konsep pencetakan molekul (*molecular imprinting*) melalui pendekatan non kovalen. 1. *Self assembly template* dengan monomer 2. Polimerisasi dengan adanya *cross linker* 3. Ekstraksi *template* dari rantai/jaringan polimer 4. Cetakan molekul hanya sesuai dengan analit target dan menyebabkan polimer bersifat selektif (Bruggemann, 2002)

Lakshmi *et al.* (2006) telah mengaplikasikan elektroda HMDE-termodifikasi polimer *ter-imprint* molekul yang terbuat dari monomer kloranil dan melamin untuk analisis kreatinin. Dengan menggunakan elektroda modifikasi ini diperoleh hasil yang lebih baik dibandingkan dengan elektroda padat. Lakshmi *et al.* (2007) juga mengaplikasikan elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul yang terbuat dari monomer asam p-amino bensoat dan 1,2-dikloroetana melalui pendekatan non kovalen untuk analisis kreatin. Film cetakan molekul dibuat dengan cara melapiskan polimer pada permukaan tetes HMDE secara elektro-*coating*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa analisis kreatin tidak diganggu oleh adanya urea, kreatinin dan fenilalanin, namun batas deteksi yang diperoleh masih cukup tinggi yaitu sebesar 0,11 ng/mL. Prasad, *et al* (2007) memanfaatkan polimer dengan cetakan molekul yang terbuat dari monomer melamin dan kloranil untuk sorben *solid phase extraction* (SPE) pada pemisahan asam urat dari matriks lain sebelum dilakukan analisis secara voltametri.

BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah mengembangkan metoda analisis asam urat secara voltammetri lucutan yang selektif dan sensitif melalui modifikasi elektroda *hanging mercury drop* (HMDE) dengan polimer tercetak molekul (*molecularly imprinted polymer*, MIP).

Tujuan khusus

- menentukan perbandingan mol monomer, *cross linker* dan *template* penyusun polimer yang menghasilkan elektroda modifikasi dengan kinerja optimum,
- menentukan kondisi pelapisan (*elektro-coating*) polimer pada elektroda HMD berupa potensial dan waktu pelapisan polimer
- menentukan validitas metoda meliputi batas deteksi, sensitivitas, reproduisibilitas dan *recovery* metoda voltammetri untuk analisis asam urat menggunakan elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul,
- mempelajari pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat secara voltammetri menggunakan elektroda HMD-cetakan molekul,
- mengaplikasikan metoda yang telah dikembangkan untuk analisis asam urat dalam sampel serum dan hasilnya dibandingkan dengan metoda standar (uji perbandingan di laboratorium klinik).

3.2. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh metoda baru untuk analisis asam urat secara lebih cepat, selektif, sensitif, reproduisibel serta mempunyai batas deteksi yang rendah dan nilai *recovery* yang tinggi sehingga memberikan kontribusi yang bermakna pada perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kimia analitik dan biomedis.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan kimia yang digunakan adalah asam urat (7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trione), asam metakrilat (MAA), asam etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), 2,2'-azobis isobutironitril (AIBN), formamida, dimetilformamida (DMF), kloroform, tetrahidrofuran (THF), etanol, metanol, asam askorbat, Na-asetat, asam asetat, amonium asetat, Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4 . Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis (p.a). Bahan lain yang digunakan adalah serum kontrol, sedangkan sampel yang digunakan adalah serum dari penderita asam urat. Air yang digunakan pada penelitian ini adalah *ultra high pure* (UHP) water.

Peralatan yang digunakan adalah *797 Voltammetry Computrace (MVA system-1)* yang terdiri dengan wadah sampel, pengaduk magnetik, *processor unit*, PC, elektroda kerja HMDE, elektroda pembanding Ag/AgCl dan elektroda pembantu Pt. Peralatan lainnya adalah spektrofotometer merah infra (IR) Shimadzu, *scanning electron microscopy* (SEM), mikropipet, pH meter, *hot plate* serta peralatan pendukung lain.

4.2. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan mengikuti tahapan sebagai berikut

4.2.1. Pembuatan polimer dengan cetakan molekul (MIP)

a. Variasi komposisi polimer dengan cetakan molekul

Polimer dengan cetakan molekul dibuat dengan cara mencampurkan larutan monomer dan *cross linker* (dalam pelarut kloroform), dan asam urat dengan variasi perbandingan mol. Pada penelitian ini digunakan monomer MAA, *cross linker* EGDMA, dan sebagai *template* adalah asam urat (UA). Ketiga bahan tersebut dicampur dengan komposisi (mol MAA: mol EGDMA: mol UA) 1:3:1; 2:3:1 dan 3:3:1. Campuran monomer dan *cross linker* dengan perbandingan tertentu dimasukkan gelas

piala, ditambah inisiator AIBN (dalam pelarut THF) dan pelarut kloroform. Campuran dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 50°C sampai larutan mulai keruh, kemudian ditambahkan larutan asam urat, diaduk dan pemanasan dilanjutkan sampai terbentuk endapan/padatan. Padatan polimer yang terbentuk dikeringkan di udara terbuka, kemudian digerus dalam mortar dan dilakukan ekstraksi terhadap *template* (asam urat). Asam urat diekstraksi dari polimer dengan cara mencuci berulang-ulang dengan 1 M amonium asetat dalam pelarut etanol:asam asetat:air = 40:25:35, kemudian diikuti dengan pencucian menggunakan asam asetat:etanol=1:3 dan yang terakhir dengan metanol (Moral dan Mayes, 2004). Dilakukan karakterisasi terhadap polimer yang dihasilkan dengan spektrofotometer merah infra (IR) untuk melihat gugus fungsi, sedangkan untuk mengetahui pori polimer dilakukan analisis dengan *scanning electron microscopy* (SEM).

b. Variasi pelarut dan optimasi pelapisan polimer pada HMDE

Sejumlah tertentu polimer yang dibuat dengan perbandingan mol monomer, *cross linker* dan *template* = 1:3:1 dilarutkan dalam DMF. Larutan polimer diletakkan dalam sel elektrokimia, kemudian dilakukan pelapisan polimer pada HMDE secara elektro-*coating* pada variasi potensial dan waktu pelapisan. Dilakukan pelapisan MIP pada permukaan elektroda dengan variasi potensial dari +1 mV sampai dengan -1 V dengan rentang 100 mV menggunakan elektroda pembanding Ag/AgCl. Untuk mengetahui hasil yang optimum, elektroda diaplikasikan untuk analisis asam urat dengan konsentrasi tertentu dan pH tertentu dengan kondisi analisis berupa waktu deposisi 120 detik dengan laju pindai selama stripping 10 mV/dt. Hasil optimasi potensial pelapisan digunakan untuk optimasi waktu pelapisan. Waktu pelapisan divariasikan mulai 30 – 300 detik dengan interval 30 detik. Hasil optimasi potensial pelapisan dan waktu pelapisan digunakan untuk menguji kinerja polimer yang telah dibuat dengan komposisi 1:3:1, 2:3:1, dan 3:3:1

c. Optimasi kondisi prekonsentrasi dan analisis asam urat

Sebelum dilakukan analisis asam urat, dilakukan optimasi parameter pengukuran yang meliputi potensial dan waktu prekonsentrasi asam urat pada elektroda termodifikasi. Larutan asam urat dengan konsentrasi dan pH tertentu diprekonsentrasikan (diakumulasikan) pada elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul dengan variasi potensial dan waktu prekonsentrasi. Dilakukan variasi potensial dari +1 V sampai dengan -1 V dengan rentang 100 mV, sedangkan waktu pelapisan divariasikan mulai 30 – 300 detik dengan interval 30 detik. pH larutan asam urat divariasikan mulai pH 3 - 8 dengan penambahan bufer asetat atau bufer fosfat ke dalam larutan asam urat. Optimasi variabel dilakukan secara terpisah, hasil optimasi satu variabel digunakan untuk optimasi variabel lainnya.

4.2.2. Karakterisasi elektroda modifikasi

Elektroda HMD yang telah dimodifikasi dengan cetakan molekul selanjutnya diuji coba/digunakan untuk analisis asam urat secara voltametri dan dilihat pergeseran potensial puncak voltamogram asam urat dibandingkan dengan voltamogram yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMD.

4.2.3. Pembuatan kurva standar asam urat

Dibuat sederetan larutan standar asam urat dengan konsentrasi $2 \cdot 10^{-11} \text{M}$, $4 \cdot 10^{-11} \text{M}$, $6 \cdot 10^{-11} \text{M}$, $8 \cdot 10^{-11} \text{M}$, dan $1 \cdot 10^{-10} \text{M}$, pH larutan = 5, kemudian dianalisis secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva antara konsentrasi asam urat dan besarnya arus yang teramati untuk masing-masing konsentrasi asam urat yang dianalisis.

4.2.4. Uji validitas metoda

Data hasil pengukuran larutan standar digunakan untuk uji validitas metoda meliputi linieritas, batas deteksi (LOD), sensitivitas, reproduibilitas (keterulangan)

dan *recovery*. Linieritas ditentukan dengan cara membuat persamaan regresi kurva standar ($Y = a + bx$ dengan ketentuan $Y =$ arus, $x =$ konsentrasi larutan, $a =$ intersep dan $b =$ slope), kemudian dihitung harga koefisien korelasi (r)

Batas deteksi (LOD) dihitung dengan persamaan

$$Y_{LOD} = Y_{bl} + 3S_{bl}$$

$$Y_{LOD} = S_{y/x} = a + 3S_{y/x}$$

Dengan ketentuan Y_{LOD} adalah sinyal terkecil yang masih terdeteksi, $S_{bl} = S_{y/x} =$ standar deviasi sinyal blanko, $Y_{bl} = a =$ sinyal blanko (intersep persamaan regresi kurva standar), kemudian dari harga Y tersebut dimasukkan ke persamaan regresi kurva standar sehingga diperoleh LOD (x).

Sensitivitas (s) dihitung dari harga slope yaitu besarnya perubahan sinyal untuk tiap satuan konsentrasi yang digunakan.

Reprodusibilitas (keterulangan) dinyatakan dengan harga koefisien variasi (KV) atau harga RSD (*relative standard deviation*) menurut persamaan berikut.

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Dengan ketentuan \bar{x} adalah rata-rata sinyal hasil pengukuran, $SD =$ standar deviasi (Miller dan Miller, 1988)

Penentuan % recovery

Sebanyak 0,5 mL larutan serum kontrol yang telah diketahui konsentrasi asam uratnya (43 ppb) ditambah dengan 2 mL larutan buffer asetat pH 5 dan diencerkan dengan air hingga volume 25 mL. Larutan kemudian dianalisis secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul dengan kondisi hasil optimasi prosedur sebelumnya. Konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis dan konsentrasi yang sebenarnya (μ) digunakan untuk menghitung *recovery*. Dilakukan prosedur yang sama untuk urin kontrol (urin sintesis). *Recovery* dapat dihitung dengan persamaan berikut.

$$recovery = \frac{x}{\mu} \times 100\%$$

4.2.5. Uji interferensi

Untuk melihat gangguan matriks pada analisis asam urat, dilakukan uji pengaruh asam askorbat yang biasanya terdapat dalam sampel serum dan urin. Ke dalam larutan asam urat, ditambahkan larutan asam askorbat dengan perbandingan konsentrasi asam urat dan asam askorbat bervariasi yaitu 1:0,5; 1:1; 1:2; 1:5; 1:10. Kemudian respon arus yang diperoleh dibandingkan dengan respon hasil analisis asam urat tanpa penambahan asam askorbat.

4.2.6. Aplikasi elektroda modifikasi HMD-cetakan molekul untuk analisis asam urat

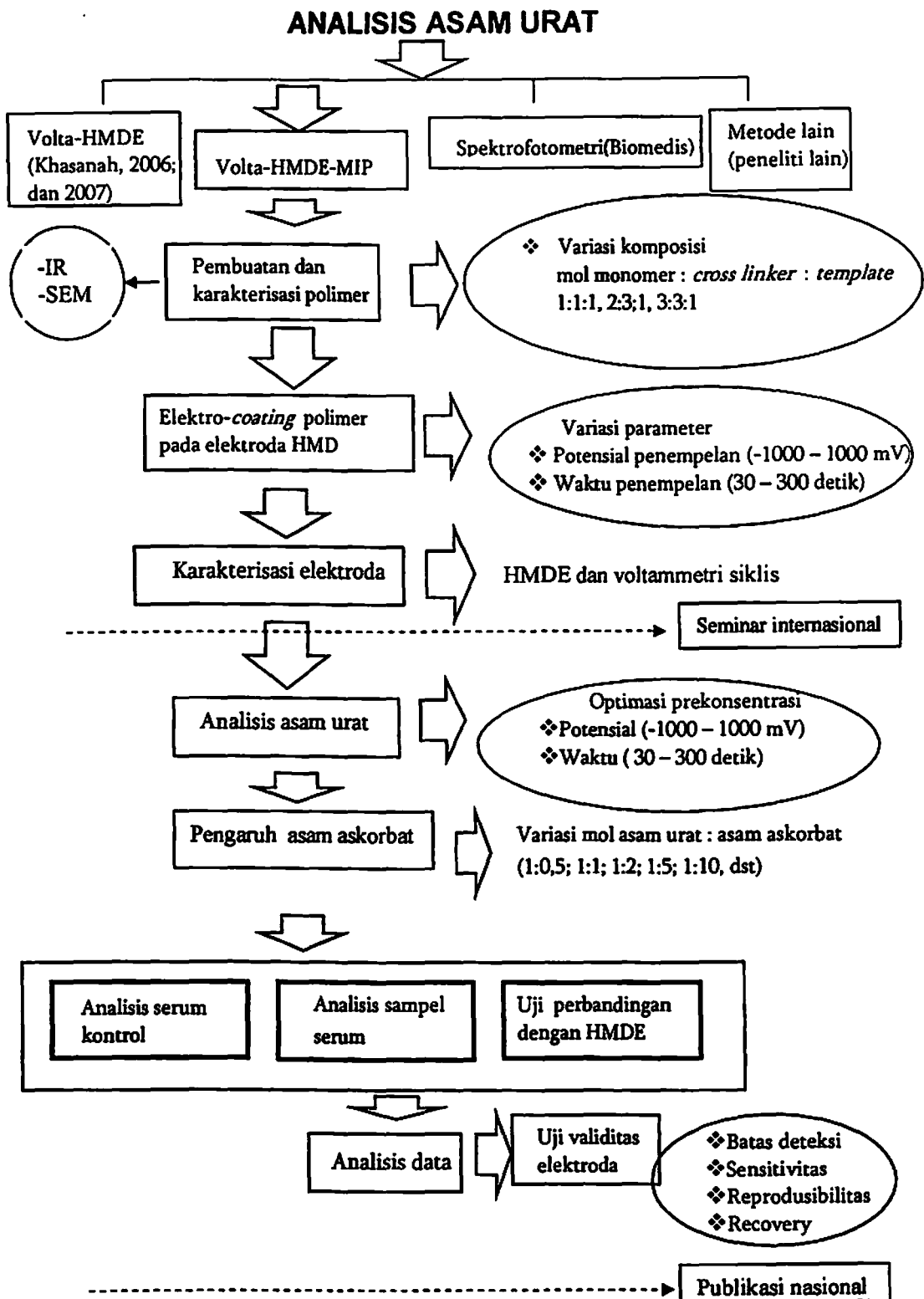
a. Sampling dan preparasi sampel

Sampel serum dan urin diambil dari 5 orang penderita asam urat. Preparasi sampel serum dilakukan dengan cara memipet sebanyak 1 mL sampel serum, dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, ditambah dengan 2 mL bufer dan diencerkan dengan air sampai tanda batas.

b. Analisis asam urat dalam serum dengan standar adisi

Sebanyak 25 mL sampel serum hasil preparasi prosedur (a) dianalisis secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi. Kemudian ke dalam larutan sampel tersebut berturut-turut ditambah dengan larutan standar asam urat 10^{-6} M sebanyak 10, 20, 30, 40 dan 50 μ L. Setelah penambahan masing-masing volume, dilakukan analisis secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi. Dari data arus yang diperoleh dibuat kurva arus vs konsentrasi larutan standar yang ditambahkan dan ditentukan konsentrasi asam urat dalam sampel.

4.3. Diagram Alir Penelitian



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat secara *stripping voltammetry* menggunakan elektroda HMDE

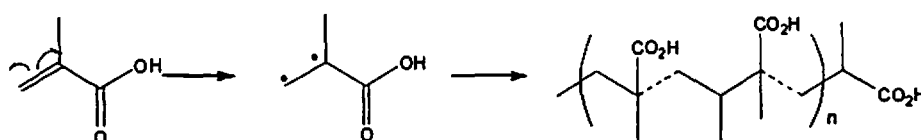
Analisis asam urat secara *stripping voltammetry* menggunakan elektroda *hanging mercury drop* (HMDE) diganggu oleh keberadaan asam askorbat (Khasanah dkk, 2007). Pada awal penelitian ini dilakukan uji seberapa jauh asam askorbat mengganggu analisis asam urat menggunakan elektroda HMDE tanpa dimodifikasi tersebut. Dilakukan penambahan asam askorbat ke dalam larutan asam urat dengan berbagai perbandingan mol asam urat : mol asam askorbat yang bervariasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gangguan asam askorbat pada analisis asam urat secara *stripping voltammetry* menggunakan HMDE sangat signifikan, yaitu penambahan asam askorbat sebesar setengah dari konsentrasi asam urat dapat menurunkan sinyal asam urat sebesar 24,96%. Recovery asam urat dalam matriks serum kontrol dan urin sintesis dengan adanya asam askorbat setengah dari konsentrasi asam urat berturut-turut sebesar 90,05% dan 78,63% (Khasanah dkk, 2009). Dengan demikian perlu dilakukan peningkatan selektivitas elektroda.

5.2. Sintesis serta karakterisasi polimer dan MIP

Upaya peningkatan selektivitas elektroda HMDE dilakukan dengan memodifikasi elektroda HMDE melalui pelapisan dengan polimer *terimprint* molekul analit (HMDE-MIP). Polimer dibuat dengan cara mereaksikan asam metakrilat (MAA) sebagai monomer, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) sebagai *cross linker*, dan asam urat sebagai *template* dengan dengan perbandingan mol 1:1:1 dan 1:3:1. Reaksi pembentukan polimer tersebut merupakan reaksi radikal. Pada penelitian ini, untuk membantu pembentukan radikal ditambahkan suatu inisiator reaksi radikal berupa senyawa 2,2' azobis isobutironitril (AIBN). Reaksi dilakukan pada pelarut kloroform. Campuran monomer, *cross linker*, inisiator dan *template* dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 50°C sampai terbentuk polimer poli-asam metakrilat (poli-

MAA). Inisiator AIBN merupakan inisiator pereaksi radikal yang sangat reaktif oleh adanya pemanasan, bahkan dengan konsentrasi yang sedikit berlebih dapat menyebabkan letupan yang keras. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan optimasi jumlah inisiator yang ditambahkan.

Polimer yang terbentuk berupa padatan berwarna putih kemerahan. Reaksi pembentukan poli-asam metakrilat dapat dituliskan sebagai berikut.

