

Laporan Hasil Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012



Judul:

**Sensor Berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi
Sensitif dan Selektif Asam Urat dalam Serum**

Tim Peneliti:

Ketua : Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
Anggota : 1. Dr. Muji Harsini, M.Si.
2. Alfa Akustia Widati, S.Si., M.Si.

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan
Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi
Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

**Universitas Airlangga
2012**

Laporan Hasil Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012



Judul:
**Sensor Berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi
Sensitif dan Selektif Asam Urat dalam Serum**

Tim Peneliti:

Ketua : Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
Anggota : 1. Dr. Muji Harsini, M.Si.
 2. Alfa Akustia Widati, S.Si., M.Si.

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan
Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi
Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

**Universitas Airlangga
2012**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul : Sensor Berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi Sensitif dan Selektif Asam Urat dalam Serum
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. NIP : 196703041992032001
- d. Pangkat/golongan : Pembina/IV-a
- e. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- f. Bidang Keahlian : Kimia Analitik/Elektroanalisis
- g. Fakultas/Departemen : FST/Kimia
- h. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Tim Peneliti

No	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/ DEPARTEMEN	PERGURUAN TINGGI
1	Dr. Muji Harsini, M.Si.	Kimia Analitik/ Elektroanalisis	FST/Kimia	Universitas Airlangga
2	Alfa Akustia Widati, S.Si., M.Si.	Kimia Anorganik/ Material	FST/Kimia	Universitas Airlangga

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 2 (dua) tahun
- b. Biaya yang diusulkan : Rp. 154.330.000,-
- c. Biaya yang disetujui tahun ini : Rp. 60.000.000,-

Surabaya, 30 OCT 2012
Ketua Peneliti

Mengetahui
Dekan FST Unair

Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D.
NIP. 196106161987011001

Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
NIP. 196703041992032001

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat



Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si.
NIP. 195908051987011001

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Sensor Berbasis Imprinting Zink untuk Deteksi
: Sensitivitas Selektif Asam Urat dalam Serum

Penulis Penelitian : Nama Lengkap : Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
: Pekerjaan : Dosen
: NIP : 19670304199202001
: Pangkat/Golongan : Pendidikan IV-a
: Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
: Bidang Keahlian : Kimia Analitik/Elektroanalisis
: Fakultas/Departemen : EST/Kimia
: Universitas : Universitas Airlangga

di Kota

No	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	DEPARTEMEN	PERGURUAN TINGGI
1	Dr. Miratul Khasanah, M.Si.	Kimia Analitik / Elektroanalisis	EST/Kimia	Airlangga
2	Miratul Khasanah, M.Si.	Kimia Analitik / Elektroanalisis	EST/Kimia	Airlangga

1. Ditentukan dan jangka waktu penelitian

: jangka waktu penelitian yang disetujui

: 2 (dua) bulan

Biaya yang dituliskan

: Rp. 124.330.000,-

Biaya yang diperoleh tahun ini

: Rp. 60.000.000,-

Sembaca
Korosi Penelitian

Dr. Miratul Khasanah, M.Si.

Dr. Miratul Khasanah, M.Si.
NIP. 19670304199202001

Dr. Miratul Khasanah, M.Si. (P.I.)
NIP. 19670304199202001

Korosi Penelitian dan Penelitian Keperawatan
Majalah

Dr. Miratul Khasanah, M.Si. (P.I.)
NIP. 19670304199202001

RINGKASAN

Asam urat merupakan produk 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, serta dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskuler (Chen *et al.*, 2005). Metode penentuan kadar asam urat yang selama ini digunakan dalam bidang biomedis adalah secara spektrofotometri. Analisis asam urat menggunakan metode ini memerlukan jumlah sampel yang relatif banyak (2-3 mL), memiliki sensitivitas rendah serta batas deteksi yang tinggi (level mM).

Metode voltametri telah digunakan untuk penentuan konsentrasi dan sifat-sifat redoks suatu senyawa di dalam cairan tubuh, seperti asam urat. Metode analisis asam urat secara voltametri telah banyak dikembangkan melalui pengembangan sensor dengan tujuan khusus menurunkan batas deteksi, meningkatkan sensitivitas dan meningkatkan selektivitas analisis karena keberadaan asam urat dalam sampel serum bersama-sama dengan senyawa lain yang strukturnya mirip dengan asam urat sehingga dapat mengganggu analisis asam urat (Khasanah *et al.*, 2007; 2010^{a,b})

Pada penelitian ini digunakan zeolit sintesis sebagai bahan alternatif untuk memodifikasi elektroda agar diperoleh sensor yang selektif untuk mendeteksi asam urat secara voltametri. Kesesuaian ukuran pori zeolit dengan ukuran molekul asam urat akan mampu meningkatkan kapasitas adsorpsi zeolit sehingga dapat meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi molekul asam urat. Bentuknya yang *rigid* membuat zeolit tidak mudah mengalami *swelling* dalam air sehingga dapat mempertahankan bentuk dan ukuran porinya (selektif) (Gourishkina *et al.*, 2010). Pada penelitian ini dilakukan sintesis *imprinting* zeolit (IZ) dari campuran TEOS, TBOT dan TPAH dengan *template* asam urat. Pembuatan sensor dilakukan melalui pelapisan IZ pada elektroda GC dengan potensial dan waktu optimum. Selanjutnya dilakukan uji kinerja sensor, uji validitas, dan waktu hidup sensor.

Jenis zeolit yang digunakan dalam penelitian ini adalah titanium silikalit-1 (TS-1). TS-1 terdiri dari rangkaian Si-O-Ti yang tersusun secara tetrahedral dimana Ti mensubstitusi sebagian silikon dalam kerangka. Asam urat digunakan sebagai pengarah ukuran pori TS-1. Penjebakan asam urat pada saat sintesis zeolit menghasilkan NIZ. Sejumlah asam urat sebagai *template* ditambahkan ke dalam campuran sehingga diperoleh rasio molar asam urat/Si = $2,98 \times 10^{-4}$. Tahapan berikutnya adalah pendiaman

campuran selama 3 jam. Proses ini bertujuan untuk memasukkan *template* asam urat ke dalam kerangka TS-1. NIZ yang dihasilkan dari penelitian ini berupa padatan putih. *Imprinted zeolit (IZ)* merupakan NIZ yang asam uratnya telah terekstraksi. Asam urat diekstraksi menggunakan air panas yang selanjutnya dipisahkan antara endapan dan filtratnya dengan cara sentrifugasi sampai asam urat dapat terekstrak dengan sempurna. IZ yang dihasilkan pada penelitian ini berupa padatan putih. Untuk mendapatkan padatan IZ kering, maka padatan IZ dipanaskan dalam oven pada temperatur 80° C. Pada kondisi ini diharapkan pori-pori zeolit sudah tercetak sesuai dengan ukuran molekul asam urat.

Karakterisasi menggunakan XRD memberikan informasi mengenai identifikasi struktur zeolit. Berdasar difraktogram diperoleh data bahwa keseluruhan puncak difraksi zeolit hasil sintesis muncul pada 2θ 7,96; 8,85; 23,2; 23,9; dan 24,4°. Puncak-puncak tersebut sesuai dengan puncak karakteristik MFI yang merupakan kerangka khas TS-1 (Treacy *et al.*, 2001). Pada 2θ sekitar 24,4° tidak terdapat puncak refleksi ganda, melainkan terdapat puncak refleksi tunggal. Ini menunjukkan bahwa telah terjadi perubahan struktur material dari monoklin (silikalit) menjadi ortorombik (TS-1) (Mondal dan Deka, 2007).

Karakterisasi zeolit menggunakan spektroskopi FTIR menunjukkan puncak spectra pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , dan 1050 cm^{-1} yang merupakan puncak khas dari zeolit. Puncak pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur simetrik Si-O-Si, bilangan gelombang 970 cm^{-1} mengindikasikan adanya titanium (Si-O-Ti) dalam kerangka zeolit, dan bilangan gelombang 1050 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur asimetrik Si-O-Si (Bosman, 1995). Pada spektra NIZ tampak puncak pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , dan 1050 cm^{-1} merupakan puncak dari zeolit; dan bilangan gelombang 840 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , dan 3450 cm^{-1} merupakan puncak dari senyawa asam urat. Pada spektra IZ, terjadi pengurangan intensitas pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} yang merupakan puncak khas gugus karbonil yang berasal dari asam urat. Dengan demikian dapat disimpulkan asam urat telah terekstraksi dari kerangka zeolit, meskipun belum keseluruhan asam urat terlepas dari kerangka zeolit tersebut. Hasil karakterisasi menggunakan adsorpsi-desorpsi N₂ diperoleh bahwa zeolit memiliki diameter pori 3,836 nm, sedangkan IZ memiliki diameter pori 2,186 nm. Perbedaan ukuran pori menyebabkan analisis asam urat menggunakan GC-Z memberikan sinyal arus lebih rendah daripada GC-IZ.