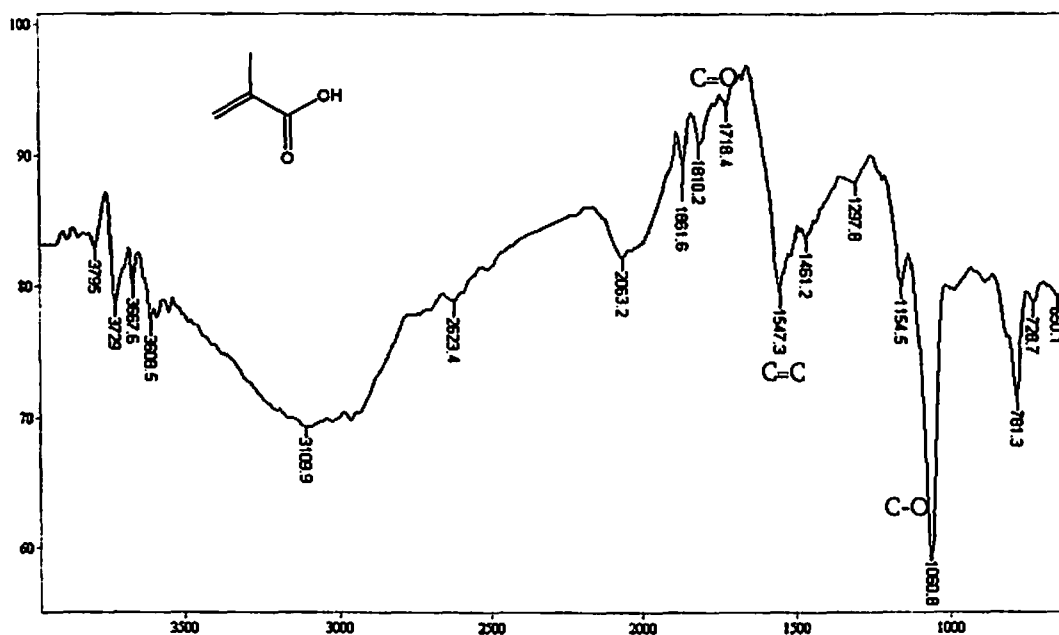


asam metakrilat (MAA)

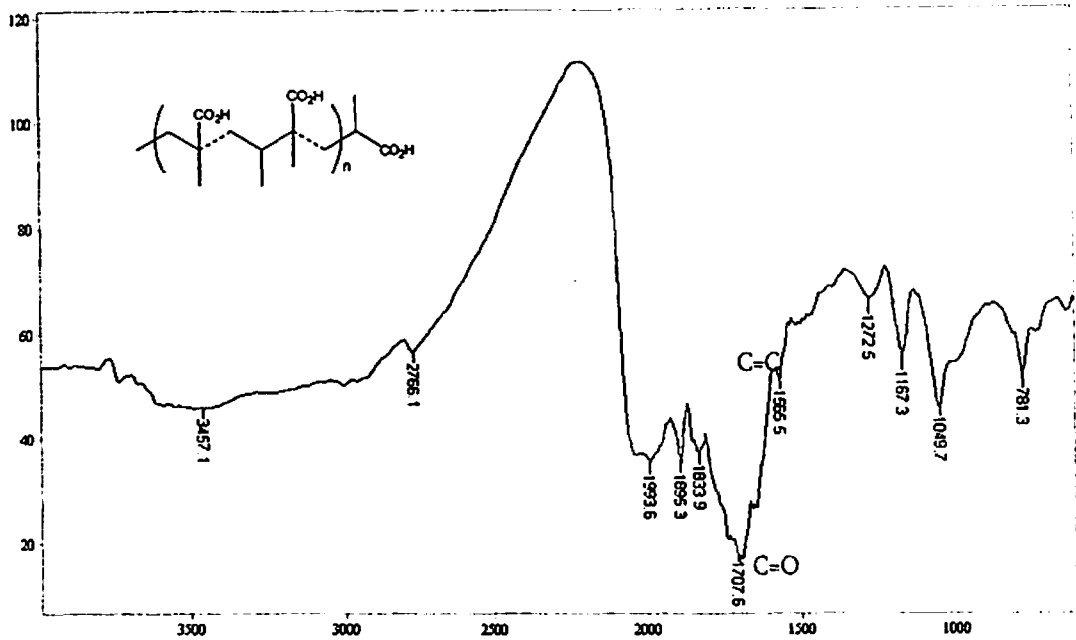
radikal MAA

poliMAA

Polimer yang telah disintesis dengan perbandingan mol monomer : *crosslinker* : template : inisiator = 1:3:1:0,01 dikarakterisasi secara spektrofotometri infra merah (IR) untuk melihat gugus fungsi. Spektra asam metakrilat dan poli-MAA berturut-turut ditampilkan pada Gambar 5.2.1 dan 5.2.2. Hasil spektra selengkapnya disajikan pada Lampiran 1.



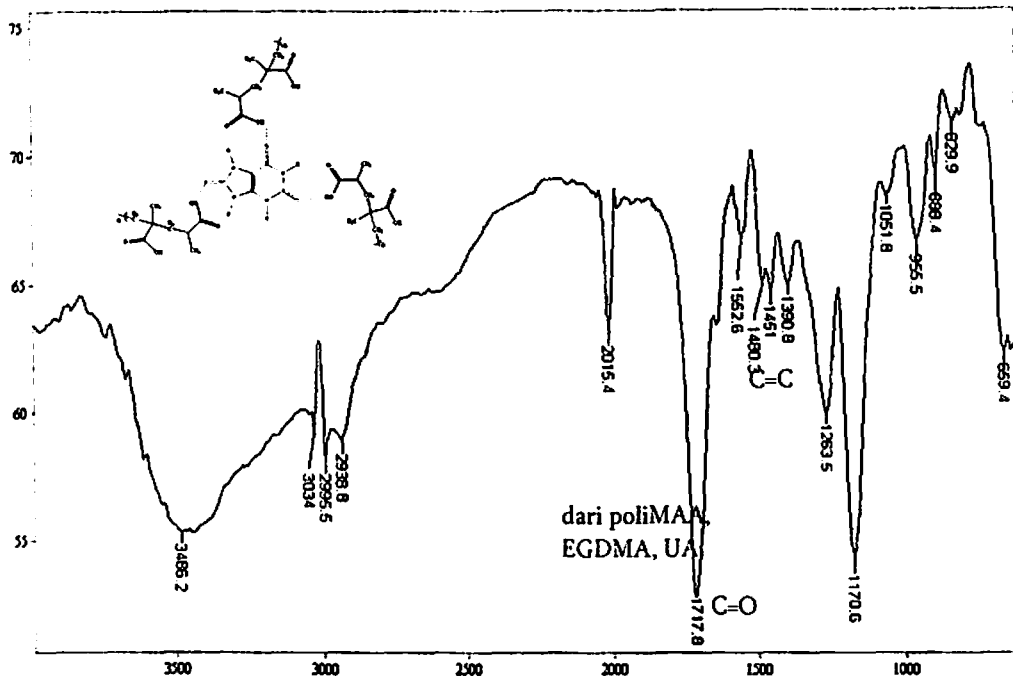
Gambar 5.2.1. Spektra IR asam metakrilat



Gambar 5.2. 2. Spektra IR poli-asam metakrilat

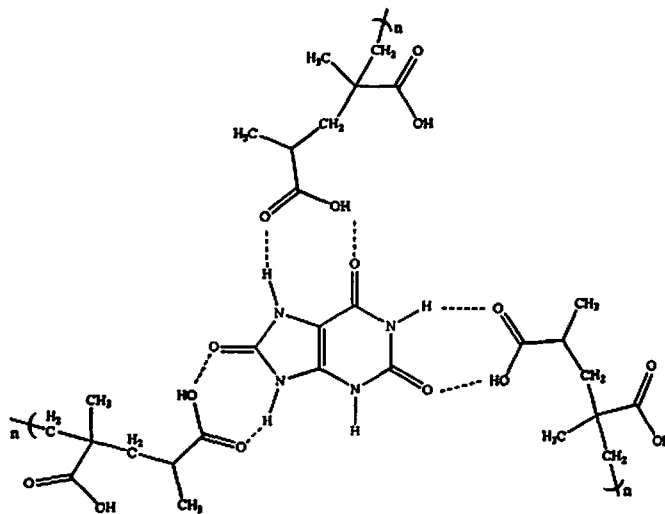
Dari hasil analisis tersebut diperoleh data bahwa polimer poliMAA telah terbentuk, terbukti dengan hampir hilangnya intensitas puncak spektra pada bilangan gelombang $\sim 1540 \text{ nm}^{-1}$ (ikatan C=C dari asam metakrilat) dan bertambahnya intensitas puncak C=O ($\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$) pada spektra poli-asam metakrilat dengan *cross linker* EGDMA.

Ekstraksi asam urat dari rantai/jaringan MIP juga telah berhasil dilakukan. Spektra IR dari polimer dengan adanya asam urat (sebelum diekstraksi) dan polimer yang telah diekstraksi asam uratnya (MIP) disajikan pada gambar 5.2.3 dan 5.2.4. Intensitas puncak pada bilangan gelombang $\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$ sangat tinggi. Hal ini menunjukkan banyaknya jumlah gugus fungsi C=O karbonil. Gugus fungsi tersebut berasal dari asam metakrilat, EGDMA dan asam urat.



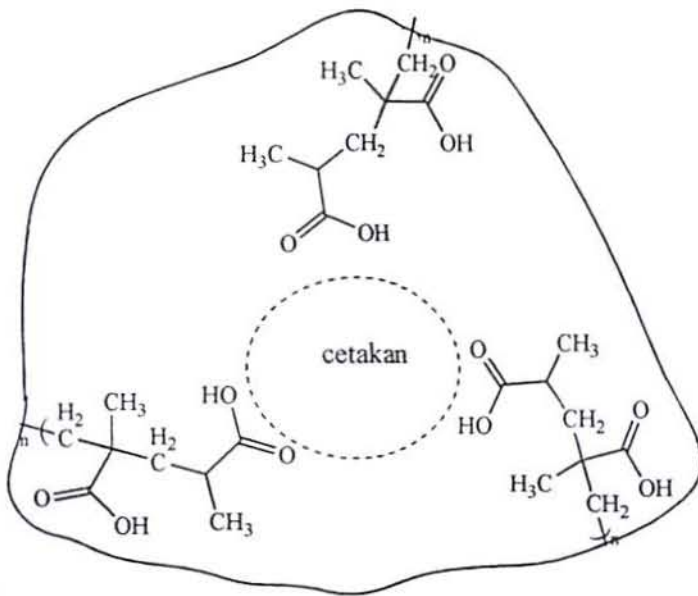
Gambar 5.2.3. Spektra IR polimer yang terbuat dari asam metakrilat, EGDMA dan asam urat (sebelum diekstraksi)

Ikatan yang terbentuk antara asam urat dan poli-MAA merupakan ikatan hidrogen. Ikatan tersebut diperkirakan sebagai berikut.

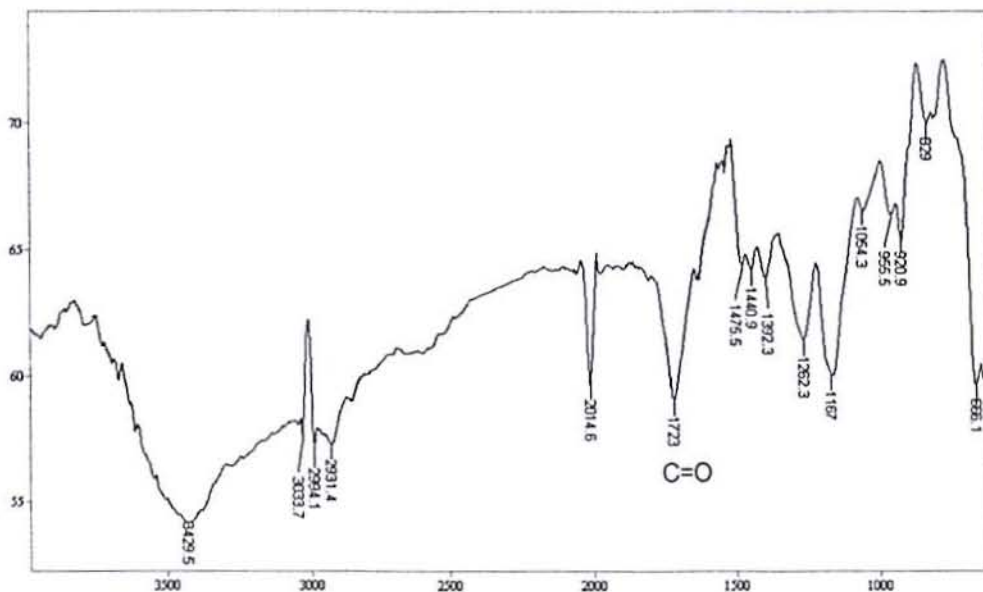


Setelah asam urat diekstraksi dari jaringan polimer, terjadi penurunan intensitas puncak pada bilangan gelombang $\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$ (pengurangan jumlah gugus

C=O karbonil). Hal ini menunjukkan bahwa molekul asam urat telah lepas dari jaringan polimer dan terbentuk cetakan yang digambarkan sebagai berikut.



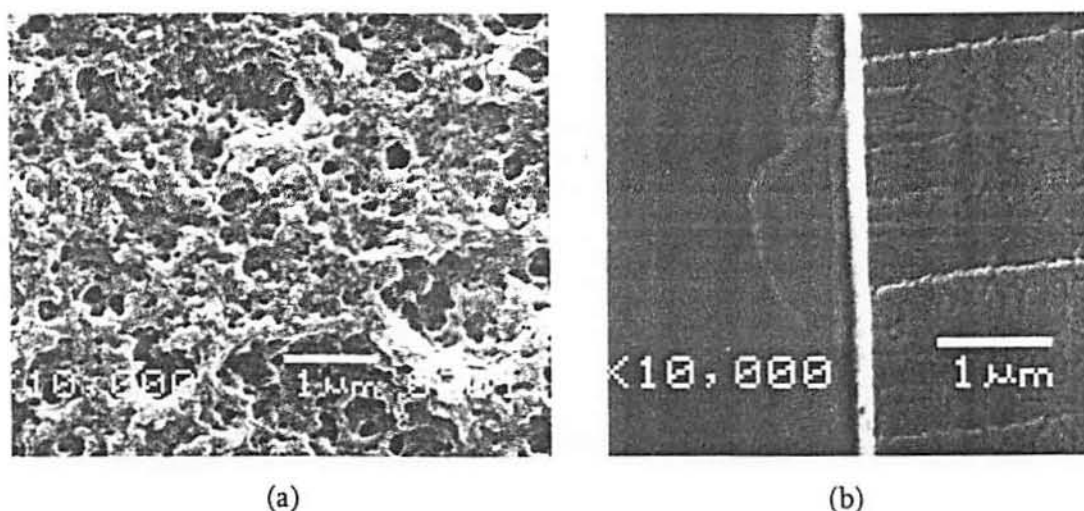
Namun tidak diketahui apakah semua asam urat telah terekstraksi kembali ke dalam larutan pengestrak karena tidak dilakukan analisis kuantitatif terhadap jumlah asam urat yang dapat terekstraksi dari MIP.



Gambar 5.2.4. Spektra IR dari polimer yang terbentuk dari asam metakrilat dan EGDMA (asam urat telah diekstraksi dari jaringan)

Untuk melihat apakah polimer yang terbentuk mempunyai pori yang cukup kecil dan homogen maka dilakukan analisis terhadap permukaan polimer menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM). Juga dilakukan analisis penampang lintang polimer untuk melihat apakah pori-pori yang terbentuk bersifat simetrik atau asimetrik. Hasil analisis menggunakan SEM ditampilkan pada Gambar 5.2.5, sedangkan hasil selengkapnya ditampilkan pada Lampiran 2.

Dari hasil analisis permukaan lapisan polimer menggunakan SEM dapat disimpulkan bahwa pori polimer yang terbentuk cukup kecil (kurang dari $1\ \mu\text{m}$) dan homogen, sedangkan hasil analisis penampang lintang sulit dilakukan karena polimer bersifat keras dan kaku sehingga tidak dapat dipotong/disobek (b).



Gambar 5.2.5. Hasil analisis SEM terhadap (a) permukaan dan (b) penampang lintang MIP

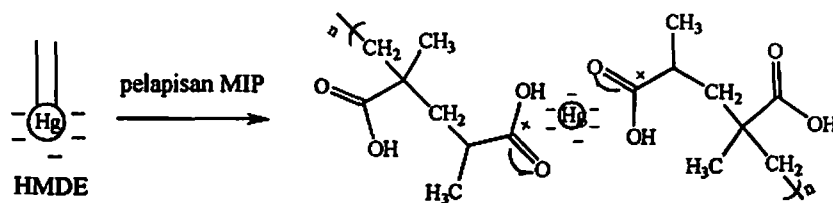
5.3. Aplikasi MIP-HMDE untuk analisis asam urat

MIP yang telah disintesis dan dikarakterisasi dilarutkan dalam pelarut dimetil formamida dan kloroform. Masing-masing larutan MIP tersebut dilapiskan pada elektroda HMDE secara elektro-*coating* menggunakan potensial bervariasi dari +0,4 V – (-1,0 V). Elektroda modifikasi yang terbentuk diangin-anginkan selama 2 menit di udara terbuka dengan cara mengangkat elektroda dari larutan. Elektroda modifikasi yang terbentuk digunakan untuk analisis larutan standar asam urat menggunakan

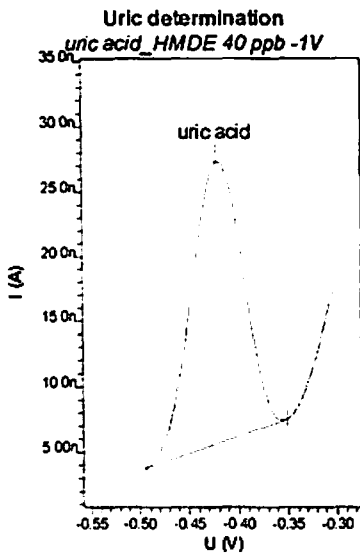
metode *stripping* voltametri. Voltammogram yang terbentuk dibandingkan dengan voltammogram asam urat konsentrasi yang sama yang dianalisis secara *stripping* voltametri menggunakan elektroda HMDE.

Pada potensial penempelan bernilai positif, tidak diperoleh voltammogram asam urat, sedangkan voltammogram baru muncul pada saat digunakan potensial penempelan bernilai negatif. Pada potensial negatif, diperoleh peak potensial dengan luas area yang semakin bertambah dengan semakin negatifnya potensial pelapisan, namun pada potensial yang lebih kecil dari -1,2 V terjadi pembesaran ukuran tetes merkuri, sehingga bertambah besarnya respon arus disebabkan oleh semakin banyaknya asam urat yang terakumulasi akibat dari semakin luasnya permukaan elektroda. Potensial optimum yang diperoleh adalah -1 V. Optimasi potensial akumulasi asam urat pada elektroda dilakukan bersamaan dengan optimasi potensial pelapisan MIP pada HMDE.

Reaksi pelapisan polimer ke permukaan elektroda pada potensial negatif diperkirakan sebagai berikut.

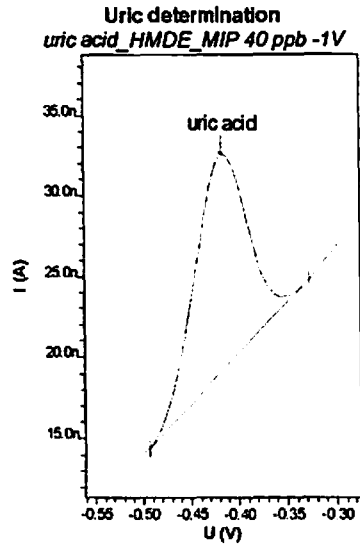


Elektroda modifikasi yang terbentuk digunakan untuk analisis larutan asam urat konsentrasi 40 ppb dan dibandingkan hasilnya dengan hasil analisis menggunakan HMDE. Relatif tidak terjadi pergeseran potensial puncak voltammogram asam urat yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMDE-MIP jika dibandingkan dengan hasil analisis menggunakan elektroda HMDE. Namun voltammogram yang diperoleh dari analisis menggunakan HMDE-MIP mempunyai baseline yang tidak horisontal (berbentuk miring). Contoh voltammogram hasil aplikasi elektroda HMDE dan HMDE-MIP untuk analisis asam urat ditampilkan pada Gambar 5.3.1.



E_{anp} = - 0,423 V
Luas area = 21,56 nA

(a)



E_{anp} = - 0,417 V
Luas area = 13,38 nA

(b)

Gambar 5.3.1. Voltammogram hasil analisis asam urat 40 ppb menggunakan (a) HMDE dan (b) HMDE-MIP

Dari hasil optimasi dan analisis tersebut menunjukkan bahwa sinyal arus (luas area voltammogram) asam urat hasil analisis menggunakan HMDE-MIP lebih kecil jika dibandingkan dengan menggunakan elektroda HMDE. Kemungkinan penyebabnya adalah dengan adanya polimer yang menempel pada permukaan elektroda, menyebabkan luas permukaan elektroda merkuri berkurang. Pada saat proses deposisi/akumulasi, jumlah analit yang terakumulasi pada elektroda sebanding dengan luas permukaan elektroda, sesuai persamaan berikut.

$$analit_{(elekt)} \approx t_e \cdot [analit] \cdot D \cdot d_e^{-1} \cdot A$$

dengan ketentuan

$analit_{(elekt)}$: jumlah analit yang terakumulasi pada elektroda

t_e : waktu akumulasi/elektrolisis

$[analit]$: konsentrasi analit dalam larutan

D : konstanta difusi

d : laju difusi

A : luas permukaan elektroda

Pada elektroda modifikasi HMDE-cetakan molekul, luas permukaan elektroda yang tersedia untuk terjadinya akumulasi asam urat berkurang karena sebagian permukaan elektroda tersebut tertutupi oleh polimer. Dengan demikian jumlah asam urat yang terlucut dari permukaan elektroda juga kecil. Hal ini menyebabkan kecilnya sinyal arus voltammogram yang diperoleh.

Menurut hukum pertama Fick, besarnya sinyal arus yang timbul saat proses lucutan sebanding dengan jumlah analit yang terlucut dari permukaan elektroda.

$$i_d = \frac{nFADC_a}{\delta}$$

dengan ketentuan

- i_d : arus difusi
- n : jumlah elektron yang terlibat
- F : bilangan Faraday
- A : luas permukaan elektroda
- C_a : konsentrasi analit pada elektroda
- δ : tebal lapis difusi

Voltammogram hasil optimasi potensial selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.

Pada penelitian ini tidak dilakukan optimasi waktu pelapisan MIP dan waktu akumulasi asam urat. Dilakukan pelapisan MIP dan akumulasi asam urat masing-masing selama 120 detik. Optimasi terhadap pH larutan dilakukan pada pH 3 – 8. Hasil optimasi pH ditampilkan pada Tabel 5.3.1.

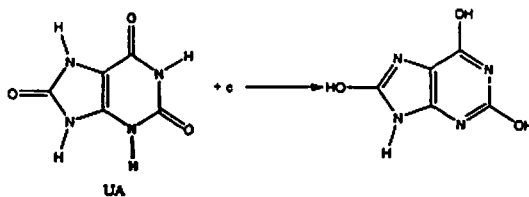
Tabel 5.3.1. Hasil optimasi pH larutan asam urat

pH Larutan	Arus rata-rata (nA)	KV (%)
3	4,20	19,3
4	3,34	12,6
5	5,48	8,7
6	0	0
7	0	0
8	0	0

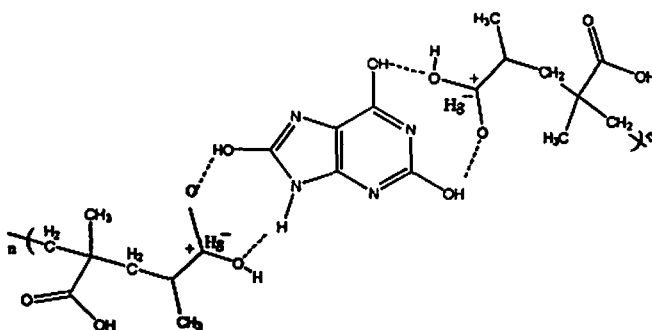
Untuk penelitian selanjutnya digunakan pH 5.

5.4. Uji Reversibilitas Reaksi pada Elektroda

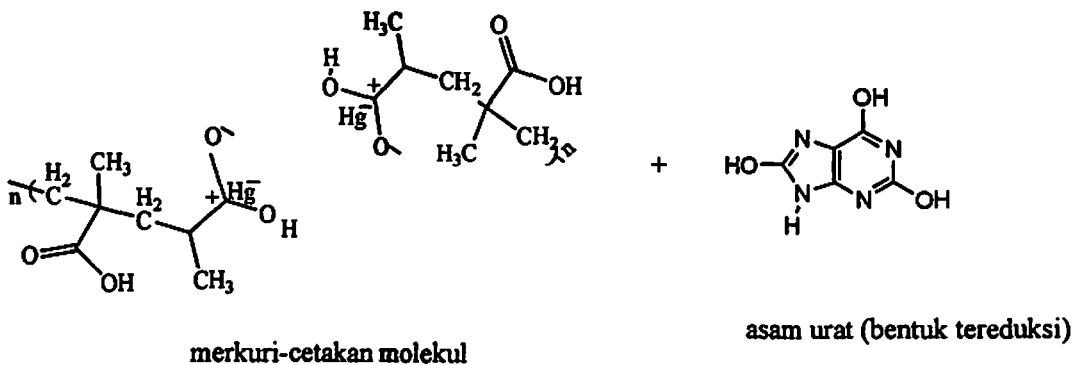
Dilakukan analisis secara voltametri siklik untuk meramalkan reversibilitas reaksi pada elektroda dan untuk melihat apakah elektroda bertindak sebagai katoda atau anoda. Hasil analisis secara voltametri siklik menunjukkan terbentuknya voltammogram dengan satu puncak katodik (potensial negatif) sehingga dapat disimpulkan reaksi yang terjadi pada elektroda tidak *reversible*. Pada saat prekonsentrasi asam urat, terjadi reduksi asam urat pada permukaan elektroda dan elektroda berfungsi sebagai katoda. Reaksi reduksi asam urat dituliskan sebagai berikut.



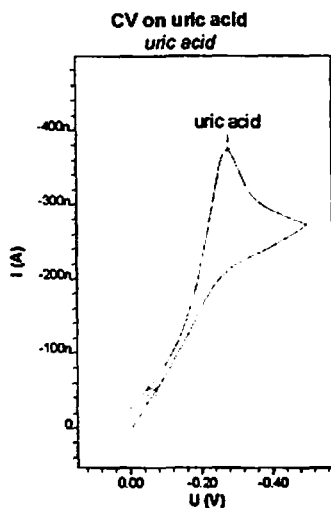
Sedangkan ikatan yang terbentuk antara asam urat dengan elektroda modifikasi HMD-MIP diperkirakan dengan reaksi berikut.



Pada saat stripping, asam urat yang tereduksi akan lepas dari permukaan elektroda tanpa mengalami reaksi oksidasi.



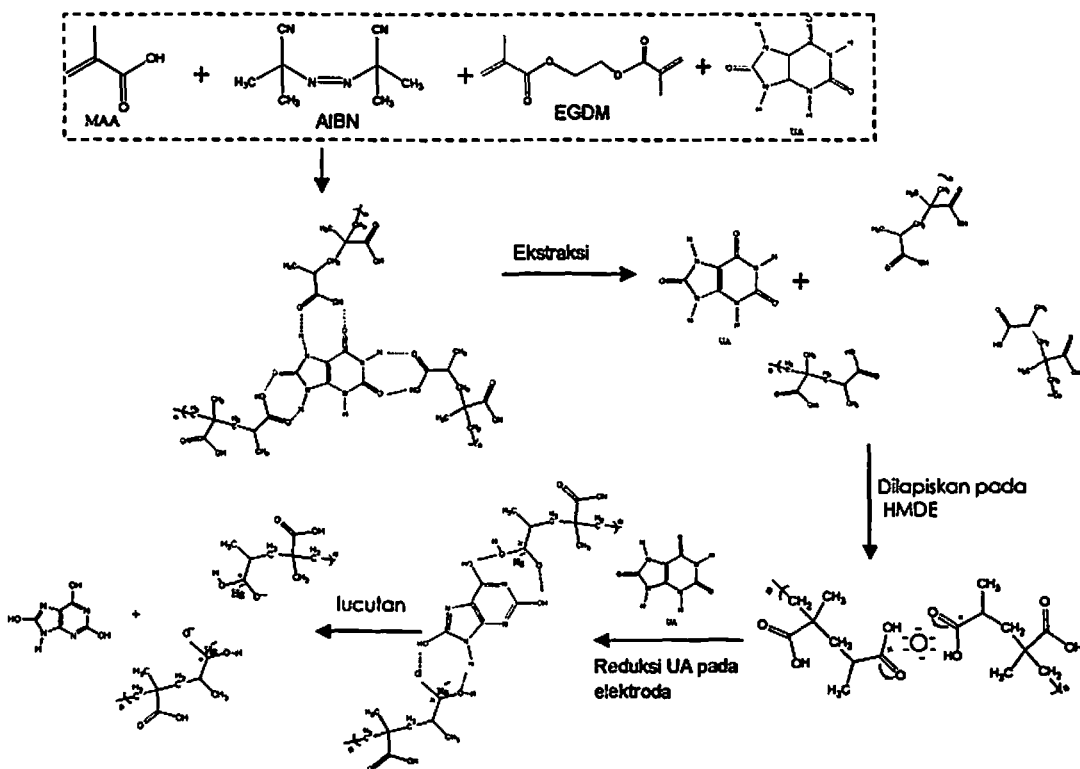
Voltammogram siklis hasil uji reversibilitas reaksi ditampilkan pada Gambar 5.4.1, sedangkan voltammogram dengan *differential pulse* (sebagai perbandingan) ditampilkan pada Lampiran 4.



Gambar 5.4.1. Voltammogram siklik asam urat 40 ppb

5.5. Reaksi Kimia yang terjadi

Secara keseluruhan reaksi yang terjadi selama penelitian adalah sebagai berikut.

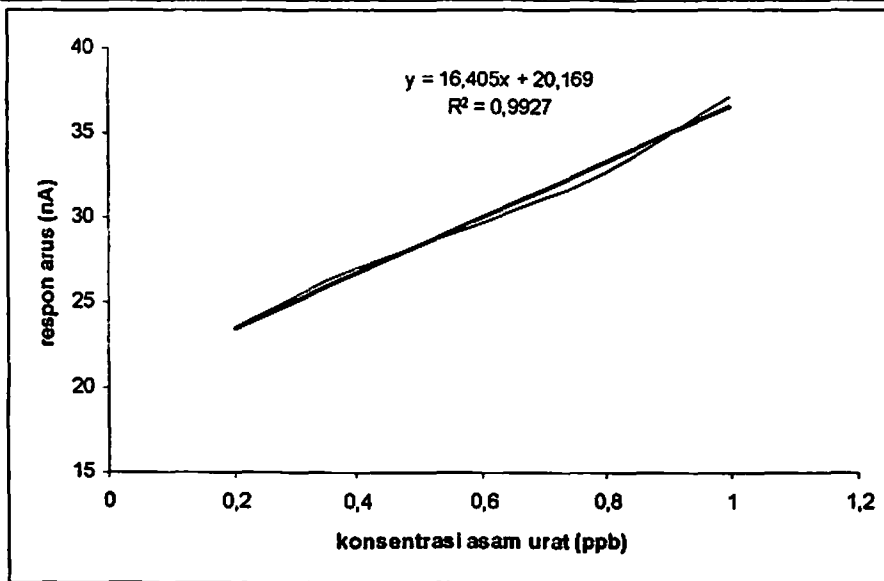


5.6. Uji Validitas metode

Dibuat kurva baku dari analisis larutan standar asam urat konsentrasi 0,2 ppb – 1,0 ppb menggunakan elektroda modifikasi HMDE-cetakan molekul (HMDE-MIP). Hasil yang diperoleh ditampilkan pada tabel 5.6.1. berikut.

Tabel 5.6.1. Data pembuatan kurva baku asam urat dengan elektroda HMDE-MIP

No	Konsentrasi asam urat (ppb)	Rerata respon arus (nA)	RSD (%)
1	0,2	23,65	0,80
2	0,4	26,99	1,43
3	0,6	29,72	0,46
4	0,8	32,70	0,96
5	1,0	37,20	1,84



Gambar 5.6.1. Kurva baku asam urat

Linieritas respon arus sangat bagus untuk konsentrasi larutan standar asam urat 0,2 – 1,0 ppb yang dinyatakan dengan persamaan regresi $Y = 16,45 x + 20,169$ dengan harga koefisien korelasi (r) sebesar 0,9963. Sensitivitas dinyatakan sebagai slope kurva kalibrasi sebesar 16, 405 nA/ppb, yang berarti dengan perubahan konsentrasi 1 ppb menyebabkan perubahan arus sebesar 16,405 nA. Presisi dinyatakan dengan harga *relative standard deviation* (RSD) sebesar 0,46 – 1,84%. Limit deteksi yang diperoleh adalah 0,094 ppb. Recovery dalam serum kontrol menggunakan HMDE dan HMDE-MIP yang diperoleh berturut-turut sebesar 97,9 % dan 66,7 %.

5.7. Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat menggunakan elektroda modifikasi HMD-MIP

Analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda HMDE sangat diganggu oleh asam askorbat. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat, menyebabkan penurunan respon arus sebesar 24, 96% (Khasanah dkk, 2009). Untuk mengetahui interferensi yang disebabkan oleh adanya matriks yang biasanya terdapat bersama-sama dalam sampel (uji selektivitas elektroda), pada penelitian ini dilakukan penambahan asam askorbat ke dalam larutan asam urat dengan berbagai perbandingan konsentrasi (mol) kemudian dilakukan analisis secara voltametri menggunakan elektroda modifikasi HMDE-MIP. Hasil uji pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat ditampilkan pada Tabel 5.7.1.

Tabel 5.7.1 Data hasil uji interferensi asam askorbat (AA) pada analisis asam urat (UA) menggunakan elektroda HMDE=MIP

No	Kons UA (M)	Kons AA (M)	[UA] : [AA]	respon arus (nA)	Penyimpangan (%)
1	6×10^{-7}	0		37,20	
2	6×10^{-7}	6×10^{-7}	1:1	37,23	0,08
3	6×10^{-7}	6×10^{-6}	1:10	37,16	0,11
4	6×10^{-7}	2×10^{-4}	1:333	34,78	6,50
5	6×10^{-7}	4×10^{-4}	1:667	29,21	21,47

Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,5 %. Hal ini menunjukkan bahwa dengan sistem cetakan (*imprinting*) ini, keselektifan elektroda terhadap molekul asam urat menjadi jauh lebih tinggi dibandingkan jika menggunakan elektroda HMDE tanpa modifikasi. Cetakan yang terbentuk pada elektroda HMDE-MIP hanya sesuai dengan analit yang dianalisis, sehingga keberadaan asam urat dengan konsentrasi berlebih pun relatif tidak mempengaruhi analisis asam urat.

5.8. Hasil Analisis Asam Urat dalam Sampel Serum *Stripping Voltammetry* menggunakan HMDE dan Modifikasi HMDE-MIP

Elektroda modifikasi yang telah divalidasi digunakan untuk analisis asam urat dalam sampel serum. Sebanyak 6 buah sampel serum diperoleh dari laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo. Data hasil analisis ditampilkan pada Tabel 5.8.1.

Tabel 5.8.1. Hasil analisis asam urat dalam sampel serum

No. sampel	Kadar asam urat (mg/dL) hasil analisis menggunakan		Penyimpangan (%) ^{*)}
	HMDE	HMDE-MIP	
1	2,94	1,94	1,08
2	2,76	1,88	2,08
3	2,91	1,90	2,16

*) recovery dalam serum kontrol = 66,7%

5.9. Publikasi dalam Seminar dan Pertemuan Ilmiah

Hasil penelitian tentang pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat menggunakan elektroda HMDE (5.1) telah dipresentasikan pada *Second International Conference and Workshop on Basic and Applied Sciences - Regional Annual Fundamental Sciences Seminar 2009* (ICOWOBAS – RAFSS 2009) di Universiti Teknologi Malaysia Johor Bahru Malaysia tanggal 2-4 Juni 2009. Judul makalah tersebut adalah *"The Influence of Ascorbic Acid on Uric Acid Determination in Serum and Urine with Stripping Voltammetry using Hanging Mercury Drop Electrode"* (makalah disajikan pada Lampiran 5).

Sebagian dari hasil penelitian ini juga telah disampaikan pada Seminar MIPA dalam rangka DIES NATALIS ke- 54 FMIPA UGM pada tanggal 10 Oktober 2009 (abstrak disajikan pada Lampiran 6).

Bagian dari penelitian ini juga akan dipublikasikan pada jurnal nasional terakreditasi, *Indonesian Journal of Chemistry*, Jurusan Kimia UGM awal tahun 2010 Rencana judul makalah tersebut adalah *"Sintesis dan karakterisasi molecular imprinted polymer dan aplikasinya sebagai material sensor sensitif dan selektif terhadap asam urat"* (makalah disajikan pada Lampiran 5).

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari hasil sementara penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut.

- ❖ MIP yang terbentuk dengan perbandingan mol monomer, *cross linker* dan *template* 1:1:1 dan 1:3:1 memberikan kinerja yang optimum
- ❖ Kondisi optimum *electro-coating* MIP pada HMDE yang diperoleh berupa potensial -1 V dan waktu 120 detik
- ❖ Validitas metode berupa linieritas kurva hubungan konsentrasi asam urat dan sinyal arus yang dinyatakan dengan harga koefisien korelasi sebesar 0,9963, sensitivitas metode sebesar 16,405 nA/ppb, reproduibilitas/presisi sebesar 0,46-1,84% untuk konsentrasi asam urat 0,2-1,0 ppb. Sedangkan limit deteksi yang diperoleh sebesar 0,094 ppb. Recovery dalam serum kontrol menggunakan HMDE dan HMDE-MIP berturut-turut sebesar 97,9% dan 66,7%.
- ❖ Asam urat relatif tidak mengganggu analisis asam urat secara stripping voltammetry menggunakan HMDE-MIP. Keberadaan asam urat sebesar 333 kali konsentrasi asam urat hanya mengakibatkan penurunan respon arus sebesar 6,50%.

6.2. Saran

Dari hasil sementara penelitian ini dapat diajukan beberapa saran untuk pelaksanaan penelitian berikutnya yaitu

- ❖ Dilakukan pemilihan inisiator pereaksi radikal untuk polimerisasi MAA co EGDMA selain AIBN
- ❖ Dilakukan pemilihan monomer pembentuk MIP agar diperoleh selektivitas dan sensitivitas yang tinggi.

❖ Dilakukan pemilihan elektroda pendukung yang lain selain HMDE agar diperoleh elektroda modifikasi yang tahan lama sehingga lebih efisien

DAFTAR PUSTAKA

- Akyilmaz, E., Sezginiturk, M. K. and Dinckaya E., 2003, A Biosensor based on urate oxidase-peroxidase coupled enzyme system for uric acid determination in urine. *Talanta*, 61(2003) 73-79
- Brett, C.M.A. and Brett, A.M.O., 1998, *Electroanalysis*, Oxford Science Publications, Oxford
- Bruggemann, O., 2002, Molecularly imprinted materials – receptors more durable than nature can provide, *Advanced in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Springer Verlag, Germany
- Cai, X., Kalcher, K., Neuhold, C and Ogorevc, G., 1994, An improvement voltammetric methods for the determination of trace amounts of uric acid with electrochemically pretreated carbon paste electrode, *Talanta*, vol 41 no. 3: 407-413
- Carsol, M-A, Volpe, G and Mascini, M, 1997, Amperometric detection of uric acid and hypoxanthine with xanthine oxidase immobilized and carbon paste screen-printed electrode. Application for fish freshness determination, *Talanta*, 44:2151-2159
- Chen, J.C., Chung, H.H., Hsu, C.T., Tsai, D.M., Kumar, A.S., and Zen, J.M., 2005, A disposable single-use electrochemical sensor for the detection of uric acid in human whole blood, *Sensors and Actuators B*, 110:364.
- El-Maali, N. A., 2004, Voltammetric analysis of drugs, *Biochemistry*, 64: 99-107.
- John, S.A., 2005, Simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid using glassy carbon electrodes in acetate buffer solution, *Journal of Analytical Chemistry*, 579: 249-256
- Khasanah, M., Supriyanto, G., dan Handajani, U.S., 2006, Deteksi sensitif asam urat secara voltammetri *stripping* menggunakan HMDE, *Laporan Hibah Penelitian*, DUE-Like Universitas Airlangga, Surabaya.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Handajani, US., Fitriana, M., Asmaningrum, W., 2007, Analysis of uric acid in urine and serum with voltammetry stripping using hanging mercury dropelectrode, *Prosiding*, International Conference and Workshop on Basic and Applied Sciences, Universitas Airlangga, Surabaya
- Lakshmi, D, Prasad B.B., Sharma, P.S., 2006, Creatinin sensor based on a molecularly imprinted polymer modified hanging mercury drop electrode, *Talanta*, 70: 272-280
- Lakshmi, D., Sharma, P.S., Prasad, B.B., 2007, Imprinted polymer modified HMDE for DPCSV analysis of creatin, *Biosensors and Bioelectronics*, 22: 3302-3308
- Lin, X and Li, Y, 2006, Monolayer covalen modification of 5-hydroxytryptophan on glassy carbon electrode for simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid, *Electrochimica Acta*, 51, 5794-5801

- Luo, J.W., Zhang, m and Pang, DW, 2005, Selective and sensitive determination of uric acid at DNA-modified graphite powder microelectrodes, *Sensor and Actuators B*, 106: 358-362
- Lawrence, N.S., Beckett, E.L., Davis J and Compton, R.G., 2002, Advances in the voltammetric analysis of small biologically relevant compound, *Analytical Biochemistry*, 303: 1-16.
- Matos, RC., Augelli, MA., Lago, C.L., and Angnes L, 2000, Flow injection analysis- amperometric determination of ascorbic and uric acids in urine using arrays of gold microelectrodes modified by electrodeposition of palladium, *Anal. Chim. Acta*, 404: 151-157
- Martinez, S., valek, L., Resetic, J., and Ruzic, D.F., 2006, Cyclic Voltammetry study of plasma antioxidant capacity – comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 588:68–73
- Miland, E., Ordieres, A.J.M., Blanco, P.T., Smyth, M.R., Fagain, C.O., 1996, Poly(o-aminophenol)-modified bienzyme carbon paste electrode for the detection of uric acid, *Talanta* 43: 785
- Miller, J.C. and Miller, J. N., 1998, *Statistics for Analytical Chemistry*, 3th edition, Ellis Horwood Limited, New York
- Moral, N.P. and Mayes, A.G., 2004, Comparative study of imprinted polymer particles prepared by different polymerisation methods, *Anal. Chim. Acta* 504:15-21
- O'Neil, and Maryadete, J., 2001, *The Merck Index*, Thirteenth Edition, Published by Merck Research Laboratories.
- Ozcan, L and Sahin, Y., 2007, Determination of paracetamol based on Eelectropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode, *Sensor and Actuators B*, 127, 362-369.
- Prasad, B.B., and Lakshmi, D., 2005, Barbituric Acid Sensor Based on Molecularly Imprinted Modified Hanging Mercury Drop Electrode, *Electroanalysis*, 17 No. 14 : 1260 - 1268
- Prasad, B.B., Sharma, P.S., and Lakshmi, D., 2007, Molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction combined with molecularly imprinted polymer-based sensor for detection of uric acid, *Journal of Chromatography A*, 1173: 18–26
- Premkumar, J and Khoo, S.B., 2005, Electrocatalytic oxidation of biological molecules(ascorbic acid and uric acid) at highly oxidized electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 576: 105-112
- Qin Lin, X dan Ping Jin, G, 2005, Monolayer modification on glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid, *Electrochimica Acta*, 50: 3210 – 3216.
- Ren, W., Luo, H. Q, and Li, N.B., 2006, Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at glassy carbon electrode modified with caffeic acid, *Biosensors and Bioelectronics*, 21: 1086-1092.