Pada penelitian ini tidak dilakukan pelapisan zeolit pada permukaan GC sebelum digunakan untuk analisis asam urat, karena zeolit membentuk suspensi pada media yang digunakan untuk analisis asam urat yaitu air. Pelapisan IZ dilakukan secara *in situ*, yaitu IZ dimasukkan ke dalam larutan asam urat dan terdeposisi saat dilakukan deposisi asam urat. Dengan demikian elektroda pendukungnya (GC) dapat digunakan berkali-kali, namun setiap kali melakukan analisis sampel yang berbeda harus dilakukan penambahan IZ. Potensial deposisi optimum yang diperoleh dari penelitian ini adalah -0,6 V dan menghasilkan potensial puncak pada -0,376 V. Potensial deposisi asam urat bernilai lebih negatif dibandingkan potensial puncak lucutannya, dengan demikian terjadi reaksi reduksi pada saat deposisi dan saat lucutan terjadi reaksi oksidasi. Dengan demikian teknik analisis asam urat dengan sensor GC pada penelitian ini tergolong voltametri lucutan anodik. Waktu deposisi optimum asam urat pada permukaan sensor GC dan waktu pelapisan IZ adalah 150 detik.

Pada optimasi pH, voltammogram yang paling bagus diperoleh pada larutan dengan pH 7 tanpa penambahan buffer. Untuk meminimalkan arus migrasi, pada penelitian ini ditambahkan elektrolit pendukung berupa larutan KNO_3 0,02 M. Kurva hubungan antara pH larutan dan potensial puncak lucutan asam urat menghasilkan slope sebesar -59,5 mV. Hal ini menjelaskan bahwa reaksi redoks asam urat pada permukaan sensor GC-IZ melibatkan 2 elektron dan 2H^+ .

Hasil uji kinerja sensor menunjukkan bahwa analisis menggunakan sensor GC-IZ memiliki keterulangan yang bagus dibandingkan ketiga elektroda lainnya. Analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ menghasilkan arus yang rendah namun tidak serendah bila menggunakan sensor GC-Z. Hal ini dikarenakan lapisan IZ memiliki pori-pori yang telah tercetak oleh asam urat sehingga molekul asam urat dapat berdifusi melalui pori IZ menuju permukaan elektroda GC. Pada analisis asam urat ini, arus tertinggi dihasilkan dengan menggunakan sensor GC-NIZ, kemudian berturut-turut semakin kecil yaitu GC, GC-IZ dan GC-Z.

Pengukuran terhadap larutan baku asam urat 0,95-4,76 ppb menghasilkan persamaan regresi $y = 136.7x - 4.728$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9834. Dari uji-t terhadap nilai r ini diperoleh $t_{hitung} = 6,3846$, sedangkan t_{tabel} sebesar 2,920. Data t_{hitung} yang lebih besar dari pada t_{tabel} menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi larutan baku asam urat terhadap arus yang dihasilkan.

Nilai KV yang diperoleh untuk rentang konsentrasi 0,95-4,76 ppb adalah 1,891%-7,649%. Metode analisis asam urat menggunakan sensor termodifikasi pada

penelitian ini memberikan presisi yang lebih kecil dari $2/3KV_{Horwitz}$ (30% untuk konsentrasi level ppb atau 10^{-9} M) (Harnita, 2004; Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006). Dengan demikian nilai presisi hasil penelitian ini memenuhi syarat keberterimaan secara statistik. Nilai sensitivitas metode analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ yang dikembangkan ini adalah $2,0 \mu A/ppb/cm^2$ ($0,33 \mu A/nM/cm^2$). Nilai sensitivitas ini cukup bagus, namun lebih rendah jika dibandingkan menggunakan elektroda GC dan GC-cetakan molekul yang telah dikembangkan sebelumnya (Khasanah, 2012).

Batas deteksi yang dihasilkan dari penelitian ini sebesar 0,996 ppb ($5,9 \times 10^{-9}$ M). Nilai batas deteksi tersebut sekitar 10^4 kali lebih rendah jika dibandingkan menggunakan metode spektrofotometri ($1,2 \times 10^{-5}$ M). Dengan nilai batas deteksi yang rendah tersebut, maka dapat dilakukan deteksi asam urat di dalam tubuh secara dini dengan jumlah sampel yang sangat sedikit (level μL). Analisis sampel asam urat dengan metode voltametri lucutan menggunakan sensor GC-IZ memiliki akurasi sebesar 94,75% untuk konsentrasi 4,76 ppb. Nilai akurasi yang diperoleh dari penelitian ini sangat bagus dan memenuhi syarat keberterimaan (akurasi/*recovery* untuk konsentrasi ppb adalah 70-125%) (Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006).

Hasil uji selektivitas sensor pada larutan asam urat yang mengandung asam askorbat, keratin dan kreatinin dengan konsentrasi sama dengan asam urat, sensor GC-IZ yang dikembangkan ini memiliki selektivitas berturut-turut 5, 18 dan 2 kali lebih tinggi dibanding selektivitas elektroda GC. Dari hasil yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan bahwa sensor berbasis IZ yang dikembangkan ini memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, batas deteksi yang rendah, presisi, akurasi dan selektivitas yang tinggi. Waktu hidup sensor GC-IZ seperti halnya waktu hidup GC, yaitu dapat digunakan untuk analisis berkali-kali namun harus dilakukan penambahan IZ untuk setiap kali analisis.

SUMMARY

Uric acid is the end product of purine metabolism. The high concentration of uric acid in the body is symptoms of some diseases such as diabetes, high blood pressure, kidney and liver disease, and can increase risk of cardiovascular (Chen et al., 2005). Determination of uric acid level that has been used in the biomedical field is by spectrophotometry. Analysis of uric acid using this method requires a relatively large number of samples (2-3 mL), has a low sensitivity and high detection limit (mM).

Voltammetry was used to the determination of the concentration and redox properties of a compound in the body fluids, such as uric acid. Uric acid analysis voltammetrically has been developed through the development of electrode for special-purpose lowering the limit of detection, increased sensitivity and selectivity because of uric acid coexist with other compounds whose structure is similar to that of uric acid in serum samples (Khasanah *et al.*, 2007; 2010^{a, b}).

In the recent study, the zeolite is used as an alternative material to modify the electrodes in order to obtain a selective sensor for detecting uric acid. Conformity with the pore size of zeolite, molecular size of uric acid could increase the adsorption capacity of zeolite that can provide high sensitivity in uric acid determination. The form is rigid make zeolite is not prone to swelling in water so as to maintain the shape and size of the pore (selective) (Gourishkina *et al.*, 2010). Imprinting of zeolites (IZ) was synthesized by mixing of TEOS, TBOT and TPAH with uric acid. The sensor was synthesized by coating IZ on GC electrode at optimum potential and time. The performance, validity, and the lifetime of the sensor have been studied in this research.

Type of zeolite used in this study is titanium silicalite-1 (TS-1). TS-1 consists of a series of Si-O-Ti were arranged in a tetrahedral which partially substituting Ti silicon in the framework. Uric acid is used as template and as a directional pore size of TS-1. Trapping of uric acid during zeolite synthesis produces NIZ. A number of uric acid as a template is added to the mixture to obtain a molar ratio of uric acid / Si = 2.98×10^{-4} . The next stage is ageing mixture for 3 hours to trap the uric acid into the framework of TS-1 and produce non imprinted zeolite (NIZ). Uric acid was then extracted from the zeolite nframework by repeatedly washing with hot water to form imprinting zeolite (IZ) and then separated between the sediment and the filtrate by centrifugation. NIZ and IZ generated in this study are the white solids.

XRD diffractogram data showed that the overall synthesized zeolite diffraction peaks appear at 2θ of 7.96; 8.85; 23.2; 23.9, and 24.4°. These peaks correspond to the characteristic of MFI that is typical TS-1 framework (Treacy et al., 2001). At 2θ around 24.4° there is a single reflection peak. This shows that there has been change in the material structure of the monoclinic (silicalite) to orthorhombic (TS-1) (Mondal and Deka, 2007). Characterization using FTIR spectroscopy shows the peak at wavenumber 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , and 1050 cm^{-1} which is the typical peak of the zeolite. Peak at 765 cm^{-1} indicates the symmetric stretching of Si-O-Si, at 970 cm^{-1} indicate the presence of titanium (Si-O-Ti) in the zeolite framework, and the 1050 cm^{-1} indicate the presence of stretching asymmetric Si-O-Si (Bosman, 1995). The NIZ spectra appear peaks that show characteristic spectra of zeolite, and at 840 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , and 3450 cm^{-1} are the characteristic peak of uric acid. In IZ spectra, there is a reduction in the intensity of peak at 1650 cm^{-1} which is the typical peak of the carbonyl group derived from uric acid. It can be concluded that uric acid was extracted from the zeolite framework, although not overall uric acid extracted successfully. The results of N_2 adsorption-desorption characterization was found that zeolite has a pore diameter of 3.836 nm, while the IZ has a pore diameter of 2.186 nm. The difference in pore size caused uric acid analysis using GC-Z gave the lower signal current than the GC-IZ.