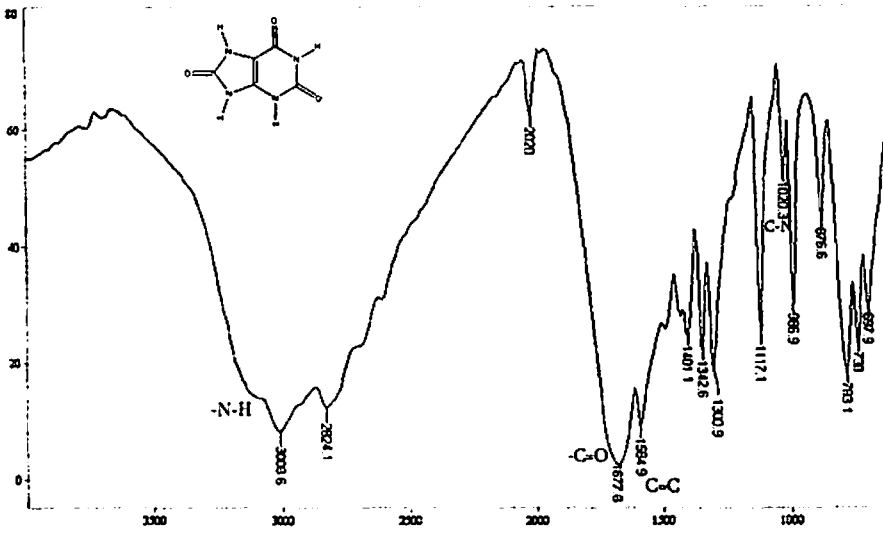
- Shahrokhian, S., and Ghalkhani, M., 2006, Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and uric acid at a carbon-paste modified electrode incorporating thionine-nafion ion-pair as an electron mediator, *Electrochim. Acta* 51:2599-2606.
- Skoog, Douglas A, West, Donald M, Holler, F James, 1996, *Fundamental of Analytical Chemistry*, Seventh edition. Thomson Learning Inc.
- Strochkova, E.M., Tur'yan, Ya.I., Kuselman, I., and Shenhar, A., 1997, Simultaneous voltammetric determination of uric and ascorbic acid in urine, *Talanta*, 44, 1923-1928
- Wang, J., 2000, *Analytical Electrochemistry*, Wiley-VCH, Canada
- Wei, Y., Li, M., Jiao, S., Huang, Q, Wang, G dan fang, B., 2006, Fabrication of CeO nanoparticles modified glassy carbon electrode and its application for electrochemical determination of UA and AA simultaneously, *Electrochimica Acta*, 52, 766-772
- Zare, H.R., Memarzadeh, F, Ardakani, M.M, Namazian, M and Golabi, S.M, 2005, Norepinephrine-modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of ascorbic acid and uric acid, *Electrochimica Acta*, 50: 3495-3502.
- Zare, H.R., Rajabzadeh, N., Ardakani, M.M., 2006, Voltammetric studies of an oracet blue modified glassy carbon electrode and its application for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, in press
- Zen, J.M., and Hsu, C.T., 1998, A selective voltammetric method for uric acid detection at Nafion-coated carbon paste electrode, *Talanta* 46: 1363

LAMPIRAN

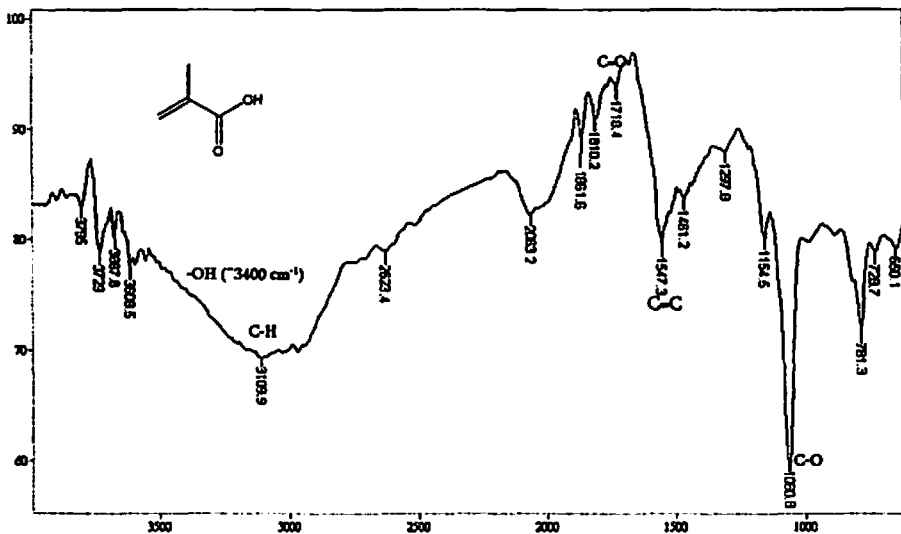
Lampiran 1

Spektra hasil analisis polimer dengan spektrofotometer merah infra(IR)

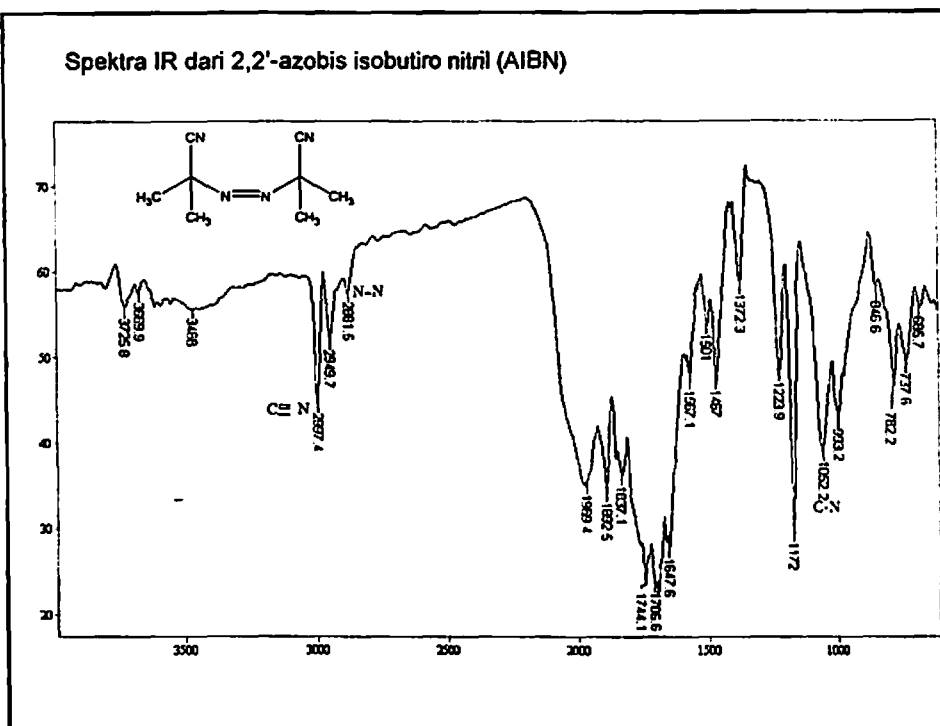
Spektra IR dari asam urat



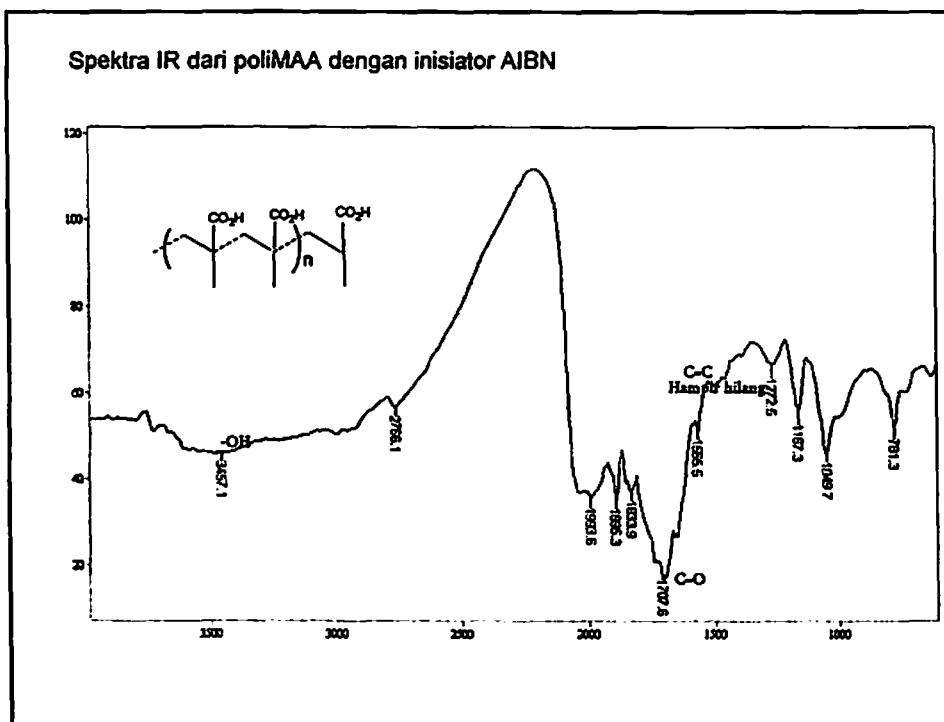
Spektra IR dari asam metakrilat (MAA)



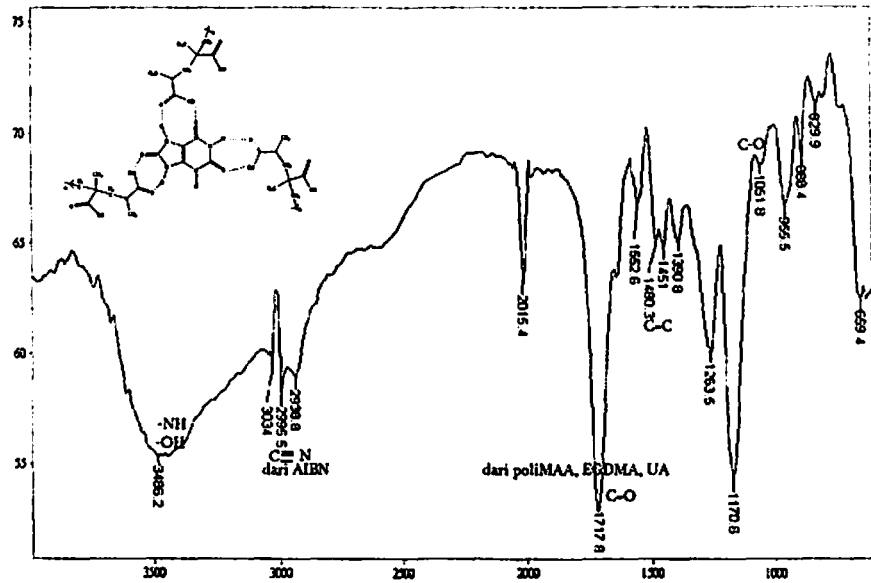
Spektra IR dari 2,2'-azobisisobutiro nitril (AIBN)



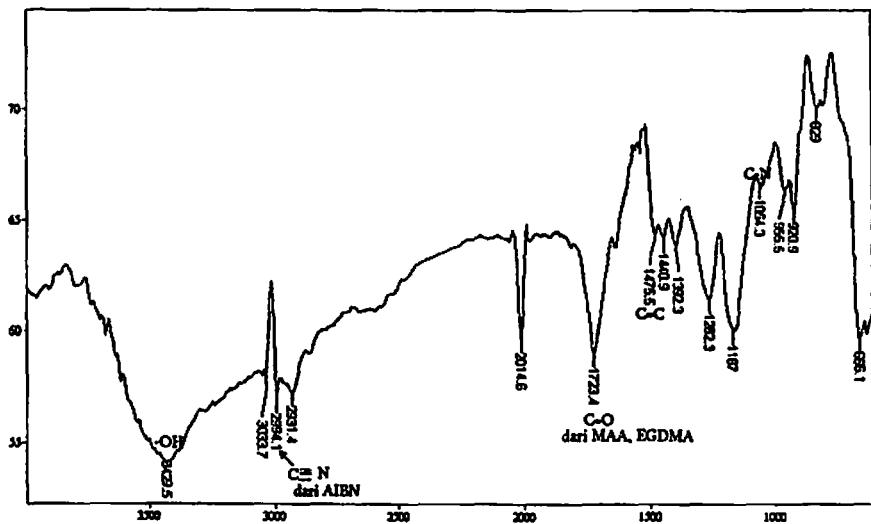
Spektra IR dari poliMAA dengan inisiator AIBN



Spektra IR dari hasil reaksi polimerisasi
 MAA + inisiator AIBN + cross linker EGDMA + UA



Spektra IR dari hasil reaksi polimerisasi
 MAA + inisiator AIBN + cross linker EGDMA - UA (UA diekstraksi)

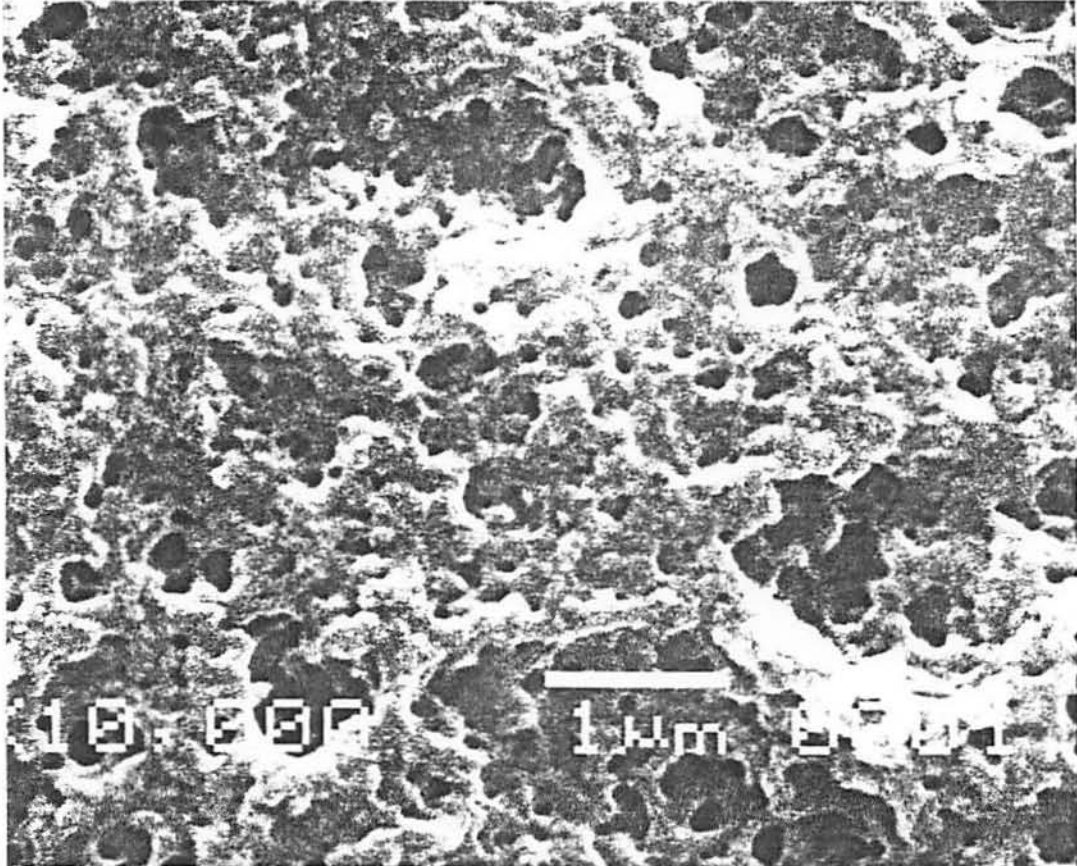


Lampiran 2

Hasil analisis polimer dengan SEM

Hasil SEM

Senyawa : poli_MAA co EGDMA inisiator AIBN
Perbesaran : 10000 kali
Gambar : permukaan polimer

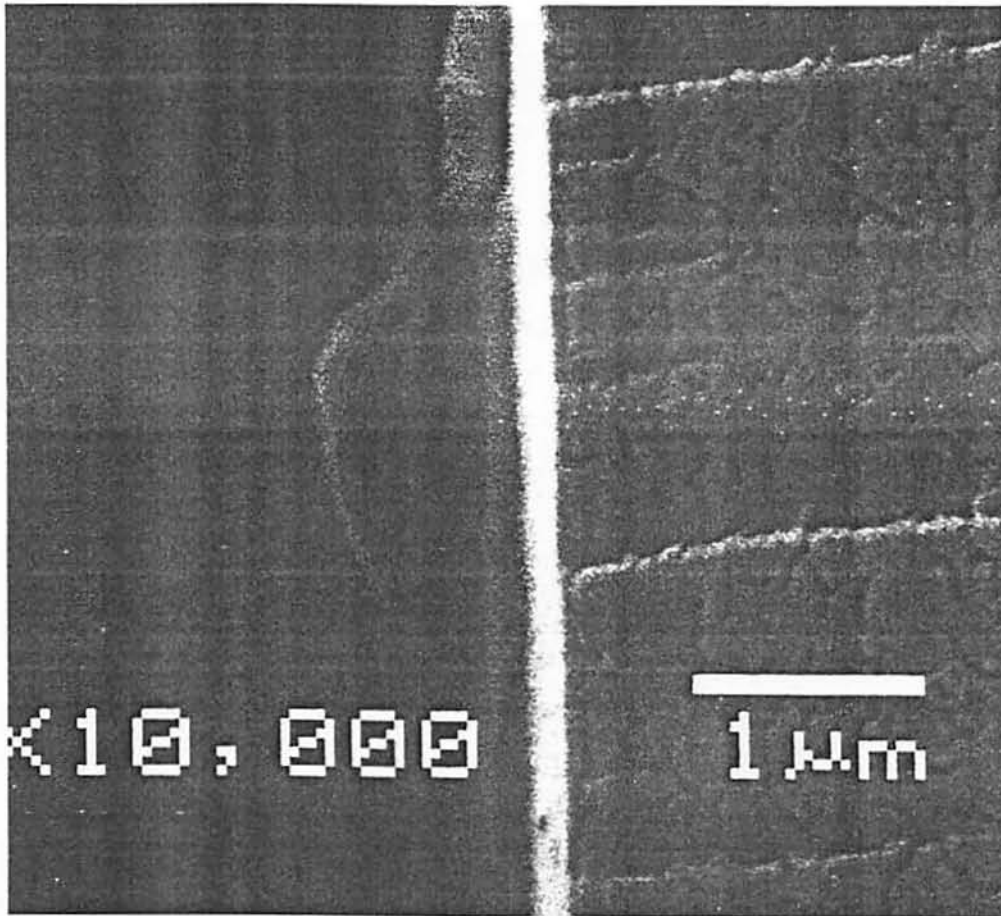


Hasil SEM

Senyawa : poli_MAA co EGDMA inisiator AIBN

Perbesaran : 10000 kali

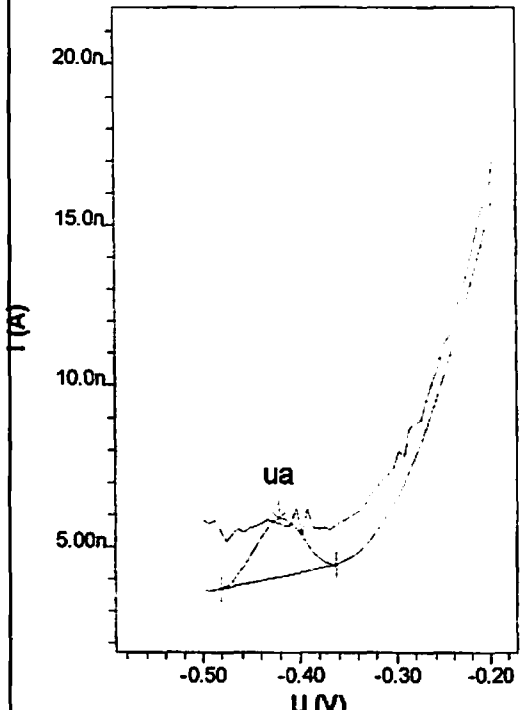
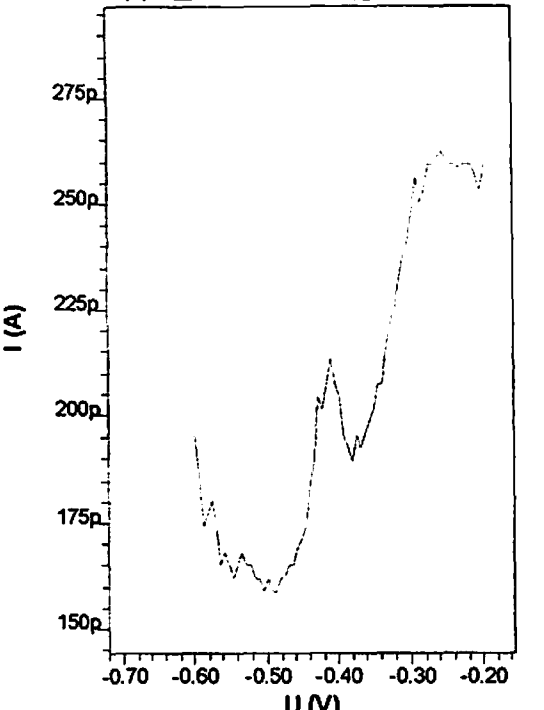
Gambar : penampang lintang



Lampiran 3

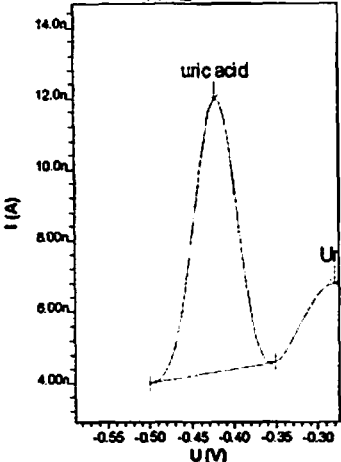
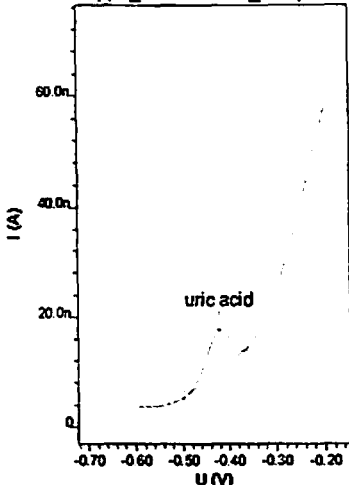
Contoh voltammogram hasil analisis
asam urat dengan voltametri
menggunakan HMDE dan modifikasi
HMDE-cetakan molekul

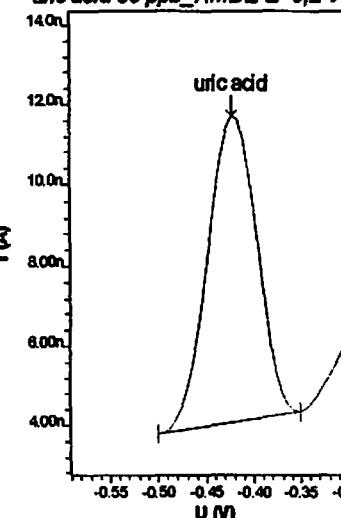
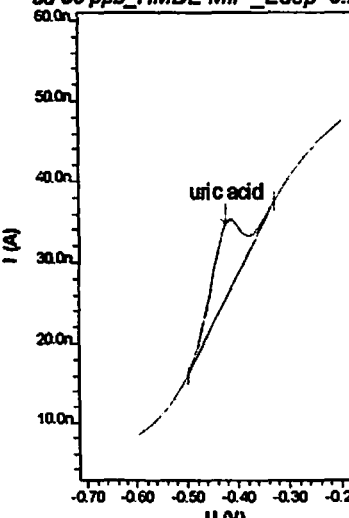
Voltammogram asam urat (UA) 50 ppb

<p>Kondisi percobaan : Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt Potensial akumulasi UA = + 0,1 V Elektroda : HMDE</p>	<p>Kondisi percobaan : Waktu deposisi MIP = 120 dt Potensial akumulasi MIP = + 0,1 V Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt Potensial akumulasi UA = + 0,1 V Elektroda : HMDE-MIP</p>
<p style="text-align: center;">Uric ua</p>  <p style="text-align: center;">U (V)</p>	<p style="text-align: center;">Uric determination ua 50 ppb_HMDE-MIP_Edep 0.1</p>  <p style="text-align: center;">U (V)</p>
<p>E_{strip} = -0,423V Luas area = 1,801 nA</p>	<p>E_{strip} = - Luas area = -</p>

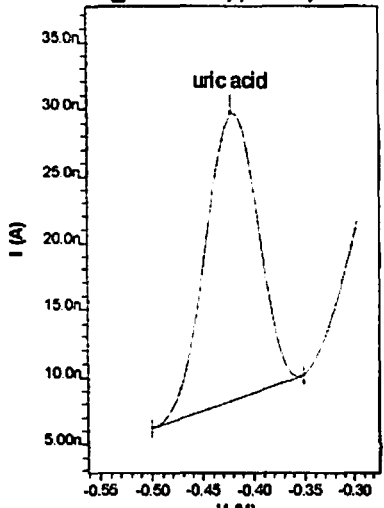
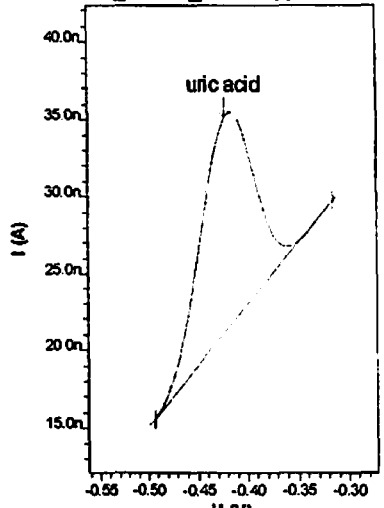
Catatan:

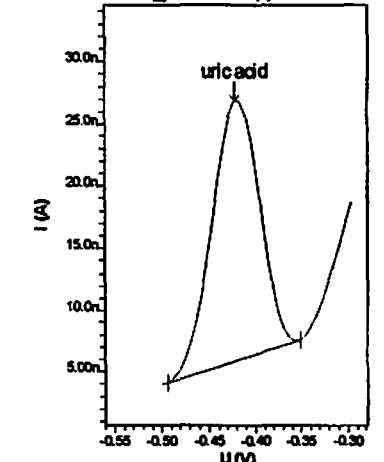
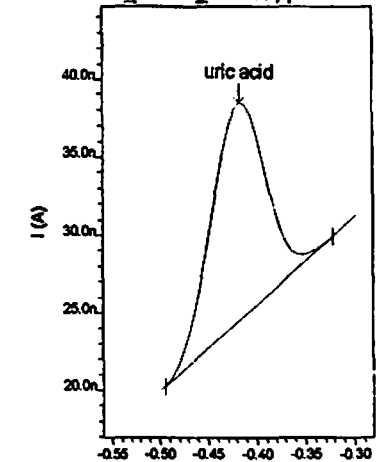
Setelah MIP dilapiskan pada HMDE, *stand/pengangga* elektroda diangkat, elektroda dikeringkan dengan cara mengalirkan gas N₂ pada elektroda tersebut selama 5 menit. Elektroda kemudian dimasukkan pada larutan asam urat, dan dilakukan analisis asam urat

<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = 0 V</p> <p>Elektroda : HMDE</p>	<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi MIP = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi MIP = 0 V</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = 0 V</p> <p>Elektroda : HMDE-MIP</p>
<p>Uric determination uric acid 50 ppb_HMDE E +0 V</p> 	<p>Uric determination ua 50 ppb_HMDE-MIP_Edep 0</p> 
<p>E_{strip} = -0,423V</p> <p>Luas area = 7,68 nA</p>	<p>E_{strip} = - 0,421 V</p> <p>Luas area = 7,162 nA</p>

<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,2 V</p> <p>Elektroda : HMDE</p>	<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi MIP = 120 detik</p> <p>Potensial akumulasi MIP = -0,2 V</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,2 V</p> <p>Elektroda : HMDE-MIP</p>
<p>Uric determination uric acid 50 ppb_HMDE E -0,2 V</p> 	<p>Uric determination ua 50 ppb_HMDE-MIP_Edep -0.2</p> 
<p>E_{strip} = -0,423 V</p> <p>Luas area = 7,67 nA</p>	<p>E_{strip} = - 0,421 V</p> <p>Luas area = 7,046 nA</p>

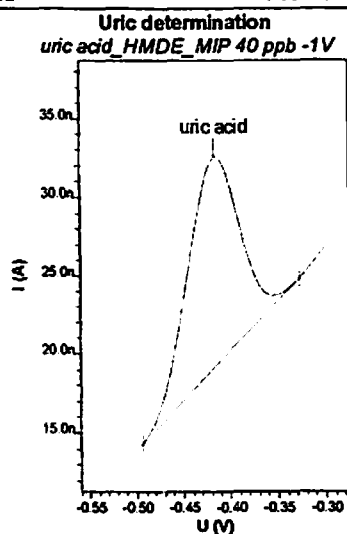
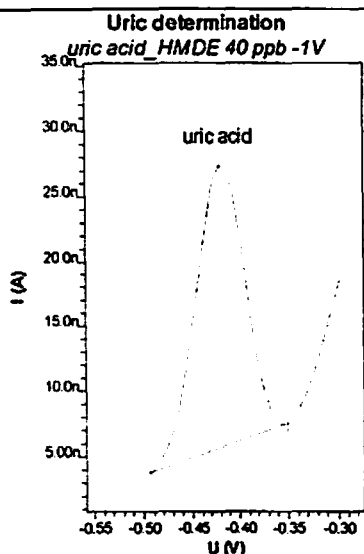
Voltammogram asam urat (UA) 40 ppb

<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,8 V</p> <p>Elektroda : HMDE</p>	<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi MIP = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi MIP = -0,8 V</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,8 V</p> <p>Elektroda : HMDE-MIP</p>
<p style="text-align: center;">Uric determination uric acid_HMDE 40 ppb Edep -0.8V</p> 	<p style="text-align: center;">Uric determination uric acid_HMDE_MIP 40 ppb -0.8V</p> 
<p>E_{strip} = - 0,423 V</p> <p>Luas area = 21,51 nA</p>	<p>E_{strip} = - 0,423 V</p> <p>Luas area = 13,93 nA</p>

<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,9 V</p> <p>Elektroda : HMDE</p>	<p>Kondisi percobaan :</p> <p>Waktu deposisi MIP = 120 detik</p> <p>Potensial akumulasi MIP = -0,9 V</p> <p>Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt</p> <p>Potensial akumulasi UA = -0,9 V</p> <p>Elektroda : HMDE-MIP</p>
<p style="text-align: center;">Uric determination uric acid_HMDE 40 ppb -0.9V</p> 	<p style="text-align: center;">Uric determination uric acid_HMDE_MIP 40 ppb -0.9V</p> 
<p>E_{strip} = - 0,423 V</p> <p>Luas area = 21,03 nA</p>	<p>E_{strip} = - 0,417 V</p> <p>Luas area = 13,93 nA</p>

Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,0 V
 Elektroda : HMDE

Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi MIP = 120 detik
 Potensial akumulasi MIP = - 1,0 V
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,0 V
 Elektroda : HMDE-MIP

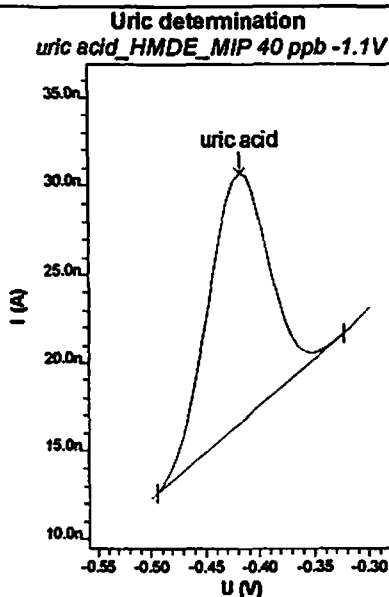
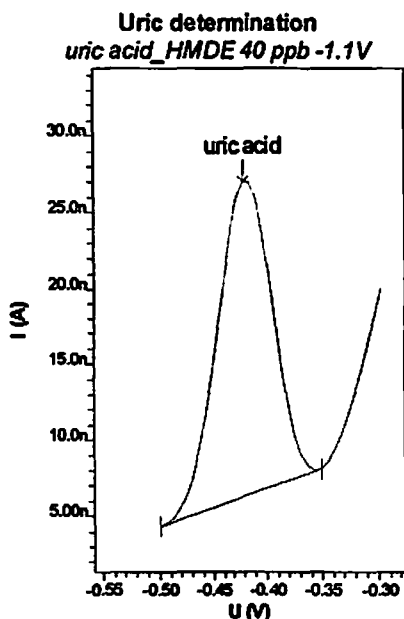


E_{strip} = - 0,423 V
 Luas area = 21,56 nA

E_{strip} = - 0,417 V
 Luas area = 13,38 nA

Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,1 V
 Elektroda : HMDE

Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi MIP = 120 detik
 Potensial akumulasi MIP = - 1,1 V
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,1 V
 Elektroda : HMDE-MIP



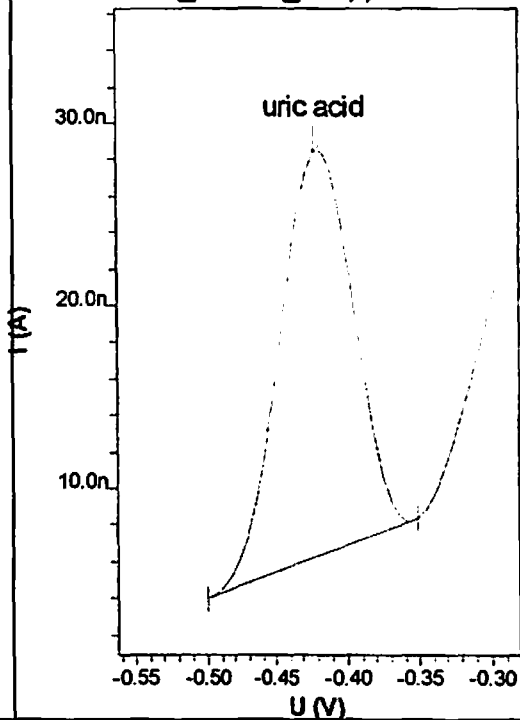
E_{strip} = - 0,423 V
 Luas area = 20,71 nA

E_{strip} = - 0,417 V
 Luas area = 14,10 nA

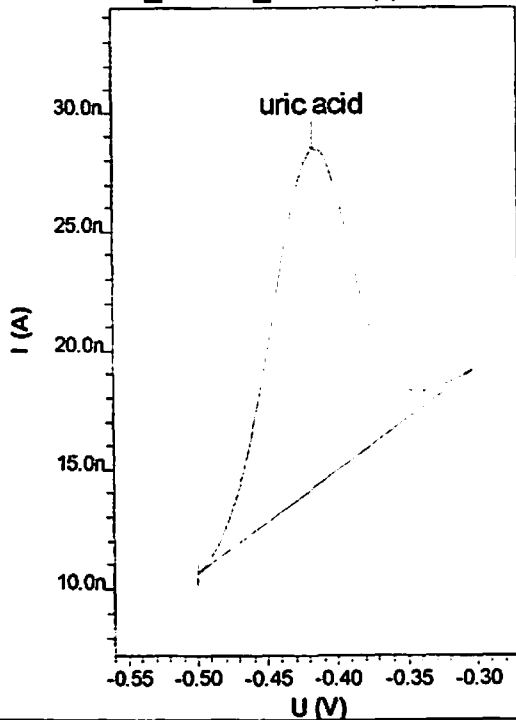
Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,2 V
 Elektroda : HMDE

Kondisi percobaan :
 Waktu deposisi MIP = 120 detik
 Potensial akumulasi MIP = - 1,2 V
 Waktu deposisi (akumulasi) UA = 120 dt
 Potensial akumulasi UA = - 1,2 V
 Elektroda : HMDE-MIP

Uric determination
uric acid_HMDE_ 40 ppb -1.2 V



Uric determination
uric acid_HMDE_ MIP40 ppb -1.2 V



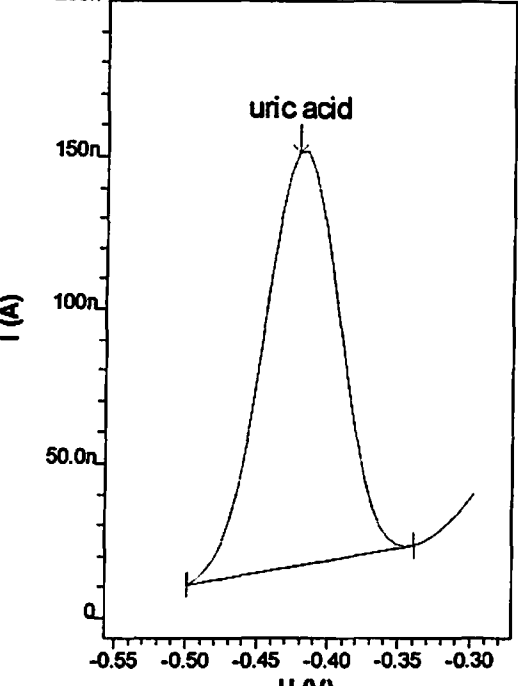
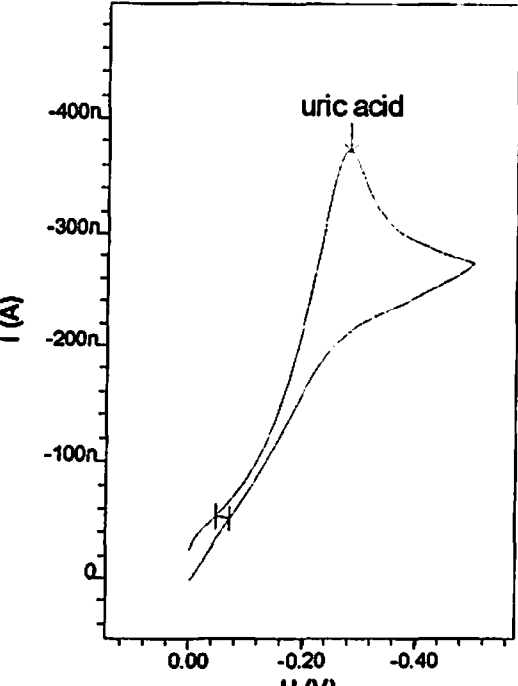
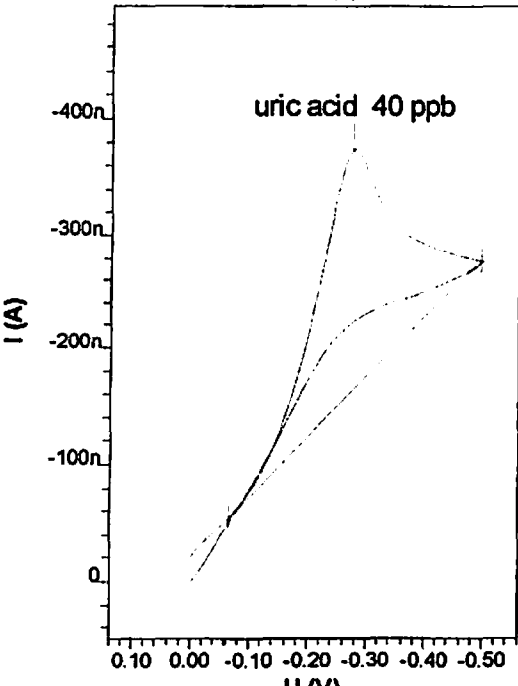
E_{urip} = - 0,423 V
 Luas area = 22,23 nA

E_{urip} = - 0,417 V
 Luas area = 14,23 nA

Lampiran 4

Contoh voltammogram hasil analisis asam urat dengan voltametri siklik

Voltammogram uric acid 40 ppb

differensial pulse voltammetry (DPV) $E_{dep} = -1V$ $t_{dep} = 60 dt$ $E_{sweep} = 0,3 - 0,5 V$	cyclic voltammetry (CV) $E_{dep} = -1V$ $t_{dep} = 60 dt$ $E_{sweep} = 0 - (-0,5) V$	cyclic voltammetry (CV) $E_{dep} = -1V$ $t_{dep} = 60 dt$ $E_{sweep} = +0,1 - (-0,5) V$
<p style="text-align: center;">Uric determination UA 40 ppb_HMDE_(-1 V)</p>  <p style="text-align: center;">uric acid</p>	<p style="text-align: center;">CV on uric acid uric acid</p>  <p style="text-align: center;">uric acid</p>	<p style="text-align: center;">Cyclic voltammetry on uric acid uric acid 40 ppb</p>  <p style="text-align: center;">uric acid 40 ppb</p>
Luas area = 134,47 nA $E_{peak} = -0,423 V$	Luas area = -337,99 nA $E_{peak} = -0,280 V$	Luas area = -210,90 nA $E_{peak} = -0,274 V$

Kesimpulan : reaksi reduksi *irreversible*

Lampiran 5

Makalah

1. *"The Influence of Ascorbic Acid on Uric Acid Determination in Serum and Urine with Stripping Voltammetry using Hanging Mercury Drop Electrode"*
2. "Sintesis dan karakterisasi *molecular imprinted polymer* dan aplikasinya sebagai material sensor sensitif dan selektif terhadap asam urat"

The Influence of Ascorbic Acid on Uric Acid Determination in Serum and Urine with Stripping Voltammetry using Hanging Mercury Drop Electrode

Miratul Khasanah,^{1,3,*} Mudasir², Agus Kuncaka², Eko Sugiharto²,
Ganden Supriyanto³, Iin Roheni²

¹ Student of Doctoral Program, Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Gadjah Mada University, Indonesia

² Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Gadjah Mada University, Indonesia

³ Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University, Indonesia

* email : miratulkhasanah@unair.ac.id

Abstract

The influence of ascorbic acid on uric acid determination with stripping voltammetry using hanging mercury drop electrode (HMDE) has been studied under the conditions accumulation potential -1000 mV, accumulation time 120 second, stirring rate 1600 rpm, pH solution 5.5 and mercury drop size 4 μ L. The method validation has been studied with the uric acid standard solution 10 – 50 μ g/L. The results are correlation coefficient (r) = 0.9975, precision 2.24 – 10.43 %, sensitivity 0.1515 nA/ μ g, detection limit 5.08 μ g/L and recovery of uric acid in serum and urine matrix without ascorbic acid are 104.17 % and 97.67 %, respectively. The significant influence of ascorbic acid on uric acid determination in serum and urine matrix has been observed. The influence of ascorbic acid is demonstrated by decreasing the signal of uric acid until 24.96% that is caused by addition of ascorbic acid with concentration a half of the uric acid concentration in the solution. Recovery of uric acid 30 μ g/L in serum and urine matrix when the concentration of ascorbic acid in the solution is 15 μ g/L are 90.05 % and 78.63 %, respectively

Key words : uric acid, ascorbic acid, stripping voltammetry, HMDE

1. INTRODUCTION

Uric acid (UA), the primary end-product of purine metabolism, is present in biological fluids such as blood and urine. High concentration of uric acid in body related to some condition, including purine concentration in food, body weight, amount of alcohol in drink, kidney faal, and volume of urine everyday. Consuming alcohol in large amount and fatness causing gout [1].