In this research not conducted zeolite coating on the surface of the GC before use for analysis of uric acid, because the zeolite to form a suspension in the water medium. IZ coating performed *in situ*, ie IZ incorporated into uric acid solution and deposited together with uric acid. Thus supporting electrode (GC) can be used many times, but must be added IZ for each sample analysis. The optimum deposition potential of uric acid and IZ is -0.6 V during 150 s and yield the peak potential -0.376 V. Potential deposition of uric acid was more negative than its stripping peak potential, thus the reduction reaction occurs at the time of deposition and oxidation reaction when the discharge occurs. Thus, uric acid analysis techniques with GC sensor in this study belong anodic stripping voltammetry. At pH optimization, the best voltammogram obtained in a solution with a pH 7 without buffer addition. To minimize the migration current, was added KNO_3 0.02 M as supporting electrolyte in the solution. The pH vs E_p curve shows relationship between the pH of the solution and the stripping potential produced slope of -59.5 mV. It is clear that the redox reaction of uric acid on the GC-IZ surface involves two electrons and two protons (H^+).

The sensor performance test showed that GC-IZ has good repeatability compared to the three other electrodes. Analysis of uric acid using GC-IZ sensor produces a low current, but not as low as when using GC-Z, because the IZ layer has pores that have been printed by uric acid so that uric acid molecules can diffuse through the IZ porous toward GC surface. The highest currents generated using GC-NIZ sensor, then successively smaller the GC, GC-IZ and GC-Z.

Measurement of uric acid standard solution 0.95 to 4.76 ppb generate the regression equation of $y = 136.7x - 4728$ with a correlation coefficient (r) = 0.9834. The t -test on r obtained t_{count} 6.3846 greater than the t_{table} 2.920, showed a linear relationship between the concentration of uric acid to the current. Precision (RSD) value obtained was 1.891% -7.649%. Uric acid analysis method using developed sensor in this study provide a smaller precision than $2/3\text{RSD}_{\text{Horwitz}}$ (30% to ppb level or 10^{-9} M) (Harmita, 2004; Taverniers, et al., 2004; Workman and Mark, 2006). Thus, the value of precision statistically qualified acceptance. Sensitivity of the developed method is $2.0 \mu\text{A/ppb/cm}^2$ ($0.33 \mu\text{A/nM/cm}^2$). The sensitivity value is good enough, but lower than uses GC and GC-imprinting polymer that have been developed previously (Khasanah, 2012). Detection limits resulted from this study of 0.996 ppb (5.9×10^{-9} M). The detection limit is about 10^4 times lower than using spectrophotometric method (1.2×10^{-5} M). With a low detection limit, the detection of uric acid in the body at an early stage with a very small amount of sample (mL) can be done. The accuracy of 4.76 ppb uric acid was 94.75%. The accuracy is very good and qualified acceptance (accuracy/recovery for ppb concentration is 70-125%) (Taverniers, et al., 2004; Workman and Mark, 2006).

Analysis of uric acid using the sensor on the solution containing ascorbic acid, creatine and creatinine with similar concentration to uric acid, showed the selectivity 5, 18 and 2 times higher respectively than using GC electrode. It can be concluded that the IZ-based sensor developed has high enough sensitivity, precision, accuracy, selectivity and low detection limit. GC-IZ sensor has life time as well as the GC electrode, which can be used for many times analysis, but the analysis must be added IZ for each sample analysis.

Sensor Berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi Sensitif dan Selectif Asam Urat dalam serum

Miratul Khasanah, Muji Harsini, Alfa Akustia Widati

Departemen Kimia FST Universitas Airlangga
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya, 60115, Indonesia

ABSTRAK

Pengembangan sensor sensitif dan selektif asam urat melalui pelapisan elektroda GC dengan *imprinting zeolit* (IZ) telah dilakukan. Pada penelitian ini digunakan zeolit sintesis yang digunakan sebagai material untuk membuat sensor yang sensitif terhadap asam urat. Zeolit (Z) disintesis dengan mencampurkan TEOS, TBOT, TPAOH, dan air kemudian dilakukan proses hidrotermal. Setelah zeolit terbentuk, zeolit dicetak dengan analit asam urat (*non imprinting zeolite*/NIZ). Asam urat kemudian diekstraksi dengan air panas sehingga menghasilkan zeolit yang tercetak oleh molekul asam urat (IZ). Analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan sensor GC-IZ dilakukan pada potensial -0,6 V selama 150 detik dengan penambahan KNO_3 0,02 M sebagai elektrolit pendukung. Sinyal arus tertinggi hingga terendah berturut-turut diperoleh dari analisis asam urat menggunakan sensor GC-NIZ, GC, GC-IZ, dan GC-Z. Validitas metode yang diperoleh meliputi linieritas sebesar 0,9834 (konsentrasi 0,95-4,76 ppb); presisi 1,89-7,65%; sensitivitas $2,0 \mu\text{A/nM/cm}^2$; batas deteksi 0,996 ppb ($5,9 \times 10^{-9}$ M), dan akurasi sebesar 94,75%. Selektivitas sensor yang dikembangkan ini cukup tinggi. Keberadaan asam askorbat, kreatin dan kreatinin relatif tidak mengganggu analisis asam urat. Sensor GC-IZ memiliki waktu hidup sama dengan elektroda GC.

Kata kunci : *sensor, asam urat, voltametri lucutan, zeolit, glassy carbon*

Imprinting Zeolite-based Sensor for Sensitive and Selective Detection of Uric Acid in Serum

Miratul Khasanah, Muji Harsini, Alfa Akustia Widati

***Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya, 60115, Indonesia***

ABSTRACT

Development of the selective and sensitive sensor through the GC electrode coating with imprinting zeolite (IZ) was carried out. Zeolite was synthesized by mixing TEOS, TBOT, TPAOH, and water through hydrothermal process. Zeolite (Z) was molded by uric acid to produce NIZ. Uric acid was extracted with warm water to produce IZ. The deposition of IZ is -0.6 V during 150 seconds with addition of supporting electrolyte KNO_3 0,2 M. Uric acid analysis with stripping voltammetry using glassy carbon-imprinted zeolite (GC-IZ) was done at -0.6 V during 150 s with addition of KNO_3 0.02M as supporting electrolyte. The highest current until lowest current from analysis of uric acid obtained are analysis using GC-NIZ, GC, GC-IZ, and GC-Z sensor, respectively. The method validity obtained are linearity 0.9834 (concentration 0.95-4.76 ppb), precision 1.89-7.65%, sensitivity $2.0 \mu\text{A/nM/cm}^2$, limit of detection 0.996 ppb (5.9×10^{-9} M), and accuracy 94.75%. The development sensor showed a high selectivity. Presence of ascorbic acid, creatine and creatinine with an equal concentration with uric acid did not interfere on the uric acid analysis using the developed sensor. The developed GC-IZ sensor has a lifetime as long as the GC electrode.

Key words : *sensor, uric acid, stripping voltammetry, zeolite, glassy carbon*

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga kami dapat menyelesaikan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2012 dengan baik.

Perkembangan penelitian di Universitas Airlangga dirancang sesuai dengan *academic milestones* 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 Universitas Airlangga memberikan arah penelitian dengan program-program unggulan/hibah yang dapat dijadikan kekhususan bagi Universitas Airlangga. Salah satu program unggulan/hibah Penelitian yang dimaksud adalah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi.

Penelitian yang berjudul “Sensor berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi Sensitif dan Selektif Asam Urat dalam Serum” diharapkan menghasilkan metode alternatif penentuan kadar asam urat dalam serum disamping metode spektrofotometri yang 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/jurnal internasional maupun seminar internasional.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor dan Ketua LPPM Universitas Airlangga atas kesempatan dan pendanaan yang diberikan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Dekan dan Ketua Departemen Kimia FST Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas laboratorium selama penelitian ini berlangsung.
3. Sejawat dosen dan para laboran serta analis di lingkungan Departemen Kimia FMIPA Unair yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
4. Para mahasiswa bimbingan skripsi yang telah dengan tekun membantu melaksanakan penelitian ini.

Kami berharap semoga laporan penelitian ini bermanfaat bagi pihak terkait.

Surabaya,
Tim peneliti

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pembentukan Asam Urat dalam Tubuh	4
2.2 Analisis Umum terhadap Asam Urat	4
2.3 Analisis Asam Urat secara Voltammetri	5
2.4 Interferensi pada Analisis Asam Urat secara Voltammetri	7
2.4 Modifikasi Elektroda	9
2.5 Elektroda Termodifikasi sebagai Sensor untuk Analisis Asam Urat secara Voltammetri	10
2.6 Elektroda berbasis <i>Imprinting Zeolite</i> sebagai Sensor pada Analisis Asam Urat	11
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian	13
3.2 Manfaat Penelitian	13
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
4.2 Bahan Penelitian	15
4.3 Peralatan Penelitian	15
4.4 Prosedur Penelitian	15
4.4.1 Sintesis dan karakterisasi <i>imprinting zeolite</i>	15
4.4.2 Pelapisan <i>imprinting zeolite</i> pada permukaan elektroda GC	16
4.4.3 Uji kinerja sensor <i>glassy carbon-imprinting zeolite (GC-IZ)</i> ...	16
4.4.4 Optimasi deposisi dan analisis asam urat	16
4.4.5 Pembuatan kurva baku asam urat	17
4.4.6 Uji validitas dan waktu hidup (<i>lifetime</i>) sensor	17
4.5 Diagram Alir dan Luaran Penelitian.....	19
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Pembuatan Zeolit, <i>Non Imprinting Zeolite (NIZ)</i> , dan <i>Imprinting Zeolite (IZ)</i>	20
5.2 Karakterisasi Zeolit	22