Kidney is the organ of body which holding responsible to make uric acid concentration in blood always in normal limit about 3,5 - 7 mg/dL. The way is controlling the thrown of uric acid through of urine. But it can happen a condition where is the uric acid production to be exceed, or dismissal through kidney is less. As a result, the uric acid concentration

in blood became high which is called hyperuricaemia. Hyperuricaemia is the increasing of serum uric acid concentration higher than normal value, for man is higher than 7 mg/dL and for woman is higher than 6 mg/dL [2]. It has been shown that extreme abnormality of uric acid levels are symptomatic of several diseases such as high cholesterol, hypertension, and cardiovascular [3].

The method of uric acid determination which is ordinary done biomedically using phosphothungstic acid or uricase enzyme [1]. In this method, the uric acid in serum was reacted with phosphothungstic acid so that phosphothungstic acid will be reduced by uric acid yielding blue color. The analysis was carried out by using spectrophotometry at 660 nm. The weaknesses of this method are the large amount of sample needed, high detection limit (nM), and the complicated of the sample treatment so that it is needed long time analysis.

The research of uric acid determination using reversed phase (RP) of HPLC have been reported [4]. The result of this research shown that detection limit was 0.11 μ g/mL with recovery was 94 – 104 %. Various electrochemical methods were developed to solve the uric acid problem. The analysis of uric acid by differential pulse voltammetry using thionine-nafion modified electrode was conducted [5] and it obtained the detection limit of 5×10^{-8} M. The analysis was longer time because the glassy carbon electrode has to be plated first by certain compound.

Some electrochemical procedures based on the oxidation of uric acid at carbon based electrodes in acidic solution suffered from interference of ascorbic acid which can be oxidized at a potential close to that of uric acid, caused the signal overlapped. Analysis of uric acid in serum and urine can be interfered by ascorbic acid because both present together in the serum and urine [6]. Interference of ascorbic acid on uric acid determination using nafion modified electrode and cross-linking enzyme modified electrode has been reported [7].

The simultaneous voltammetric analysis of epinephrine, uric acid, and ascorbic acid using modified glassy carbon electrode with caffeic acid has been reported [8]. The result is the detection limit of uric acid $6,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. This demonstrates that the modified electrode is a good electrode but taken longer time for analysis.

The aim of this research to study the influence of ascorbic acid on uric acid determination by voltammetry using hanging mercury drop electrode (HMDE). The parameters studied in this research including accumulation potential, accumulation time, stirring rate, pH solution, mercury drop size, detection limit, recovery, precision, linearity and sensitivity. The influence of ascorbic acid was determined by adding ascorbic acid on the uric acid standard solution with the variation of concentration ratio.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Chemicals and Materials

Uric acid was purchased from Fluka. Ascorbic acid, acetic acid glacial, sodium acetate, sodium hydroxide trihydrate, sodium hydrogenphosphate heptahydrate, sodium dihydrogenphosphate, ammonium sulphate, sodium phosphate dodecahydrate, and ureum all from Merck. All chemicals were of analytical grade. Other materials that used are N_2 (ultra high pure), reference serum *Precinorm UPX 10186848*, and double distilled water.

2.2. Equipments

The instrument is a *797 Voltammetry Computrace (MVA system-1)* consisting of three electrodes, sample container, processor unit and PC. The working electrode was hanging mercury drop (HMDE). The reference electrode and auxiliary electrode were a saturated Ag/AgCl and platinum wire, respectively. The other equipments were pH meter, micropipette and glassware.

2.3. Procedure

2.3.1 Optimization of the research conditions

The research conditions optimized were accumulation potential, accumulation time, stirring rate, pH solution and mercury drop size. The optimization of research conditions used 25.0 mL uric acid $30 \mu\text{g/L}$. Then, the solution was analyzed with stripping voltammetry. Variation of accumulation potential started at -300 to -1300 mV, accumulation time started from 30 to 300 seconds, stirring rate from 0 to 2800 rpm, pH solution have been done on pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 and 7.5. Variation of mercury drop size are 1, 2, 3, 4 and 5 μL .

2.3.2. Calibration curve and method validation

Each of the uric acid standard solution 10, 20, 30, 40, and 50 $\mu\text{g/L}$ was analyzed with stripping

voltammetry using HMDE under the optimum conditions. The measurement of each concentration had been done three times. The data was used to make calibration curve and to determine the method validation, including linearity, precision, sensitivity, detection limit and recovery.

Recovery of uric acid in serum control was determined by diluting serum control *Precinorm UPX* that consisting 43 $\mu\text{g/L}$ uric acid on optimum pH. Recovery of uric acid in synthetic urine was determined by spiking of synthetic urine with 40 $\mu\text{g/L}$ uric acid. Both of the solution have been analyzed by stripping voltammetry using HMDE on the optimum conditions.

2.3.3. Influence of ascorbic acid

Influence of ascorbic acid was studied by adding ascorbic acid to uric acid solution 30 $\mu\text{g/L}$, so that the ratio of uric acid and ascorbic acid concentration were 1:0.5 ; 1:1 ; 1:1.5 ; 1:2 ; and 1:2.5. The solutions were analyzed with stripping voltammetry using HMDE. Deviation of current value of each ratio to current of uric acid 30 $\mu\text{g/L}$ without ascorbic acid addition was determined. The result were compared to the result obtained by spectrophotometric method.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Optimization of Research Parameters

3.1.1. Accumulation potential

The accumulation potential applied to working electrode (HMDE) causing the accumulation of analyte on the electrode. Voltammogram of the accumulation potential is shown on Figure 1.

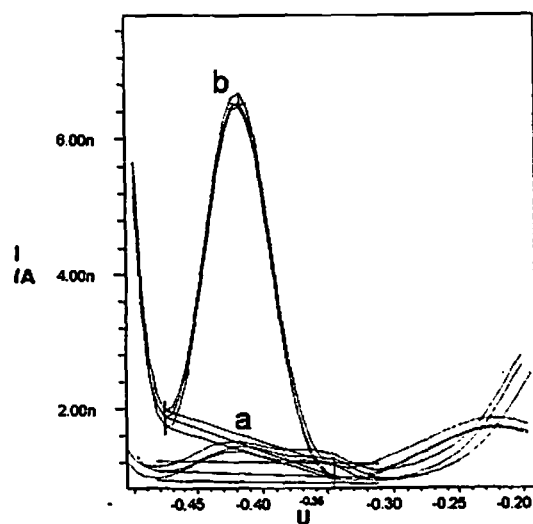


Figure 1. Voltammogram of uric acid $30 \mu\text{g/L}$ on potential accumulation (a) -300 mV, (b) 1000 mV (3 times measurement)

The election of accumulation potential according to reproducibility in the current that was obtained on certain potential. In this research, an optimum accumulation potential was -1000 mV. The best election of accumulation potential in the one that give the highest current and precision and induces no side reaction [9].

3.1.2. Accumulation time

Accumulation is the electrochemical pre-concentration electrochemically of the analyte on the electrode surface. This step involved the deposition and adsorptive accumulation of the analyte on the electrode surface, or electron transfer mechanism on modified surface electrode, depending on the interaction between analyte and the electrode. In this research, the uric acid accumulation process occur because of surface-active character of uric acid that can be accumulated on the mercury electrode [10]. The longer the accumulation the higher the current produced. The current is proportional to the analyte concentration.

The relationship between accumulated analyte on the electrode surface (C_{Hg}) versus accumulation time explained by Faraday's law, as describes with equation below.

$$C_{Hg} \approx i_l t_d$$

which i_l is limiting current on accumulated analyte and t_d is accumulation time [14]. Based on the equation above it is shown that the longer accumulation time is given, the more analyte will be accumulated on the electrode. Election of accumulation time is done to obtain an efficient time analysis and to prevent interferences that occur which is caused by saturation of electrode.

3.1.3. Stirring rate

The result of stirring rate optimization shown by Figure 2.

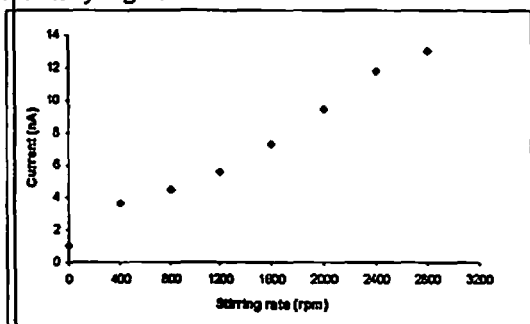


Figure 2. Stirring rate optimization

The Figure 2 explains the more stirring rate speed up, the more current obtained. It caused by stirring rate affect to the thickness of diffusion layer become thinner, so the current increased, according to equation below.

$$i = \frac{nFADC}{\delta}$$

$$\delta = \frac{K}{U^\alpha}$$

with i is current in ampere, n is amount of electron, F is number of Faraday, A is wide of surface (cm^2), D is coefficient of diffusion in cm^2s^{-1} , C is concentration in mol cm^{-3} , δ is thickness of diffusion layer, K and α is a constant, and U is stirring rate [11].

Stirring rate generating a convection movement that obtain convection current. The current was unexpected in accumulating the analyte onto electrode, although if analysis had done by unstirred the longer time in analysis was taken to accumulate the analyte, beside that the current obtained was not reproducible because of the solution was not homogen [12]. Moreover, speed up of stirring rate causing a vibration that bothering of electrode stability which is pursuing accumulation process of uric acid to the electrode surface. Election of stirring rate based on reproducibility current with low in coefficient variation relatively. This research use 1600 rpm as optimum stirring rate.

3.1.4. pH solution

The result of pH optimization were shown by Table 1. The result of pH solution optimized on the Table 1 exhibits that optimum current yielded on pH 5.5. On the less acid solution, the uric acid present in its molecule form so that easier accumulated to the electrode. On pH-base, uric acid form the anion and accumulation process unhappened [13].

Table 1. The current data to the rising of pH solution

pH solution	Mean current(nA)	CV(%)
3.5	4.2007	19.28
4.5	3.3450	12.55
5.5	5.4797	8.77
6.5	0	0
7.5	0	0

Adding of pH in pH-acid range causing undischarging the ion of analyte, in the solution analyte present as its molecule. This case affect amount accumulated of analyte increased. If analyte has acid character and the pH rise up, the analyte will form in its ion and tend to dissolve into water, caused decreasing of analyte accumulated onto the electrode [14].

3.1.5. Mercury drop size

On this research was used mercury drop size 4 μL . The reason of electing it as drop size according to the fact that a maximum current peak yielded and high reproducibility signed with low in coefficient of variation value. The bigger of mercury drop size, the wider of surface, the more analyte

accumulated to the electrode. But, the bigger mercury drop size causing drop in unstable condition, as a result the drop is easier to break and it affect accumulated analyte decreased.

3.2. Calibration Curve and Method Validation

The standard solution of uric acid 10 - 50 $\mu\text{g/L}$ were analyzed by stripping voltammetry on optimum condition, then the result of currents plotted to the graphic which relation current versus uric acid standard solution concentration. From this data, we obtained the linier regression $y = 0.1515x - 0.2236$ ($r = 0.9975$). Data of method validation shown by Table 2.

Table 2. Data of the method validation

Validation parameter	Value	Remark
Linearity (r)	0.9975	t-test
Precision(CV)	2.24 -10.43%	10-50 $\mu\text{g/L}$
Sensitivity	0.1515 nA L/ μg	Slope of the linear regression
Detection limit	5.0772 $\mu\text{g/L}$	-

Recovery of uric acid in serum control Precinorm UPX and synthetic urine without ascorbic acid addition were 104,17% and 97,67%, respectively. Matrices in synthetic urine caused the uric acid signal sifted to the positive potential about 0.078 V with the simultaneous decreasing in the peak current (Figure 3).

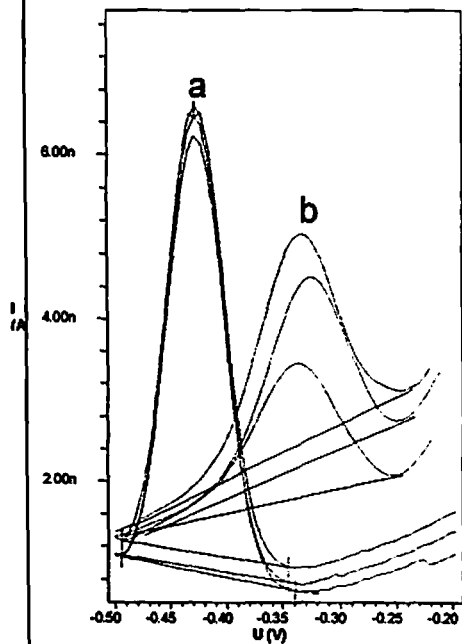


Figure 3. Voltamogram uric acid 40 $\mu\text{g/L}$: (a) in water and (b) in urine matrix (3 times measurements)

This is the attribute of the electrode surface fouling effect caused by the adsorption of oxidized product of ascorbic acid, dehydroascorbic acid. The phenomenon is not happened in serum matrices.

3.3. Influence of Ascorbic Acid

Ascorbic acid is a reducing agent which can be determined electrochemically. Concentration of ascorbic acid in serum on the normal condition kept constant, that was 0.696 mg/dL [1]. The excess of ascorbic acid in the body will be excreted via urine have caused ascorbic acid concentration in the urine bigger than in the serum sample.

One of the major problems on the determination of uric acid in the serum and urine by electrochemical method is the presence of ascorbic acid as interference because ascorbic acid has a close oxidation potential of uric acid and the both of signal overlapped.

Influence of ascorbic acid on uric acid determination is shown on Table 3. The data has described that by adding ascorbic acid with concentration a half of uric acid concentration have significantly decreased the current of uric acid. This is caused by the competition of uric acid and ascorbic acid diffusion to the mercury electrode surface since the accumulation process. The ascorbic acid is the active site organic compound such as uric acid. If both uric acid and ascorbic acid presented together in the solution, they competed to the electrode surface and decreasing the uric acid signal. The influence is constant of the ascorbic acid concentration is the same with or more than uric acid concentration

Table 3. Deviation of uric acid current on ratio of uric acid and ascorbic acid concentration

Ratio of uric acid and ascorbic acid concentration	Deviation of current value (%)
1.0 : 0.0	0
1.0 : 0.5	24.96
1.0 : 1.0	63.61
1.0 : 1.5	73.21
1.0 : 2.0	73.60
1.0 : 2.5	77.14

Recovery of uric acid 30 $\mu\text{g/L}$ in serum and urine with addition ascorbic acid 15 $\mu\text{g/L}$ were 90,05 % and 78.63 %, respectively. That is shown that ascorbic acid has been interfered on uric acid determination with stripping voltammetry using HMDE.

Presence of ascorbic acid have not significantly interfered on the uric acid determination using spectrophotometric method, caused by adding ascorbic oxidase enzyme before

analysis. But, this method gave the recovery about 73% only.

Table 4. Recovery of the uric acid using spectrophotometry method

Ratio of uric acid and ascorbic acid concentration	Recovery (%)
1.0 : 0.0	73
1.0 : 0.5	71
1.0 : 1.0	70

4. CONCLUSION

Optimized conditions of uric acid determination in this work were accumulation potential -1000 mV, accumulation time 120 seconds, stirring rate 1600 rpm, pH solution 5.5 and mercury drop size 4 μL . Method validation value of stripping voltammetry using HMDE which were linearity with coefficient of correlation 0.9975, precision 2.24% to 10.43% which uric acid concentration 10 to 50 $\mu\text{g/L}$. Sensitivity 0.1515 nA L/ μg , detection limit 5.0772 $\mu\text{g/L}$ and recovery uric acid in serum control and synthetic urine matrices were 104.17 % and 97.67%, respectively. Ascorbic acid has significantly interfered on the determination of uric acid in serum and urine samples using voltammetry method. Recovery of uric acid 30 $\mu\text{g/L}$ in serum and urine sample matrices when the concentration of ascorbic acid in the solution is 15 $\mu\text{g/L}$ are 90.05 % and 78.63 %, respectively.

ACKNOWLEDGMENT

The present research was financially supported by the Airlangga University Indonesia under the Program Hibah Kompetisi, 2008 and Riset Strategis Nasional, LPPM, 2009.

REFERENCES

- [1] Chen, J.C., Chung, H.H., Hsu, C.T., Tsai, D.M., Kumar, A.S., and Zen, J.M., *Sensors and Actuators B*, 110 (2005) 364.
- [2] Dalimartha, S., *Resep Tumbuhan Obat untuk Asam Urat*, Penebar Swadaya, Jakarta, (2006).
- [3] Johnson, R. J., Kang, D., Kivlinghn., Kanellis, J., Watanabe, S., Tuttle, K.R., Rodrigue Iturbe, B., Herrera Acosta, J. and Mazzali, M., *Hypertension*, 41 (2003) 1183-1190.
- [4] George, S.K., Dipu, M.T., Mehra, U.R., Singh, P., Verma, A.K., and Ramgaokar, J.S., *Journal of Chromatography B*, 832 (2006) 134.
- [5] Shahrokhian, S. And Ghalkhani, M., *Electrochimica Acta*, 51 (2006) 2599.
- [6] Martinez, S., Valek, L., Rešetić, J. And Ružić, D. F., *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 588 (2006) 68-73.
- [7] Marcas, A. T., Gilmartin, J. P., Hart and Birch, B., *Analyst*, 117 (1992) 1299-1303.
- [8] Ren, W., Luo, H. Q. and Li, N.B., *Electrochimica Acta*, 51 (2006) 2599.
- [9] Wang, J., *Stripping Analysis : Principles, Instrumentation, and Applications*, VCH Publishers, Deerfield Beach (1985).
- [10] Gandour, M. A., Kasim, E.A., Amrallah, A.H., and Farghaly, O.A., *Talanta*, Vol 41, No 3 (1994) 439-444.
- [11] Wang, J., *Analytical Electrochemistry*, 2nd edition, Wiley-VCH, New York (2000).
- [12] Monk, P., *Fundamental of Electroanalytical Chemistry*, John Wiley & Sons LTD, England (2001).
- [13] Zen, J. M. and Hsu, C. T., *Talanta* 46 (1992) 1363.
- [14] Psillakis, E. and Kalogerakis, N., *Trend in Analytical Chemistry*, vol 21 (2002) 53-63.

Sintesis dan karakterisasi *molecular imprinted polymer* dan aplikasinya sebagai material sensor sensitif dan selektif terhadap asam urat

Miratul Khasanah ^{1,2)}, Ganden Supriyanto ¹⁾, Siti Wafiroh ¹⁾,
Mudasir ³⁾, Agus Kuncaka ³⁾, Eko Sugiharto ³⁾

1) Departemen Kimia FST Universitas Airlangga University

2) Mahasiswa S3 Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada

3) Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Selektivitas dan sensitivitas elektroda kerja pada voltametri dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi elektroda menggunakan polimer dengan cetakan molekul (*molecularly imprinted polymer*, MIP). Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis dan karakterisasi polimer yang terbuat dari monomer asam metakrilat, *cross linker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan *template* asam urat. Polimer yang dihasilkan digunakan untuk memodifikasi elektroda sehingga diperoleh suatu sensor yang selektif terhadap asam urat. Parameter penelitian yang dipelajari adalah komposisi polimer dan kondisi elektropolimerisasi. Dari hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometri IR diperoleh data bahwa polimer poli-MAA maupun MIP telah terbentuk ditunjukkan oleh perubahan intensitas spektra IR pada bilangan gelombang $\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$ (C=C) dan $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ (C=O). Dari analisis dengan SEM diperoleh bahwa rongga polimer poliMAA-co EGDMA yang terbentuk cukup kecil ($\sim 0,1 \mu\text{m}$) dan homogen. MIP yang disintesis dengan perbandingan mol monomer : *cross linker* : *template* : inisiator = 1:3:1:0,01 memberikan kinerja yang bagus. Modifikasi elektroda dengan MIP yang telah dibuat menghasilkan sensor yang sensitif dan selektif terhadap asam urat. Nilai sensitivitas yang diperoleh sebesar 16,405 nA/ppb. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,50%.