5.2.1	Karakterisasi zeolit dengan difraksi sinar x (<i>x-ray diffraction/XRD</i>)	22
5.2.2	Karakterisasi dengan <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i> ...	23
5.3	Analisis Asam Urat secara Voltametri Lucutan menggunakan Elektroda GC	26
5.4	Pelapisan <i>Imprinting Zeolit</i> pada Elektroda GC	29
5.5	Uji Kinerja Sensor GC-IZ	32
5.6	Pembuatan Kurva Baku Asam Urat	35
5.7	Uji Validitas Metode	36
5.7.1	Linieritas	37
5.7.2	Presisi (ketelitian)	37
5.7.3	Sensitivitas	37
5.7.4	Batas deteksi	38
5.7.5	Akurasi	39
5.7.6	Selektivitas	39
5.8	Uji Waktu Hidup (<i>lifetime</i>) Sensor	42
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan	43
6.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi berbagai komponen penyusun serum	8
Tabel 5.1	Bilangan gelombang spektra FTIR hasil karakterisasi zeolit, NIZ, dan IZ	25
Tabel 5.2	Data hasil optimasi potensial deposisi asam urat pada elektroda	26
Tabel 5.3	Data hasil optimasi waktu deposisi asam urat pada elektroda GC.....	28
Tabel 5.4	Data hasil optimasi pH larutan asam urat menggunakan elektroda GC ...	29
Tabel 5.5	Data hasil optimasi waktu pelapisan IZ pada elektroda GC	30
Tabel 5.6	Data hasil uji kinerja sensor GC-IZ, GC, GC-Z, dan GC-NIZ secara voltametri	32
Tabel 5.7	Hasil analisis permukaan dan pori IZ, Z dan NIZ	34
Tabel 5.8	Hasil analisis <i>BJH pore size distribution</i> NIZ	35
Tabel 5.9	Data hasil pengukuran arus larutan baku asam urat	36
Tabel 5.10	Nilai batas deteksi metode analisis asam urat menggunakan sensor berbasis GC	38
Tabel 5.11	Data penyimpangan arus asam urat akibat penambahan asam askorbat menggunakan elektroda GC	40
Tabel 5.12	Data penyimpangan arus asam urat akibat penambahan asam askorbat menggunakan sensor GC-IZ	41
Tabel 5.13	Data penambahan arus yang disebabkan oleh penambahan kreatin pada analisis asam urat menggunakan sensor GC dan GC-IZ	41
Tabel 5.12	Data penambahan arus yang disebabkan oleh penambahan kreatinin pada analisis asam urat menggunakan sensor GC dan GC-IZ	42

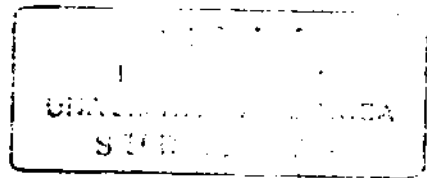
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur molekul (a) asam askorbat, (b) kreatin, dan (c) kreatinin.....	7
Gambar 2.2	Skema pembentukan <i>imprinting zeolite</i>	11
Gambar 2.3	Skema teknik preparasi ZME (PDMS : <i>polydimethylsiloxane</i> ; PS : <i>polystyrene</i> ; PEO : <i>polyethylene oxide</i>)	12
Gambar 5.1	Mekanisme kristalisasi zeolit	21
Gambar 5.2	Skema pembentukan NIZ dan IZ	22
Gambar 5.3	Difraktogram zeolit hasil sintesis	23
Gambar 5.4	Spektra FTIR zeolit, NIZ, dan IZ	24
Gambar 5.5	Voltammogram asam urat pada E_d -0,4 V (a) dan -0,6 V (b) menggunakan elektroda GC	27
Gambar 5.6	Reaksi deposisi dan lucutan asam urat pada permukaan elektroda ...	27
Gambar 5.7	Kurva hubungan antara waktu deposisi asam urat dengan arus	28
Gambar 5.8	Kurva hubungan antara pH dan potensial puncak lucutan (E_p) asam urat	29
Gambar 5.9	Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ	30
Gambar 5.10	Kurva hubungan waktu pelapisan IZ dan arus pada analisis asam urat 4,76 ppb dengan E_d -0,6 V	31
Gambar 5.11	Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan elektroda GC-IZ pada optimasi waktu (a) 90 detik dan (b) 150 detik	31
Gambar 5.12	Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor (a) GC-IZ, (b) GC, (c) GC-Z, dan (d) GC-NIZ	33
Gambar 5.13	Kurva baku asam urat	36

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Dukungan pelaksanaan penelitian dan sarana
- Lampiran 2 Daftar personalia dan uraian tugas
- Lampiran 3 Hasil karakterisasi zeolit menggunakan FTIR
- Lampiran 4 Hasil karakterisasi zeolit menggunakan XRD
- Lampiran 5 Hasil analisis dengan BET/adsorpsi-desorpsi N₂
- Lampiran 6 Draft artikel ilmiah
- Lampiran 7 Draft artikel luaran penelitian
- Lampiran 8 Sinopsis penelitian lanjutan

BAB I PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Permasalahan

Pengontrolan kadar asam urat dalam cairan tubuh merupakan hal yang sangat penting untuk dilakukan, karena jika kadar asam urat dalam tubuh melebihi ambang batas maka dapat menyebabkan nyeri di persendian, *hiperurisemia*, batu ginjal, bahkan dapat menyebabkan peningkatan resiko terkena penyakit kardiovaskuler (Chen *et al.*, 2005). Metode penentuan kadar asam urat yang selama ini digunakan dalam bidang biomedis adalah secara spektrofotometri. Analisis asam urat menggunakan metode ini memerlukan jumlah sampel yang relatif banyak (2-3 mL), membutuhkan perlakuan/preparasi sampel yang rumit, memiliki sensitivitas rendah serta batas deteksi yang tinggi (level mM).

Pada penelitian sebelumnya telah dikembangkan metode voltametri untuk analisis asam urat dalam serum dan urin menggunakan elektroda *hanging mercury drop* (HMD). Metode yang dikembangkan tersebut mempunyai sensitivitas dan *recovery* yang tinggi serta batas deteksi yang rendah (5,08 µg/L) (Khasanah *et al.*, 2007). Namun analisis asam urat dengan metode tersebut sangat diganggu oleh asam askorbat yang seringkali berada bersama-sama asam urat. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat dapat menurunkan respon hingga 25% (Khasanah *et al.*, 2009).

Pengembangan sensor HMD-polimetakrilat ter-*imprint* asam urat (HMD-MIP) untuk analisis asam urat juga sudah dilakukan. Selektivitas sensor yang diperoleh cukup tinggi, namun elektroda HMD sangat bersifat toksik dan mempunyai waktu hidup yang sangat rendah karena hanya dapat digunakan untuk satu kali analisis (Khasanah *et al.*, 2009). Penggunaan MIP sebagai material untuk memodifikasi elektroda juga memiliki kekurangan diantaranya sulit ditemukan transduser elektronik yang sesuai dan sulit diperoleh ukuran pori yang tepat sebesar molekul target (Khasanah *et al.*, 2010^b). Keberhasilan pembentukan cetakan dengan cara mengekstraksi *template* dari jaringan polimer sangat rendah (Lakshmi *et al.*, 2006). Metode ini hanya mampu mengeluarkan sebagian kecil *template* dari polimer sehingga *template* yang masih tersisa di dalam polimer dapat mengganggu proses analisis analit. Selain itu, jenis bahan polimer yang digunakan untuk MIP mempunyai harga relatif mahal. Oleh karena itu, perlu adanya bahan alternatif pencetak molekul dengan harga yang murah, mudah didapat, dan

memiliki konduktivitas yang baik terhadap instrumen yang digunakan untuk analisis analit dengan memanfaatkan kekayaan alam yang tersedia. Zeolit sebagai material alam yang tersedia melimpah di Indonesia digunakan sebagai bahan alternatif untuk memodifikasi elektroda sehingga dihasilkan sensor untuk mendeteksi asam urat secara voltametri pada penelitian ini. Sifat zeolit sebagai material berpori yang memiliki luas permukaan besar, selektivitas ukuran tertentu, kapasitas penukar ion yang tinggi, serta stabilitas termal dan kimia yang baik sesuai digunakan sebagai sensor elektrokimia sekaligus cetakan molekul (Walcarius, 1999). Kesesuaian ukuran pori zeolit dengan ukuran molekul asam urat akan mampu meningkatkan kapasitas adsorpsi zeolit sehingga dapat memberikan sensitivitas tinggi dalam mendeteksi molekul asam urat. Bentuknya yang *rigid* membuat zeolit tidak mudah mengalami *swelling* dalam air sehingga sensor yang dihasilkan memiliki stabilitas dan selektivitas yang tinggi (Gourishkina *et al.*, 2010). Oleh karena itu, zeolit merupakan material inovasi yang ekonomis, berbahan dasar alam yang dianggap sesuai untuk digunakan sebagai bahan sensor pendeteksi asam urat.