Kata kunci : *molecularly imprinted polymer* – karakterisasi – sensor – asam urat

I. PENDAHULUAN

Pengembangan metoda voltametri untuk analisis asam urat dalam darah dan urin menjadi kajian yang sangat menarik karena keberadaan senyawa tersebut dalam sampel bersama-sama dengan senyawa elektroaktif lainnya, seperti asam askorbat (vitamin C) yang sering mengganggu analisis asam urat. Dengan menggunakan elektroda padat murni seperti *glassy carbon (GC)* atau pasta karbon (*carbon paste, CP*), respon voltammetrik asam urat dan asam askorbat berdekatan bahkan cenderung tumpangtuh (*overlap*). Selain itu penggunaan elektroda padat murni memerlukan perlakuan awal yang membutuhkan waktu lama sebelum digunakan untuk analisis, serta tidak dapat digunakan untuk analisis larutan yang mempunyai keasaman tinggi (Cai *et al.*, 1997; Strochkova *et al.*, 1997; John, 2005).

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, para peneliti melakukan analisis asam urat menggunakan elektroda padat yang dimodifikasi, diantaranya *screen printed carbon-based electrode* (Carsol *et al.*, 1997), *nafion coated carbon paste electrode* (Zen dan Hsu 1998), elektroda emas-paladium (Matos *et al.*, 2000), elektroda modifikasi GC – propionil kolin (Qin dan Ping, 2005), elektroda modifikasi serbuk grafit – DNA (Luo *et al.*, 2005), GC – norepinefrin (Zare *et al.*, 2005), GC – 5-hidroksi triptofan (Lin dan Li, 2006), dan elektroda GC termodifikasi nanopartikel CeO₂ (Wei *et al.*, 2006). Dengan elektroda modifikasi tersebut, analisis asam urat sangat diganggu oleh adanya oksigen terlarut yang dihasilkan akibat penggunaan potensial oksidasi yang tinggi. Selain itu modifikasi elektroda memerlukan tahapan yang sangat rumit dan memerlukan waktu lama, serta elektroda yang dihasilkan hanya mampu untuk analisis dengan rentang konsentrasi yang relatif tinggi (mM).

Khasanah dkk (2006; 2007) melakukan analisis asam urat dalam sampel urin dan serum secara voltametri lucutan menggunakan elektroda cair berupa *hanging mercury drop electrode* (HMDE). Batas deteksi yang diperoleh adalah 5,08 µg/L dengan sensitivitas 0,1515 nA L/µg, namun penentuan kadar asam urat dengan metoda ini diganggu oleh asam askorbat. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat menyebabkan sinyal arus voltammogram turun sebesar 24,96% (Khasanah dkk, 2009).

Melihat kendala-kendala analisis asam urat tersebut, pada penelitian ini dilakukan sintesis dan karakterisasi polimer dengan cetakan molekul (*molecular imprinted polymer*, MIP) dan mengaplikasikannya sebagai bahan modifikasi HMDE sehingga diperoleh sensor yang sensitif dan selektif untuk analisis asam urat. Dengan sistem *imprinting* ini akan dibentuk cetakan yang spesifik untuk molekul tertentu sehingga analisis terhadap analit tidak diganggu oleh adanya matriks lain karena cetakan hanya akan sesuai terhadap spesi yang dianalisis. Prasad *et al.* (2007) telah memanfaatkan MIP yang terikat silikagel sebagai sorben pada sistem *solid phase extraction* (SPE) untuk memisahkan asam urat dari matrik lain.

Pada penelitian ini, polimer dibuat dari monomer asam metakrilat (MAA) menggunakan *cross linker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan inisiator 2,2'-azobis isobutironitril (AIBN), sedangkan sebagai *template* adalah asam urat. Karakterisasi terhadap polimer yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dan *scanning electron microscopy* (SEM). Pelarut polimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah dimetilformamida (DMF). Polimer yang terbentuk digunakan sebagai bahan untuk modifikasi elektroda *hanging mercury drop* (HMDE) sehingga diperoleh sensor yang selektif terhadap asam urat. Elektroda modifikasi yang terbentuk digunakan untuk analisis larutan asam urat dan voltammogram yang dihasilkan dibandingkan dengan voltammogram yang diperoleh menggunakan elektroda HMDE. Pada tahap akhir, dilakukan uji sensitivitas dan selektivitas sensor.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Bahan dan sampel penelitian

Bahan kimia yang digunakan adalah asam urat (7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trione), asam metakrilat (MAA), asam etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), 2,2'-azobis isobutironitril (AIBN), dimetilformamida (DMF), kloroform, etanol, metanol, asam askorbat, Na-asetat, asam asetat, amonium asetat, Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4 . Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis (p.a). Bahan lain yang digunakan adalah serum kontrol, sedangkan sampel yang digunakan adalah serum dari penderita asam urat yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo. Air yang digunakan pada penelitian ini adalah *ultra high pure* (UHP) water.

2.2 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah *797 Voltammetry Computrace (MVA system-1)* yang terdiri dengan wadah sampel, pengaduk magnetik, *processor unit*, PC, elektroda kerja HMDE, elektroda pembanding Ag/AgCl dan elektroda pembantu Pt. Peralatan lainnya adalah spektrofotometer merah infra (IR) Shimadzu, *scanning electron microscopy* (SEM), mikropipet, pH meter, *hot plate* serta peralatan pendukung lain.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Sintesis MIP

Polimer dengan cetakan molekul dibuat dengan cara mencampurkan larutan monomer, *cross linker* (dalam pelarut kloroform), dan *template*. Pada penelitian ini digunakan monomer MAA, *cross linker* EGDMA, dan sebagai *template* adalah asam urat (UA). Ketiga bahan tersebut dicampur dengan komposisi (mol MAA: mol EGDMA: mol UA) adalah 1:3:1. Campuran monomer dan *cross linker* dengan perbandingan tertentu dimasukkan gelas piala, ditambah inisiator AIBN dan pelarut kloroform. Campuran dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 50°C sampai terbentuk endapan/padatan. Padatan polimer yang terbentuk dikeringkan di udara terbuka, kemudian digerus dalam mortar dan dilakukan ekstraksi terhadap *template* (asam urat). Asam urat diekstraksi dari polimer dengan cara mencuci berulang-ulang dengan 1 M amonium asetat dalam pelarut etanol:asam asetat:air = 40:25:35, kemudian diikuti dengan pencucian menggunakan asam asetat:etanol=1:3 dan yang terakhir dengan metanol (Moral dan Mayes, 2004).

2.3.2. Karakterisasi MIP

Dilakukan karakterisasi terhadap polimer yang dihasilkan dengan spektrofotometer merah infra (IR) untuk melihat gugus fungsi, sedangkan untuk mengetahui pori polimer dilakukan analisis dengan *scanning electron microscopy* (SEM).

2.3.3. Aplikasi MIP untuk modifikasi elektroda HMDE

MIP yang telah dibuat digunakan untuk memodifikasi HMDE melalui proses *electro-coating*. Polimer (MIP) dilarutkan dalam pelarut DMF, kemudian dimasukkan dalam

sel elektrokimia, dan dilakukan pelapisan polimer pada HMDE secara elektro-*coating* selama 120 detik pada potensial pelapisan yang divariasi dari +0,4 mV sampai dengan -1,4 V dengan rentang 100 mV menggunakan elektroda pembanding Ag/AgCl. Untuk mengetahui hasil yang optimum, elektroda diaplikasikan untuk analisis asam urat dengan konsentrasi tertentu dan pH tertentu dengan kondisi analisis berupa waktu deposisi 120 detik dengan laju pindai selama stripping 10 mV/dt.

2.3.4. Uji sensitivitas sensor HMDE-MIP

Dibuat sederetan larutan standar asam urat dengan konsentrasi 0,2 ; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 ppb dengan pH 5. Masing-masing larutan dianalisis secara voltametri lucutan menggunakan elektroda modifikasi HMD-MIP. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva antara konsentrasi asam urat dan besarnya arus yang teramati untuk masing-masing konsentrasi asam urat yang dianalisis. Slope dari kurva tersebut digunakan untuk menentukan sensitivitas sensor.

2.3.5. Uji selektivitas sensor HMDE-MIP

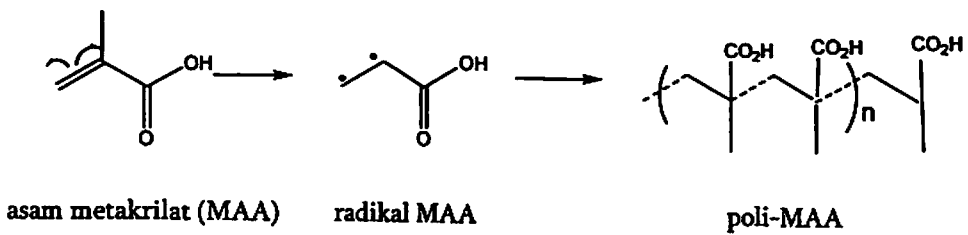
Uji terhadap selektivitas sensor dilakukan melalui penambahan asam askorbat yang biasanya terdapat bersama-sama asam urat dalam sampel serum dan urin. Ke dalam larutan asam urat, ditambahkan larutan asam askorbat dengan perbandingan konsentrasi asam urat dan asam askorbat bervariasi. Kemudian respon arus yang diperoleh dibandingkan dengan respon hasil analisis asam urat tanpa penambahan asam askorbat.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

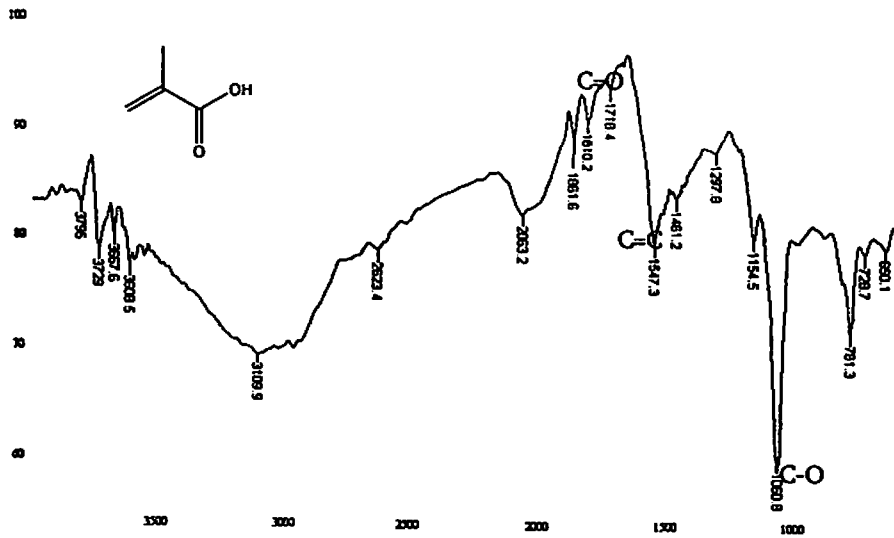
3.1. Sintesis dan karakterisasi MIP

Upaya peningkatan selektivitas elektroda HMDE dilakukan dengan memodifikasi elektroda HMDE melalui pelapisan dengan polimer *terimprint* molekul analit (HMDE-MIP). Polimer dibuat dengan cara mereaksikan asam metakrilat (MAA) sebagai monomer, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) sebagai *cross linker*, dan asam urat sebagai *template* dengan dengan perbandingan mol 1:3:1. Reaksi pembentukan polimer tersebut merupakan reaksi radikal. Pada penelitian ini, untuk membantu pembentukan radikal ditambahkan suatu inisiator reaksi radikal berupa senyawa 2,2' azobis isobutironitril (AIBN). Reaksi dilakukan pada pelarut kloroform. Campuran monomer, *cross linker*, inisiator dan *template* dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 50°C sampai terbentuk polimer poli-asam metakrilat (poli-MAA). Inisiator AIBN merupakan inisiator pereaksi radikal yang sangat reaktif oleh adanya pemanasan, bahkan dengan konsentrasi yang sedikit berlebih dapat menyebabkan letupan yang keras.

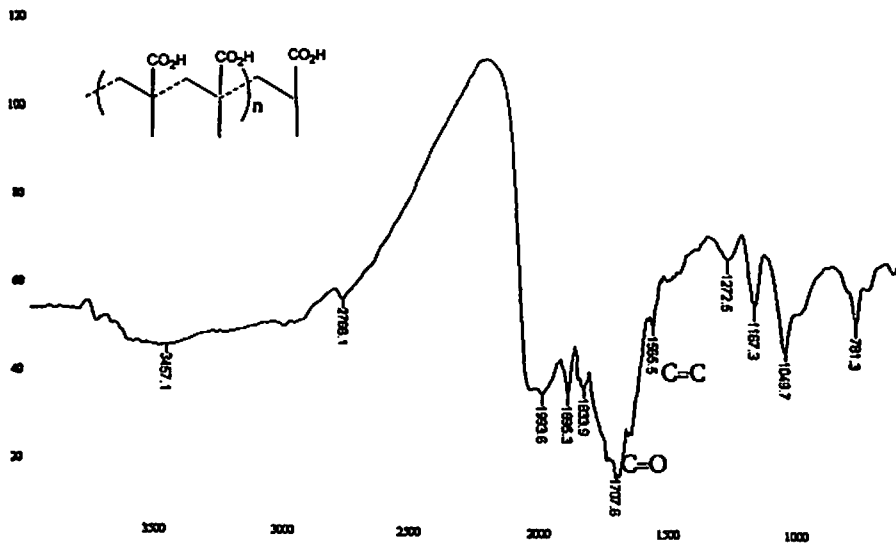
Polimer yang terbentuk berupa padatan berwarna putih kemerahan. Reaksi pembentukan poli-asam metakrilat dapat dituliskan sebagai berikut.



Polimer yang telah disintesis tersebut dikarakterisasi secara spektrofotometri infra merah (IR) untuk melihat gugus fungsi. Spektra asam metakrilat (MAA) dan poli-MAA berturut-turut ditampilkan pada Gambar 1 dan 2.



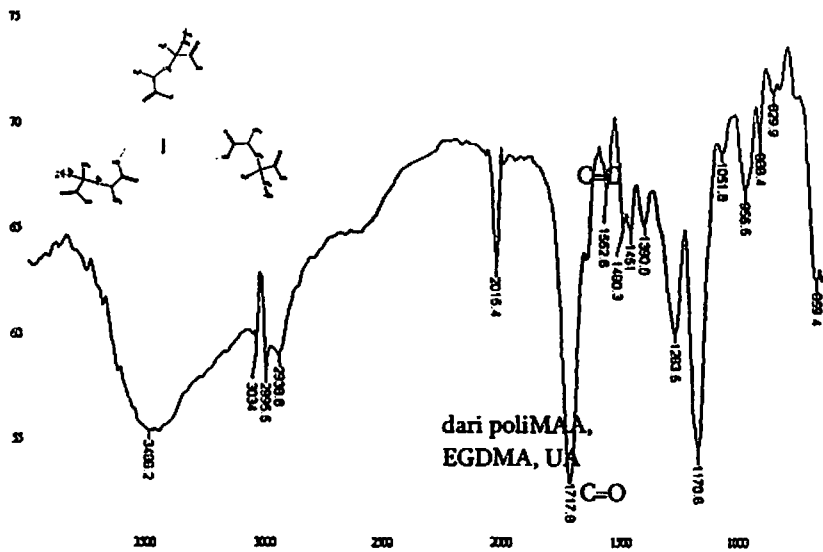
Gambar 1. Spektra IR dari asam metakrilat



Gambar 2. Spektra IR dari poli-asam metakrilat

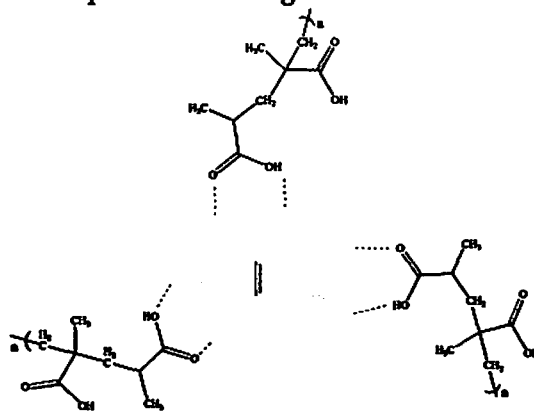
Dari hasil analisis tersebut diperoleh data bahwa polimer poli-MAA telah terbentuk, terbukti dengan hampir hilangnya intensitas puncak spektra IR pada bilangan gelombang $\sim 1540 \text{ nm}^{-1}$ (ikatan C=C dari asam metakrilat) dan bertambahnya intensitas puncak C=O ($\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$) pada spektra poli-asam metakrilat dengan *cross linker* EGDMA.

Ekstraksi asam urat dari rantai/jaringan MIP juga telah berhasil dilakukan. Spektra IR dari polimer dengan adanya asam urat (sebelum diekstraksi) dan polimer yang telah diekstraksi asam uratnya (MIP) disajikan pada Gambar 3 dan 4. Intensitas puncak pada bilangan gelombang $\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$ sangat tinggi. Hal ini menunjukkan banyaknya jumlah gugus fungsi C=O karbonil. Gugus fungsi tersebut berasal dari asam metakrilat, EGDMA dan asam urat.

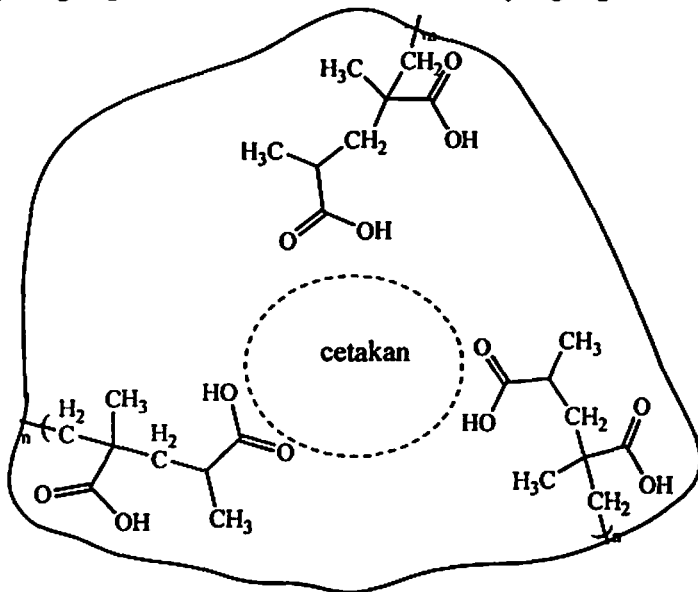


Gambar 3. Spektra IR dari polimer yang terbuat dari asam metakrilat, EGDMA dan asam urat (sebelum diekstraksi)

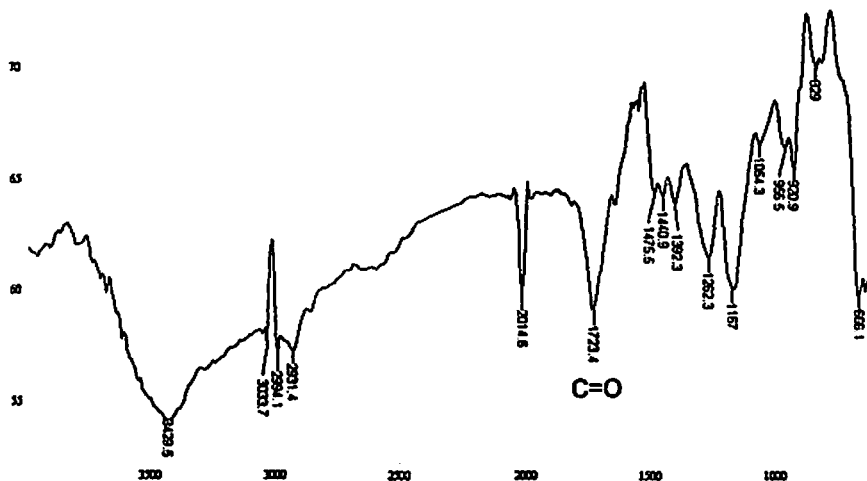
Ikatan yang terbentuk antara asam urat dan poli-MAA merupakan ikatan hidrogen. Ikatan tersebut diperkirakan sebagai berikut.



Setelah asam urat diekstraksi dari jaringan polimer, terjadi penurunan intensitas puncak pada bilangan gelombang $\sim 1700 \text{ nm}^{-1}$ (pengurangan jumlah gugus C=O karbonil). Hal ini menunjukkan bahwa molekul asam urat telah lepas dari jaringan polimer dan terbentuk cetakan yang digambarkan sebagai berikut.



Namun tidak diketahui apakah semua asam urat telah terekstraksi kembali ke dalam larutan pengestrak karena tidak dilakukan analisis kuantitatif terhadap jumlah asam urat yang dapat terekstraksi dari MIP.

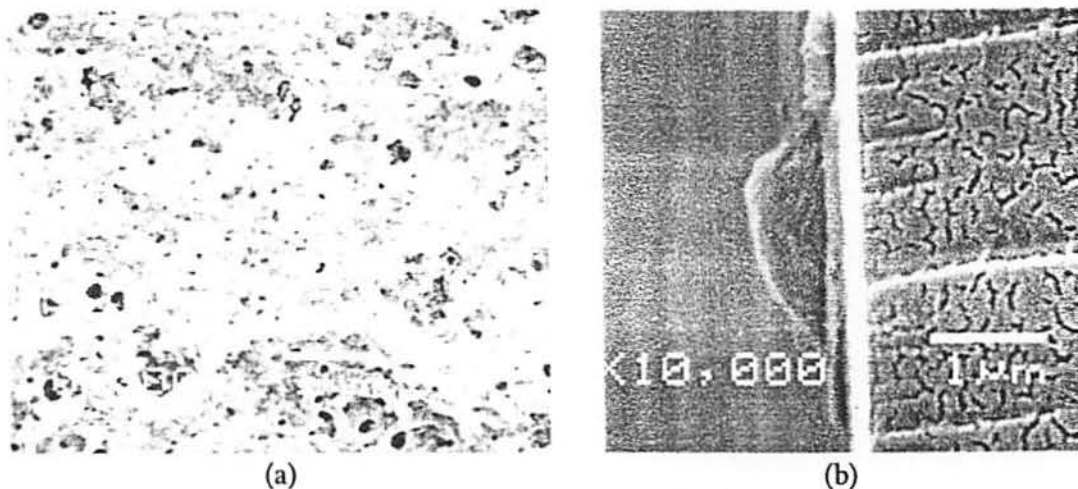


Gambar 4. Spektra IR dari polimer yang terbentuk dari asam metakrilat dan EGDMA (asam urat telah diekstraksi dari jaringan)

Untuk melihat apakah polimer yang terbentuk mempunyai pori yang cukup kecil dan homogen maka dilakukan analisis terhadap permukaan polimer menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM). Juga dilakukan analisis penampang

lintang polimer untuk melihat apakah pori-pori yang terbentuk bersifat simetrik atau asimetrik. Hasil analisis menggunakan SEM ditampilkan pada Gambar 5.

Dari hasil analisis permukaan lapisan polimer menggunakan SEM dapat disimpulkan bahwa pori polimer yang terbentuk cukup kecil (kurang dari $1\ \mu\text{m}$) dan homogen, sedangkan hasil analisis penampang lintang sulit dilakukan karena polimer bersifat keras dan kaku sehingga tidak dapat dipotong/disobek (b).



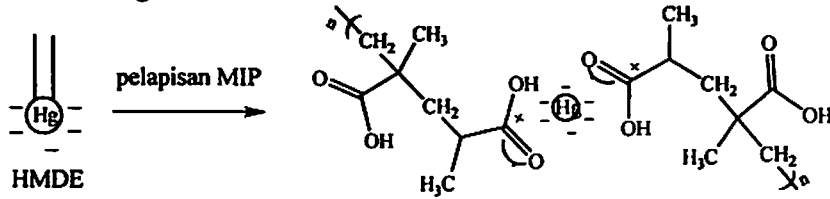
Gambar 5. Hasil analisis SEM terhadap (a) permukaan dan (b) penampang lintang MIP

3.2. Aplikasi MIP untuk modifikasi elektroda HMDE

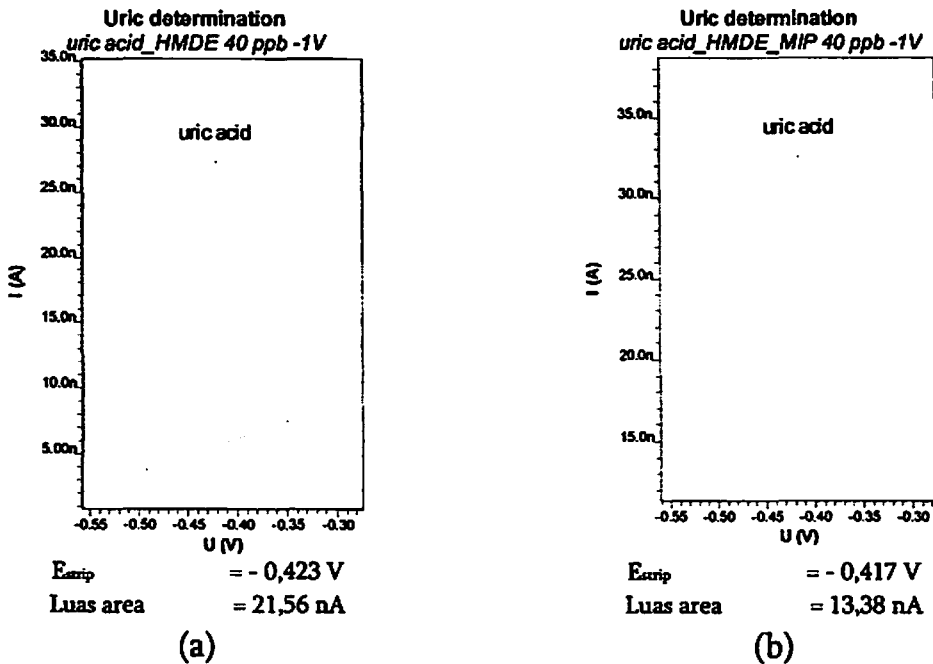
MIP yang telah disintesis dan dikarakterisasi dilarutkan dalam pelarut dimetil formamida kemudian dilapiskan pada elektroda HMDE secara *electro-coating* menggunakan potensial bervariasi dari $+0,4\ \text{V}$ – ($-1,4\ \text{V}$). Elektroda modifikasi yang terbentuk dikeringkan dengan cara mengangkat elektroda dari sel elektrokimia dan dialiri gas N_2 selama 2 menit di udara terbuka. Elektroda modifikasi yang terbentuk digunakan untuk analisis larutan standar asam urat menggunakan metode *stripping* voltametri. Voltammogram yang terbentuk dibandingkan dengan voltammogram asam urat konsentrasi yang sama dari hasil analisis secara *stripping* voltametri menggunakan elektroda HMDE.

Pada potensial penempelan bernilai positif, tidak diperoleh voltammogram asam urat, sedangkan voltammogram baru muncul pada saat digunakan potensial penempelan bernilai negatif. Pada potensial negatif, diperoleh peak potensial dengan luas area yang semakin bertambah dengan semakin negatifnya potensial pelapisan, namun pada potensial yang lebih kecil dari $-1,2\ \text{V}$ terjadi pembesaran ukuran tetes merkuri, sehingga bertambah besarnya respon arus disebabkan oleh semakin banyaknya asam urat yang terakumulasi akibat dari semakin luasnya permukaan elektroda. Potensial optimum yang diperoleh adalah $-1\ \text{V}$. Optimasi potensial akumulasi asam urat pada elektroda dilakukan bersamaan dengan optimasi potensial pelapisan MIP pada HMDE.

Reaksi pelapisan polimer ke permukaan elektroda pada potensial negatif diperkirakan sebagai berikut.



Relatif tidak terjadi pergeseran potensial puncak voltammogram asam urat yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMDE-MIP jika dibandingkan dengan hasil analisis menggunakan elektroda HMDE. Namun voltammogram yang diperoleh dari analisis menggunakan HMDE-MIP mempunyai *baseline* yang tidak horisontal (berbentuk miring). Contoh voltammogram hasil aplikasi elektroda HMDE dan HMDE-MIP untuk analisis asam urat ditampilkan pada Gambar 6.

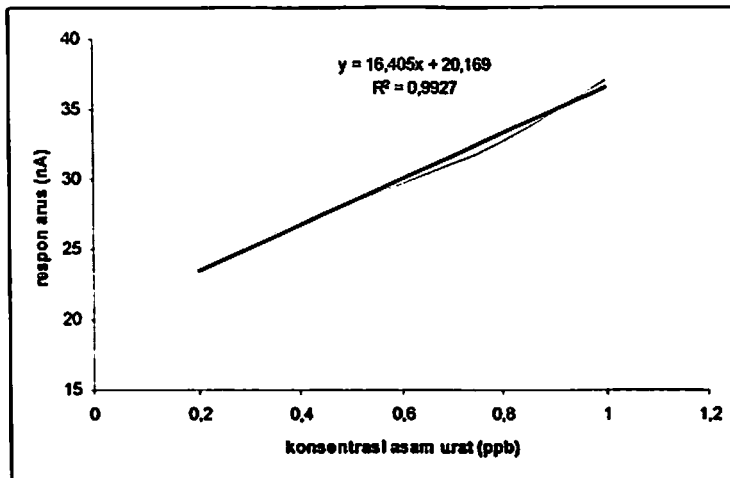


Gambar 6. Voltammogram hasil analisis asam urat 40 ppb menggunakan (a) HMDE dan (b) HMDE-MIP

Dari hasil optimasi dan analisis tersebut menunjukkan bahwa sinyal arus (luas area voltammogram) asam urat hasil analisis menggunakan HMDE-MIP lebih kecil jika dibandingkan dengan menggunakan elektroda HMDE. Kemungkinan penyebabnya adalah dengan adanya polimer yang menempel pada permukaan elektroda, menyebabkan luas permukaan elektroda merkuri berkurang. Untuk melihat sensitivitas sensor dilakukan aplikasi sensor tersebut untuk analisis sederetan larutan standar asam urat.

3.3. Uji sensitivitas sensor HMDE-MIP

Untuk melihat sensitivitas sensor, dilakukan analisis larutan standar asam urat konsentrasi 0,2 ppb – 1,0 ppb menggunakan elektroda modifikasi HMDE-cetakan molekul (HMDE-MIP) dan dibuat kurva kalibrasinya. Hasil yang diperoleh ditampilkan pada gambar 7.



Gambar 7. Kurva baku asam urat

Linieritas respon arus sangat bagus yang dinyatakan dengan persamaan regresi $Y = 16,45 x + 20,169$ dengan harga koefisien korelasi (r) sebesar 0,9963. Sensitivitas dinyatakan sebagai slope kurva kalibrasi sebesar 16,405 nA/ppb, yang berarti dengan perubahan konsentrasi 1 ppb menyebabkan perubahan arus sebesar 16,405 nA.

3.4. Uji selektivitas sensor HMDE-MIP

Analisis asam urat secara voltammetri menggunakan elektroda HMDE sangat diganggu oleh asam askorbat. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat, menyebabkan penurunan respon arus sebesar 24,96% (Khasanah dkk, 2009). Untuk mengetahui selektivitas sensor yang terbuat dari modifikasi HMDE dengan MIP terhadap asam urat, maka dipelajari adanya interferensi yang disebabkan oleh adanya matriks yang biasanya terdapat bersama-sama dalam sampel serum. Pada penelitian ini dilakukan penambahan asam askorbat ke dalam larutan asam urat dengan berbagai perbandingan konsentrasi (mol) kemudian dilakukan analisis secara voltammetri menggunakan elektroda modifikasi HMDE-MIP. Hasil uji pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Data hasil uji interferensi asam askorbat (AA) pada analisis asam urat (UA) menggunakan elektroda HMDE=MIP

No	Kons UA (M)	Kons AA (M)	[UA] : [AA]	respon arus (nA)	Penyimpangan (%)
1	6×10^{-7}	0		37,20	
2	6×10^{-7}	6×10^{-7}	1:1	37,23	0,08
3	6×10^{-7}	6×10^{-6}	1:10	37,16	0,11
4	6×10^{-7}	2×10^{-4}	1:333	34,78	6,50
5	6×10^{-7}	4×10^{-4}	1:667	29,21	21,47

Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,5 %. Hal ini menunjukkan bahwa dengan sistem cetakan (*imprinting*) ini, selektivitas elektroda terhadap molekul asam urat menjadi jauh lebih tinggi dibandingkan jika menggunakan elektroda HMDE tanpa modifikasi (Khasanah dkk, 2009). Cetakan yang terbentuk pada elektroda HMDE-MIP hanya sesuai dengan analit yang dianalisis, sehingga keberadaan asam urat dengan konsentrasi berlebih pun relatif tidak mempengaruhi analisis asam urat.

IV. KESIMPULAN

Polimetakrilat terikat silang etilen glikol dimetakrilat dengan cetakan molekul asam urat (MIP) yang disintesis dengan perbandingan monomer, *cross linker* dan template = 1:3:1 telah terbentuk ditunjukkan oleh perubahan intensitas puncak spektra IR pada bilangan gelombang $\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$ (C=C) dan $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ (C=O). Dari analisis dengan SEM diperoleh bahwa rongga polimer poliMAA-co EGDMA yang terbentuk cukup kecil ($\sim 0,1 \mu\text{m}$) dan homogen. Modifikasi elektroda dengan MIP yang telah dibuat menghasilkan sensor yang sensitif dan selektif terhadap asam urat. Nilai sensitivitas yang diperoleh sebesar 16,405 nA/ppb. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi 333 kali konsentrasi asam urat hanya menurunkan respon arus sebesar 6,50%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan dana penelitian melalui Program Hibah Kompetisi dan Riset Strategis Nasional tahun 2009, serta atas segala fasilitas yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cai, X., Kalcher, K., Neuhold, C and Ogorevc, G., 1994, An improvement voltammetric methods for the determination of trace amounts of uric acid with electrochemically pretreated carbon paste electrode, *Talanta*, vol 41 no. 3: 407-413
- Carsol, M-A, Volpe, G and Mascini, M, 1997, Amperometric detection of uric acid and hypoxanthine with xanthine oxidase immobilized and carbon paste screen-

- printed electrode. Application for fish freshness determination, *Talanta*, 44:2151-2159
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Handajani, U.S., Fitriana, M., Asmaningrum, W., 2007, Analysis of uric acid in urine and serum with voltammetry stripping using hanging mercury drop electrode, *Prosiding*, International Conference and Workshop on Basic and Applied Sciences, Universitas Airlangga, Surabaya
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Wafiroh, S., Mudasir, Kuncaka, A., and Sugiharto, E., 2009, The Influence of Ascorbic Acid on Uric Acid Determination in Serum and Urine with Stripping Voltammetry using Hanging Mercury Drop Electrode, *Prosiding The 2nd International Seminar ICOWOBAS-RAFSS*, Universiti Teknologi Malaysia, Johor, Malaysia.
- Lin, X and Li, Y, 2006, Monolayer covalent modification of 5-hydroxytryptophan on glassy carbon electrode for simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid, *Electrochimica Acta*, 51, 5794-5801.
- Luo, JW., Zhang, m and Pang, DW, 2005, Selective and sensitive determination of uric acid at DNA-modified graphite powder microelectrodes, *Sensor and Actuators B*, 106: 358-362
- Matos, RC., Augelli, MA., Lago, C.L., and Angnes L, 2000, Flow injection analysis- amperometric determination of ascorbic and uric acids in urine using arrays of gold microelectrodes modified by electrodeposition of palladium, *Anal. Chim. Acta*, 404: 151-157
- Moral, N.P. and Mayes, A.G., 2004, Comparative study of imprinted polymer particles prepared by different polymerisation methods, *Anal. Chim. Acta* 504:15-21
- Prasad, B.B., Sharma, P.S., and Lakshmi, D., 2007, Molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction combined with molecularly imprinted polymer-based sensor for detection of uric acid, *Journal of Chromatography A*, 1173: 18-26
- Qin Lin, X dan Ping Jin, G, 2005, Monolayer modification on glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid, *Electrochimica Acta*, 50: 3210 - 3216.
- Strochkova, E.M., Tur'yan, Ya.I., Kuselman, I., and Shenhar, A., 1997, Simultaneous voltammetric determination of uric and ascorbic acid in urine, *Talanta*, 44, 1923-1928
- Wei, Y., Li, M., Jiao, S., Huang, Q, Wang, G dan fang, B., 2006, Fabrication of CeO nanoparticles modified glassy carbon electrode and its application for electrochemical determination of UA and AA simultaneously, *Electrochimica Acta*, 52, 766-772
- Zare, H.R., Memarzadeh, F, Ardakani, M.M, Namazian, M and Golabi, S.M, 2005, Norepinephrine-modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of ascorbic acid and uric acid, *Electrochimica Acta*, 50: 3495-3502.
- Zen, J.M., and Hsu, C.T., 1998, A selective voltammetric method for uric acid detection at Nafion-coated carbon paste electrode, *Talanta* 46: 1363

Lampiran 6

Abstrak makalah disampaikan pada seminar
dalam rangka Dies Natalis ke-54
FMIPA UGM tahun 2009

Modifikasi Elektroda *Hanging Mercury Drop* dengan Cetakan Molekul untuk Analisis Asam Urat secara Voltammetri Lucutan

Miratul Khasanah¹, Ganden S¹, Siti Wafiroh¹,

Mudasir², Agus Kuncaka², Eko Sugiharto²

1)Departemen Kimia FST Universitas Airlangga

2) Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Asam urat di dalam tubuh merupakan hasil akhir metabolisme purin. Tingginya konsentrasi asam urat dalam tubuh dapat mengindikasikan adanya gejala beberapa penyakit seperti diabetes, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Analisis asam urat dalam darah dan urin menggunakan metoda voltammetri menjadi kajian yang sangat menarik karena senyawa tersebut dalam sampel seringkali berada bersama-sama dengan asam askorbat (vitamin C) yang mempunyai potensial berdekatan sehingga puncak voltammogram keduanya tumpangtuh.

Pada penelitian ini dilakukan modifikasi HMDE dengan MIP (*molecularly imprinted polymer*) untuk analisis asam urat secara *voltammetry*. MIP dibuat dari monomer asam metakrilat (MAA), *cross linker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), dan inisiator 2,2'-azobis isobutironitril (AIBN). Dengan sistem imprinting, akan dibentuk cetakan yang spesifik untuk analit tertentu sehingga analisis terhadap analit tidak diganggu oleh adanya matriks lain karena cetakan hanya akan sesuai untuk spesi yang dianalisis. Karakterisasi terhadap polimer yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dan *scanning electron microscopy* (SEM). Variabel penelitian yang dipelajari meliputi komposisi polimer, kondisi elektrocoating MIP dan prekonsentrasi asam urat. Elektroda modifikasi HMDE-MIP digunakan untuk analisis larutan asam urat dan dibandingkan hasilnya dengan elektroda HMDE dan elektroda HMDE-*non imprinted polymer* (NIP). Dilakukan uji validitas metoda meliputi batas deteksi, sensitivitas, reproduisibilitas, dan *recovery*, sedangkan selektivitas elektroda dipelajari melalui penambahan asam askorbat pada larutan asam urat.

Hasil sementara yang sudah dicapai berupa MIP yang disintesis dengan perbandingan mol monomer : *cross linker* : template : inisiator = 1:1:1:0,01. Dari hasil analisis menggunakan spektrofotometri IR diperoleh data bahwa polimer poli-MAA maupun MIP telah terbentuk. Terjadi pergeseran peak potensial asam urat yang diperoleh dari analisis menggunakan elektroda HMDE dan HMDE-termodifikasi MIP. Dari hasil analisis secara *cyclic voltammetry* menunjukkan bahwa reaksi asam urat pada elektroda HMDE tidak reversibel.

Kata kunci : asam urat - modifikasi elektroda - *hanging mercury drop* - *molecularly imprinted polymer*

Lampiran 7.

Dukungan sarana penelitian
dan
personalia peneliti

LAMPIRAN 7. DUKUNGAN SARANA PENELITIAN DAN PERSONALIA

I. DUKUNGAN SARANA PENELITIAN

Dukungan berupa pembiayaan dari sumber dana lain tidak ada sedangkan dukungan sarana laboratorium dan instrumentasi diuraikan sebagai berikut

A. LABORATORIUM

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Sampel urin dan serum diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya.

Untuk perbandingan hasil, dilakukan uji klinis terhadap kadar asam urat dalam sampel urin dan serum di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya. Karakterisasi terhadap polimer menggunakan spektrofotometer merah infra (IR) dilakukan di laboratorium Jurusan Kimia FMIPA ITS sedangkan analisis dengan SEM dilakukan di Laboratorium Geologi Kuartener PPGL Bandung.

B. PERALATAN

Peralatan utama berupa voltammeter siklis dan peralatan penunjang lainnya telah tersedia di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Penggunaan peralatan diatur bergantian dengan mahasiswa peserta praktikum Spektrometri dan Elektrometri (semester genap), peserta praktikum Kimia Analisis Terapan (semester gasal) serta mahasiswa skripsi di lingkungan Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

II. DAFTAR PERSONALIA DAN URAIAN TUGAS

a. Daftar Personalia Peneliti/Analisis/Laboran

No	Nama	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi waktu Jam/minggu
1	Dra. Miratul Khasanah, M.Si.	Kimia Analisis dan Instrumentasi	Dept. Kimia FST Unair	10
2	Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc	Teknik preparasi sampel	Dept Kimia FST Unair	10
3	Siti Wafiroh, S.Si., M.Si	Kimia Polimer	Dept Kimia FST Unair	10
4	Roch Adi Prasetya	Analisis kimia	Lab Kimia FST Unair	10
5	Wagiman	Laboran	Lab Kimia FST Unair	10

b. Uraian tugas personalia

No	Nama	Jabatan dalam tim	Rincian Tugas
1	Dra. Miratul Khasanah, M.Si.	Ketua	Pembuatan sensor (Modifikasi elektroda), analisis sampel, interpretasi data
2	Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc	Anggota	Preparasi sampel, analisis sampel
3	Siti Wafiroh, S.Si., M.Si.	Anggota	Pembuatan dan karakterisasi polimer
4	Roch Adi Prasetya	Analisis	Memperiapkan bahan kimia dan pelarut
5	Wagiman	Laboran	Memperiapkan alat-alat gelas