Pada penelitian tahun pertama ini dilakukan pengembangan sensor asam urat berbasis *imprinting* zeolit (IZ) dengan pendukung *glassy carbon* (GC-IZ). Penggunaan GC sebagai elektroda pendukung ini diharapkan dapat menghasilkan sensor yang mempunyai ketahanan dan waktu hidup yang tinggi (dapat digunakan berkali-kali) dan tidak menghasilkan limbah yang berbahaya. Cetakan (*imprinting*) molekul asam urat dibuat dari zeolit tipe MFI hasil sintesis dari campuran tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), tetrabutyl ortotitanat (TBOT). Zeolit tipe MFI mempunyai sifat hidrofob yang diharapkan mampu mempermudah adsorpsi asam urat pada saat pembuatan cetakan dan pengenalan (rekognisi) saat analisis. Cetakan terbentuk setelah dilakukan ekstraksi terhadap molekul asam urat dari kerangka zeolit. Untuk menguji tingkat kekerasan (*hardness*) dan porositas, dilakukan karakterisasi terhadap zeolit, zeolit ter-*imprint* molekul asam urat (IZ) dan non *imprinting* zeolit (NIZ) menggunakan spektrometri FTIR, *x-ray diffraction* (XRD), dan adsorpsi-desorpsi N₂ (BET). Selanjutnya dilakukan uji kinerja terhadap sensor GC-IZ secara voltametri. Pada penelitian ini dilakukan uji validitas sensor meliputi batas deteksi, sensitivitas, presisi dan akurasi dengan cara mengaplikasikan sensor tersebut untuk analisis larutan baku asam urat secara voltametri. Untuk melihat selektivitas sensor, dilakukan uji pengaruh senyawa lain yang biasanya berada bersama-sama dengan asam urat dalam

sampel serum yaitu asam askorbat, kreatin dan kreatinin. Pada penelitian ini juga ditentukan waktu hidup (*lifetime*) sensor.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas maka dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut.

1. Bagaimana karakteristik zeolit, *imprinting* zeolit dan *non imprinting* zeolit menggunakan FTIR, XRD, dan adsorpsi-desorpsi N₂
2. Bagaimana kondisi pelapisan *imprinting* zeolit pada elektroda GC dan bagaimana hasil uji kinerja sensor GC-IZ yang terbentuk secara voltammetri?
3. Bagaimanakah validitas sensor GC-IZ meliputi batas deteksi, sensitivitas, presisi dan akurasi?
4. Bagaimanakah selektivitas sensor GC-IZ terhadap asam urat dalam matriks asam askorbat, kreatinin dan kreatin?
5. Berapakah waktu hidup sensor GC-IZ?

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pembentukan Asam Urat dalam Tubuh

Asam urat pada manusia terbentuk sebagai hasil katabolisme purin, salah satu unsur protein yang menyusun material genetik. Pada mamalia bukan primata, adanya enzim urikase dalam tubuh akan memecah asam urat menjadi allantoin yang bersifat sangat larut dalam air. Namun demikian, karena tubuh manusia tidak memiliki enzim urikase, maka produk akhir katabolisme purin pada tubuh manusia berupa asam urat. Amfibi, burung dan reptil juga tidak memiliki enzim urikase, dan mengekskresikan asam urat serta guanin sebagai produk akhir katabolisme purin (Rodwell, *et al.*, 1995). Pada kondisi normal, 18 – 20% asam urat dalam tubuh manusia dipecah oleh bakteri menjadi CO₂ dan amonia (NH₃) di dalam usus dan diekskresikan melalui feses (Pranaji, 2007).

Dalam serum (cairan ekstra seluler) terdapat ion natrium dalam jumlah melimpah, sehingga sebagian besar asam urat berada dalam bentuk garam natriumnya. Garam urat jauh lebih larut di dalam air dibandingkan dengan asam urat. Sedangkan dalam urin, urat berada dalam bentuk asam urat. Kandungan normal natrium urat dalam serum kurang dari 7 mg/dL. Berdasarkan penelitian laboratorium klinis, kandungan normal asam urat untuk wanita dewasa berkisar 2,6 – 6 mg/dL dan untuk pria berkisar 3,5 – 7 mg/dL. Jika kadar asam urat melebihi nilai tersebut maka keadaan ini disebut hiperurisemia. Enzim yang berperan penting dalam sintesis asam urat adalah xantin oksidase yang sangat aktif bekerja dalam hati, usus halus, dan ginjal. Tanpa bantuan enzim ini asam urat tidak dapat terbentuk (Pranaji, 2007).

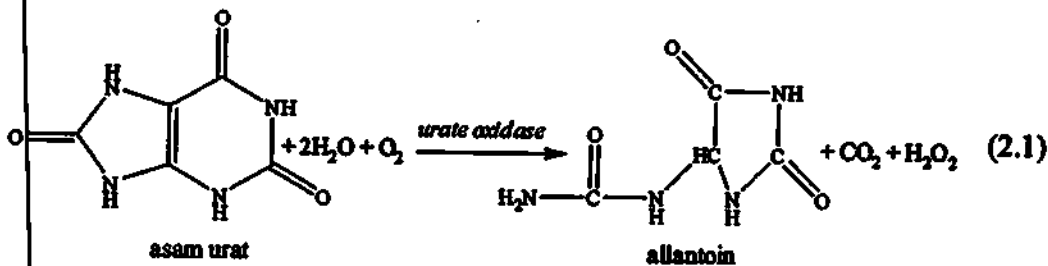
2.2. Analisis Umum terhadap Asam Urat

Senyawa asam urat 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 tingginya konsentrasi asam urat dalam tubuh dapat mengindikasikan adanya gejala beberapa penyakit. Konsentrasi asam urat yang tinggi di dalam tubuh (*hyperuricemia dan Lesch-Nyhan syndrome*) seringkali dikaitkan dengan *gout* dan kondisi-kondisi yang lain seperti kegemukan, diabetes, kolesterol yang tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati (Dalimartha, 2006). Bahkan dari hasil beberapa penelitian epidemiologi menunjukkan

bahwa kenaikan level asam urat dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskuler (Chen *et al.*, 2005). Penyakit-penyakit yang lain, seperti leukemia dan pneumonia juga diduga berkaitan dengan meningkatnya kadar asam urat dalam tubuh (Miland *et al.*, 1996).

Metode penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah spektrofotometri menggunakan pereaksi asam fosfotungstat atau dengan menggunakan enzim *uricase* (Chen *et al.*, 2005). Pada metode yang pertama, asam urat dalam serum direaksikan dengan asam fosfotungstat dalam suasana basa sehingga asam fosfotungstat akan direduksi oleh asam urat menghasilkan senyawa berwarna biru. Analisis dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang (λ) 660 nm.

Pada pendekatan enzimatik diperlukan beberapa tahapan diantaranya mereaksikan sampel dengan enzim *urate oxidase* berlebih dan diikuti dengan pengendapan sisa enzim dengan asam trikloroasetat. Kadar asam urat ditentukan berdasarkan perbedaan absorbansi antara larutan sampel dengan larutan asam urat kontrol pada $\lambda \approx 290$ nm. Asam urat dioksidasi oleh enzim *urate oxidase* menghasilkan allantoin dan hasil samping reaksi berupa H_2O yang digambarkan dengan Persamaan 2.1 (Akyilmaz *et al.*, 2003).



Reaksi pada Persamaan 2.1 tersebut dapat digunakan dalam penentuan kadar asam urat secara enzimatik menggunakan metode amperometri. Sinyal yang terukur menunjukkan jumlah oksigen yang digunakan dan sebanding dengan konsentrasi asam urat.

2.3. Analisis Asam Urat secara Voltametri

Teknik elektroanalisis banyak digunakan untuk menentukan kandungan spesi elektroaktif dalam sampel cairan. Keunggulan teknik analisis secara elektrometri adalah waktu yang dibutuhkan cepat, batas deteksi rendah, sensitivitas tinggi, dapat menganalisis analit dengan rentang konsentrasi yang luas, dan sedikit membutuhkan preparasi sampel. Untuk memenuhi kebutuhan analisis spesi elektroaktif hingga skala

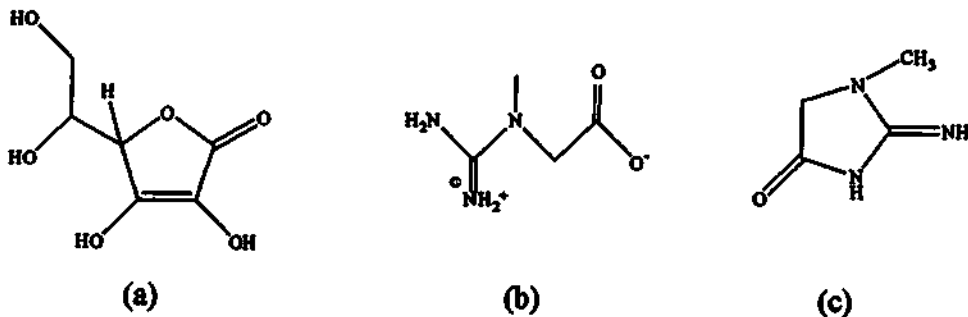
mikrogram/liter maka dikembangkan metode analisis yang sangat peka yaitu electrochemical stripping (ES). Metode ES meliputi *stripping voltammetry* (SV) dan *potentiometric stripping analysis* (PSA). Pada tahap pertama, analit dilapiskan pada elektroda kerja kemudian dengan menggeser potensial ke arah anodik/katodik maka analit tersebut akan terlarut kembali (*stripping*) dan pada saat itu diperoleh sinyal berupa voltamogram yang menyatakan hubungan potensial dan arus. Voltamogram yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif analit. Pada kondisi percobaan tertentu, secara kualitatif tiap-tiap analit elektroaktif mempunyai potensial elektrolisis yang spesifik, sedangkan analisis kuantitatif dinyatakan dengan besarnya arus difusi yang timbul karena konsentrasi analit sebanding dengan besarnya arus difusi (Wang, 2000).

Asam urat merupakan senyawa yang bersifat elektroaktif sehingga memungkinkan dilakukan analisis terhadap kadarnya secara voltammetri. Walaupun metoda analisis asam urat secara voltammetri telah dikembangkan, namun masih ditemukan gangguan oleh keberadaan senyawa lain dalam sampel riil. 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 yang salah satunya ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Elektroda yang selama ini banyak digunakan untuk analisis asam urat secara voltammetri adalah elektroda padat yang terbuat dari *glassy carbon* (GC), karbon atau emas (Wang, 2000). Beberapa peneliti telah melakukan analisis asam urat secara voltammetri menggunakan elektroda padat tanpa modifikasi seperti *glassy carbon bare electrode* (GCE) (John, 2005), *rotating glassy carbon electrode* (RGCE) (Strochkova *et al.*, 1997), *glassy carbon oxidised* (GCO) (Premkumar dan Khoo, 2005).

Khasanah, *et al.* (2007) telah melakukan analisis asam urat dalam serum dan urin secara voltammetri menggunakan elektroda cair yaitu *hanging mercury drop* (HMDE). Batas deteksi yang diperoleh adalah 5,08 µg/L. Recovery asam urat pada serum kontrol adalah 99,57±10,38% dan recovery asam urat pada urin sintesis 101,43±4,66%. Analisis asam urat dengan metoda tersebut hanya memerlukan jumlah sampel yang relatif sedikit (kurang dari 0,5 mL) (Khasanah *et al.*, 2009).

2.4 Interferensi pada analisis asam urat secara voltammetri

Asam urat berada dalam cairan tubuh bersama-sama dengan komponen lain seperti urea, kreatinin, glukosa dan beberapa mineral lainnya. Gangguan pada analisis asam urat dengan metode voltammetri terutama disebabkan oleh senyawa lain yang memiliki potensial deposisi berdekatan dengan asam urat, sehingga puncak voltammogram senyawa-senyawa tersebut tumpang-suh dengan puncak asam urat. Senyawa-senyawa yang memiliki struktur dan gugus fungsi mirip dengan asam urat seperti asam askorbat, kreatinin dan kreatin diduga juga dapat memberikan gangguan pada analisis asam urat secara voltammetri. Struktur molekul asam askorbat, kreatin dan kreatinin ditampilkan pada Gambar 2.1, sedangkan komposisi komponen penyusun serum ditampilkan pada Tabel 2.1.



Gambar 2.1 Struktur molekul (a) asam askorbat, (b) kreatin, dan (c) kreatinin (O'Neil, 2001)

Asam askorbat memiliki rumus molekul $C_6H_8O_6$ dan massa molekul relatif sebesar 176,12 g/mol. Asam askorbat merupakan asam poliprotik dan memiliki dua buah tetapan keasaman yaitu pK_{a1} sebesar 4,17 dan pK_{a2} sebesar 11,57 (O'Neil, 2001). Asam askorbat sangat cepat dan efisien diserap dari bahan makanan dan terlarut dalam intraseluler maupun ekstraseluler melalui peredaran darah sehingga jika mengkonsumsi asam askorbat dengan dosis tinggi akan meningkatkan konsentrasi asam askorbat dalam darah dan jaringan, sesaat setelah mengkonsumsi asam askorbat tersebut (Linder, 1992). Konsentrasi rata-rata asam askorbat dalam darah pada kondisi normal dan sedikit asupan asam askorbat adalah konstan sekitar $40 \pm 15 \mu M$ (0,696 mg/dL) (Chen *et al.*, 2010).

Tabel 2.1 Komposisi berbagai komponen penyusun serum

Komponen	Konsentrasi (%)
Air	92
Natrium	0,37
Klor	0,37
Kalium	0,02
Fosfat	0,009
Sulfat	0,002
Amonium	0,0001
Asam urat	0,004
Urea	0,03
Kreatinin	0,001
Protein	7,0
Glukosa	0,1
Asam askorbat	0,0007

Sumber: Chen, *et al.* (2010)

Kemungkinan terjadinya gangguan yang disebabkan oleh asam askorbat saat analisis asam urat secara voltametri lucutan sangat tinggi karena potensial puncak oksidasi asam urat berdekatan dengan asam askorbat (Martinez *et al.*, 2006). Marcos *et al.* (1992) melaporkan bahwa asam askorbat dengan konsentrasi di atas 0,53 mM mengganggu pengukuran konsentrasi asam urat menggunakan elektroda termodifikasi nafion. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi di atas 0,93 mM juga memberikan gangguan pada analisis asam urat menggunakan elektroda termodifikasi enzim terikat silang (*cross-linking enzim modified electrode*).

Khasanah *et al.* (2009) telah mempelajari pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat dalam sampel serum dan urin. Keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi asam urat menurunkan respon arus sebesar 24,96%. *Recovery* yang diperoleh dalam matriks serum adalah 90,1%, sedangkan dalam matriks urin adalah 78,6%.

Senyawa lain yang terdapat dalam serum adalah kreatin dan kreatinin. Kedua senyawa ini kemungkinan dapat memberikan gangguan pada analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan elektroda GC-IZ karena keduanya secara perhitungan memiliki ukuran yang hampir sama dengan asam urat. Kreatin dan kreatinin juga memiliki gugus fungsi $-NH$ dan $-C=O$ seperti asam urat sehingga kedua senyawa tersebut dapat membentuk ikatan dengan zeolit seperti halnya asam urat.

2.5 Modifikasi Elektroda

Elektroda kerja merupakan komponen terpenting dalam metoda voltammetri karena sensitivitas dan akurasi metoda voltammetri salah satunya ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Elektroda pada voltammetri biasanya terbuat dari logam padat maupun cair seperti emas, platina atau merkuri. Selain itu juga juga dapat digunakan *glassy carbon electrode* (GCE) atau elektroda grafit.

Dalam teknik voltametri, seringkali selektivitas elektroda dapat diperoleh melalui kontrol pemberian potensial. Arus puncak pada potensial tertentu merupakan identitas spesi elektroaktif tertentu. Pada beberapa kasus, dihasilkan arus puncak yang tumpang-suh dari beberapa spesi yang dianalisis. Perkembangan teknologi di bidang voltammetri ditandai dengan pengembangan elektroda kerja yaitu dengan cara memodifikasi elektroda melalui pelapisan senyawa tertentu di permukaan elektroda atau mencampur senyawa tertentu pada material elektroda (Wang, 2000).

Modifikasi elektroda dilakukan untuk mengurangi gangguan matriks dalam sampel yang dianalisis sehingga menambah selektivitas elektroda. Di samping itu modifikasi elektroda juga ditujukan untuk meningkatkan sensitivitas pengukuran. Ada tiga macam cara modifikasi elektroda (Brett dan Brett, 1998; El-Maali, 2004) yaitu melapisi elektroda dengan lapis tipis (film) melalui reaksi kimia secara *self-assembled monolayer*. Sebagai contoh elektroda emas dimodifikasi dengan n-alkanatiol dengan cara merendam elektroda emas pada larutan alkanatiol selama jangka waktu tertentu. Cara kedua adalah melapisi elektroda dengan lapisan polimer dengan cara elektropolimerisasi pada permukaan elektroda. Dengan cara ini, ketebalan lapisan dapat diatur. Cara ketiga adalah memodifikasi keseluruhan elektroda. Modifikasi elektroda dengan cara ini memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan modifikasi permukaan elektroda. Permukaan elektroda hasil modifikasi dengan cara ini dapat diperoleh dengan mudah dan cepat hanya dengan pemolesan atau pemotongan.

Modifikasi elektroda dengan cara kimia memanfaatkan perilaku pereaksi pada permukaan elektroda, yang ditujukan untuk mempercepat reaksi transfer elektron, deposisi, atau penyerapan membran secara selektif. Polimer seringkali digunakan sebagai pereaksi yang dilapiskan pada permukaan elektroda dengan cara menuangkan larutan yang mengandung polimer pada permukaan elektroda dan diikuti dengan penguapan pelarut. (Wang, 2000; Brett dan Brett, 1998; El Maali, 2004).

2.6. Elektroda Termodifikasi sebagai Sensor untuk Analisis Asam Urat

Analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda termodifikasi telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Metode *square-wave voltammetry* menggunakan elektroda *nafion-coated carbon paste electrode* telah digunakan untuk menentukan kadar asam urat yang berada bersama-sama dengan asam askorbat (Zen dan Hsu, 1998). Dengan metode ini diperoleh batas deteksi sebesar 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.

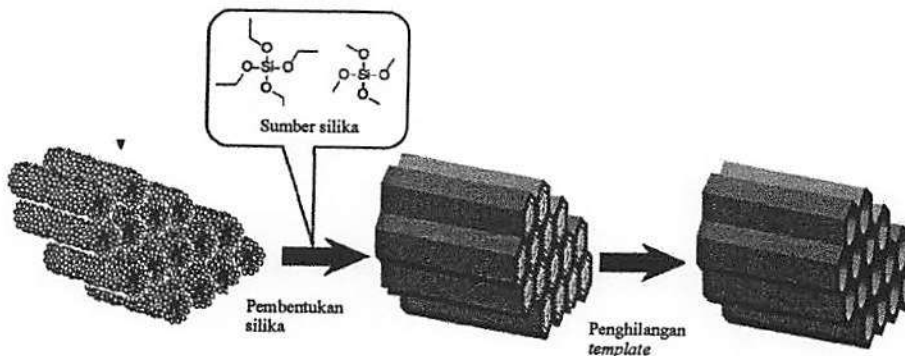
Zare *et al.* (2005) menggunakan elektroda GC termodifikasi norepinefrin untuk menentukan konsentrasi asam askorbat dan asam urat. Elektroda termodifikasi dibuat dengan cara melapiskan norepinefrin pada permukaan elektroda GC aktif. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa asam askorbat dioksidasi pada potensial lebih negatif dari asam urat. Daerah linier yang diperoleh pada analisis simultan asam askorbat dan asam urat adalah konsentrasi 0,04-1,0 mM untuk asam askorbat dan 0,01-0,6 mM untuk asam urat. Sensitivitas metode untuk analisis asam askorbat dan asam urat berturut-turut adalah 0,2209 dan 5,7444 $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$. Batas deteksi untuk analisis asam urat adalah $1,0 \times 10^{-5}$ M. Elektroda GC harus selalu diaktivasi secara voltametri siklis sebelum dilakukan pelapisan dengan norepinefrin.

Zare *et al.* (2006) menggunakan elektroda GC - *oracet blue* (OB) untuk penentuan kadar dopamin, asam askorbat, dan asam urat secara bersamaan (simultan). Pada penelitian tersebut 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 elektroda GC termodifikasi poli asam kafeat. Dari penelitian tersebut diperoleh batas deteksi $6,0 \times 10^{-7}$ mol/L untuk asam urat. Matos *et al.* (2000) telah menggunakan mikroelektroda Au-Pd untuk analisis asam urat secara voltametri.

Analisis asam urat secara voltametri menggunakan sensor HMD-*imprinting polymer* (HMD-MIP) telah dikembangkan sebelumnya. Dengan sensor berbasis imprinting polimer ini diperoleh peningkatan selektivitas dan sensitivitas lebih dari 100 kali dibandingkan sensor HMD tanpa modifikasi (Khasanah *et al.*, 2010^a).

2.7 Elektroda berbasis *Imprinting Zeolite* sebagai Sensor pada Analisis Asam Urat

Selektivitas dan sensitivitas elektroda kerja pada voltametri dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi elektroda tersebut menggunakan zeolit dengan cetakan molekul. Zeolit ter-*imprint* molekul analit dibentuk melalui interaksi silika dengan suatu *template* yaitu molekul target. Adanya *template* menyebabkan volume pori menjadi lebih selektif. Interaksi antara *template* dengan dinding zeolit adalah interaksi Coulomb, Van der Waals, dan ikatan hidrogen (Davis dan Burkett, 1995). Penghilangan *template* dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu metode ekstraksi pelarut dan kalsinasi. Metode ekstraksi pelarut jarang digunakan karena metode ini hanya mampu mengeluarkan *template* dari material tanpa menghilangkannya dari sistem sehingga dapat mengganggu proses aplikasi material. Metode yang banyak digunakan pada pembentukan cetakan adalah kalsinasi. Pemanasan suatu senyawa di atas titik didihnya akan menyebabkan senyawa tersebut berubah menjadi fasa uap. Pembentukan *imprinting zeolite* dijelaskan pada skema Gambar 2.2.

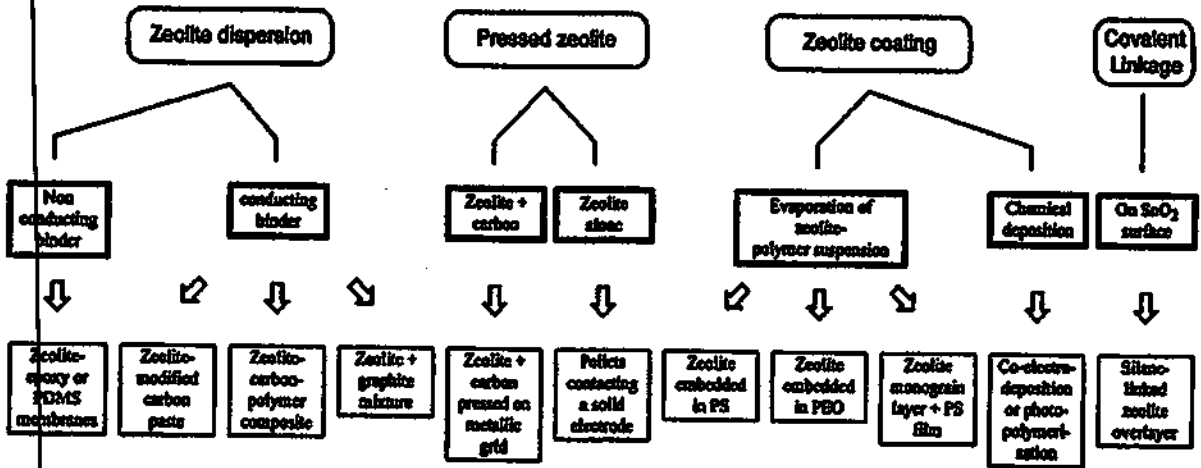


Gambar 2.2. Skema pembentukan *imprinting zeolite* (Vinu et al., 2006)

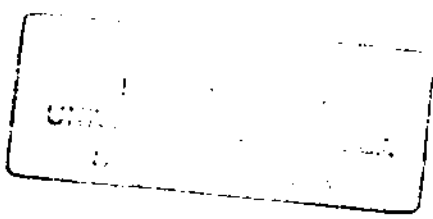
Setelah terbentuk *imprinting zeolite*, tahapan berikutnya adalah preparasi *zeolite modified electrode* (ZME). Terdapat 4 teknik preparasi ZME yaitu dispersi partikel zeolit pada matriks padatan, kompresi zeolit pada substrat konduktif, pelapisan zeolit pada elektroda padat, dan interaksi kovalen partikel zeolit pada permukaan elektroda (Walcarius, 1999). Macam-macam teknik preparasi ZME ditampilkan pada skema Gambar 2.3.

Sampai saat ini, berbagai macam penelitian tentang modifikasi ZME mulai dari teknik preparasi, jenis zeolit, modifikasi zeolit dengan senyawa atau logam lain, dan sebagainya. Ardakani *et al.*, (2006) melakukan modifikasi elektroda grafit-ZME untuk

analisis Cu(II). Bing dan Kryger (1996) juga mensintesis elektroda grafit-termodifikasi ZME sintesis untuk analisis Cd (II) dan Zn (II). Modifikasi elektroda karbon pasta menggunakan zeolit alam (*natural zeolite modified carbon paste electrode, NZMCPE*) juga telah dikembangkan untuk menganalisis tembaga. Batas deteksi yang diperoleh adalah $1,5 \times 10^{-8}$ M (Alpat *et al.*, 2005). Elektroda karbon pasta termodifikasi zeolit terdoping Fe³⁺ untuk analisis triptofan dan asam urat telah dikembangkan oleh Babaei *et al.* (2008). Batas deteksi metode yang dikembangkan tersebut adalah 8×10^{-8} M untuk asam urat.



Gambar 2.3 Skema teknik preparasi ZME (PDMS : *polydimethylsiloxane*; PS : *polystyrene*; PEO : *polyethylene oxide*) (Walcarius, 1999)



BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah mengembangkan metoda penentuan kadar asam urat di dalam serum secara voltammetri, sehingga diperoleh suatu metoda alternatif untuk analisis asam urat disamping metode spektrofotometri yang selama ini digunakan di bidang kesehatan. Untuk mencapai tujuan tersebut dilakukan pengembangan sensor yang sensitif dan selektif terhadap asam urat melalui modifikasi elektroda *glassy carbon* (GC) dengan zeolit ter-*imprint* molekul asam urat. Dengan sistem *imprinting* ini diharapkan dibentuk cetakan yang spesifik untuk molekul asam urat sehingga analisis terhadap asam urat tidak diganggu oleh adanya matriks lain karena cetakan hanya akan sesuai terhadap spesi yang dianalisis.

Tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mempelajari ukuran cetakan asam urat pada zeolit dan mengkarakterisasi zeolit, *imprinting* zeolit dan *non imprinting* zeolit menggunakan FTIR, XRD, dan adsorpsi-desorpsi N₂.
2. Menentukan kondisi pelapisan *imprinting* zeolit (zeolit ter-*imprint* molekul asam urat) pada elektroda GC dan menguji kinerja sensor GC-IZ yang terbentuk secara voltammetri.
3. Menguji validitas sensor GC-IZ meliputi batas deteksi, sensitivitas, presisi dan akurasi
4. Mempelajari ketahanan (waktu hidup/stabilitas) sensor.
5. Mempelajari selektivitas sensor melalui uji pengaruh asam askorbat, kreatinin, kreatin, urea dan glukosa yang selalu berada bersama-sama asam urat dalam sampel darah.
6. Mempelajari *recovery* dalam matriks serum.
7. Mempelajari keterpakaian sensor untuk analisis asam urat dalam sampel serum. .
8. Melakukan uji perbandingan dengan metode yang telah umum digunakan dan dianggap sebagai metode baku di bidang kesehatan.

3.2 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pengembangan sensor melalui modifikasi elektroda *glassy carbon* dengan *imprinting zeolite* (GC-IZ) sebagai pendeteksi asam urat. Dengan sistem cetakan ini akan diperoleh sensitivitas dan selektivitas yang tinggi dalam mendeteksi molekul asam urat karena cetakan hanya sesuai dengan molekul asam urat. Dikembangkannya metode analisis asam urat yang selektif, sensitif dan dengan batas deteksi yang rendah akan mengurangi resiko kesalahan diagnosis. Sensor yang mempunyai batas deteksi rendah (skala nanogram) akan dapat digunakan untuk analisis asam urat dengan kadar yang sangat rendah dan membutuhkan sampel dengan jumlah yang sangat kecil (< 0,5 mL darah). Penggunaan sensor yang terbuat dari *glassy carbon* ini akan memperkecil biaya analisis (ekonomis) karena sensor dapat digunakan secara berulang-ulang dan dalam rentang waktu yang lama. Dengan menggunakan metode alternatif yang akurat dan dengan batas deteksi yang rendah ini diharapkan dapat dilakukan diagnosis secara dini terhadap kadar asam urat dalam tubuh sehingga dapat diberikan *treatment* yang tepat pada penderitanya.

Hasil penelitian ini akan berdampak pada pengembangan metode elektroanalisis untuk mendeteksi senyawa lain yang kadarnya di dalam tubuh harus selalu dikontrol seperti kolesterol, kreatin dan kreatinin. Dengan demikian dapat memperkaya riset di bidang elektroanalisis dan biomedis dengan memanfaatkan potensi alam Indonesia. Selain itu, dengan dikembangkannya metode elektroanalisis untuk deteksi asam urat ini akan mengurangi ketergantungan terhadap satu jenis instrumentasi tertentu (*selama ini selalu menggunakan metode spektrofotometri*) dan dapat membantu peningkatan sistem monitor pasien.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga mulai bulan Februari – November 2012. Karakterisasi zeolit dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA UGM (FTIR), laboratorium Kimia FMIPA ITS (XRD), dan Laboratorium Energi LPPM ITS (adsorpsi-desorpsi N_2 /BET).

4.2 Bahan penelitian

Bahan kimia yang digunakan adalah asam urat, tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), tetrabutyl ortotitanat (TBOT), 2-propanol, asam askorbat, kreatinin, kreatin, natrium asetat, asam asetat, natrium hidrogen fosfat, natrium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida dan ammonia. Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis. Air yang digunakan adalah *ultra high pure (UHP) water*.

4.3 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah *797 Voltammetry Computrace (MVA system-1)* yang dilengkapi dengan wadah sampel, pengaduk magnetik, *processor unit*, PC, elektroda kerja *glassy carbon (GCE)*, elektroda pembanding *Ag/AgCl* dan elektroda counter Pt, spektrometri *Fourier transform infra red (FTIR)*, *x-ray diffraction (XRD)* dan instrumentasi adsorpsi-desorpsi N_2 (BET) mikropipet, pH meter, *water purifier Milliopore*, *hotplate-magnetic stirrer*, oven serta peralatan pendukung lain.

4.4 Prosedur Penelitian

Langkah-langkah penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut.

4.4.1 Sintesis dan karakterisasi *imprinting zeolite*

Zeolit MFI disintesis dengan cara mencampurkan sebanyak 35 g TEOS ke dalam 0,9 g TBOT, kemudian diaduk selama 30 menit pada temperatur kamar. Sebanyak 20 g TPAOH ditambahkan ke dalam campuran, kemudian diaduk selama 15 jam, sehingga campuran yang diperoleh mempunyai perbandingan mol 1 TEOS : 0,017 TiO_2 : 0,24 TPAOH : 21,2 H_2O . Campuran yang terbentuk dipanaskan secara hidrotermal pada

temperatur 80°C selama 4 hari. Sejumlah asam urat ditambahkan ke dalam campuran hingga diperoleh rasio molar asam urat/Si = $2,98 \times 10^{-4}$. Selanjutnya, campuran didiamkan selama 3 jam (Eimer *et al.*, 2008). Sebagai pembanding, dengan cara yang sama, dilakukan sintesis zeolit (tidak dilakukan penambahan asam urat) dan *non imprinting zeolite* (asam urat tidak diekstraksi dari zeolit). Selanjutnya, padatan hasil sintesis (zeolit, *imprinting zeolite* dan *non-imprinting zeolite*) yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan FTIR, *x-ray diffraction* (XRD), dan adsorpsi-desorpsi N₂.

4.4.2 Pelapisan *imprinting zeolite* pada permukaan elektroda GC

Modifikasi sensor dilakukan dengan cara melapiskan *imprinting zeolite* pada elektroda GC secara *electrocoating*. Sejumlah tertentu *imprinting zeolite* ditambahkan air dalam sel elektrokimia, kemudian dilakukan pelapisan *imprinting zeolite* pada elektroda GC secara elektro-coating pada variasi potensial dan waktu pelapisan. Dilakukan pelapisan *imprinting zeolite* pada permukaan elektroda GC dengan variasi potensial dari +2 V sampai dengan -1 V dengan rentang 100 mV menggunakan elektroda pembanding Ag/AgCl. Selanjutnya, elektroda tersebut dikeringkan dengan oven 100°C. Untuk mengetahui hasil yang optimum, elektroda diaplikasikan untuk analisis asam urat dengan konsentrasi tertentu dengan kondisi analisis berupa waktu deposisi 120 detik dengan laju pindai selama *stripping* 59 mV/detik. Hasil optimasi potensial pelapisan digunakan untuk optimasi waktu pelapisan. Waktu pelapisan divariasikan mulai 30 – 180 detik dengan interval 30 detik. Sebagai pembanding, dilakukan pula pelapisan elektroda GC menggunakan *non-imprinting zeolite* dan zeolit.

4.4.3 Uji kinerja sensor *glassy carbon-imprinting zeolite* (GC-IZ)

Sensor GC-IZ hasil modifikasi selanjutnya diujicobakan/ digunakan untuk analisis asam urat. Dilakukan pengamatan potensial dan arus puncak hasil analisis asam urat secara voltametri dan dibandingkan dengan hasil analisis menggunakan elektroda GC dan GZ-NIZ.

4.4.4 Optimasi deposisi dan analisis asam urat

Sebelum dilakukan analisis asam urat, dilakukan optimasi parameter pengukuran yang meliputi potensial dan waktu deposisi asam urat pada elektroda termodifikasi, serta pH larutan asam urat. Larutan asam urat dengan konsentrasi dan pH tertentu dideposisikan pada permukaan sensor GC-IZ dengan variasi potensial dan waktu deposisi. Dilakukan variasi waktu deposisi mulai 30 – 180 detik dengan interval 30

detik. Variasi pH larutan dilakukan mulai pH 3-7 dengan penambahan buffer asetat atau buffer fosfat ke dalam larutan asam urat. Optimasi variabel dilakukan secara terpisah, hasil optimasi satu variabel digunakan untuk optimasi variabel lainnya.

4.4.5 Pembuatan kurva baku asam urat

Dibuat sederetan larutan baku asam urat dengan konsentrasi 0,95; 1,90; 2,85; 3,81 dan 4,76 ppb, kemudian dianalisis secara voltametri lucutan (*stripping voltammetry*) menggunakan elektroda GC-IZ. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva antara konsentrasi asam urat dan besarnya arus yang teramati untuk masing-masing konsentrasi asam urat yang dianalisis. Data hasil pengukuran larutan baku ini digunakan untuk uji validitas metode.

4.4.6 Uji validitas dan waktu hidup (*lifetime*) sensor

Data hasil pengukuran larutan baku digunakan untuk uji validitas sensor meliputi linieritas, batas deteksi (LOD), sensitivitas, presisi (keterulangan) dan akurasi. Linieritas ditentukan dengan cara membuat persamaan regresi kurva baku ($Y = a + bx$ dengan ketentuan $Y =$ arus, $x =$ konsentrasi larutan, $a =$ intersep dan $b =$ slope), kemudian dihitung harga koefisien korelasi (r).

Batas deteksi (LOD) dihitung dengan persamaan

$$Y_{LOD} = Y_M + 3S_M$$

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

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

Sensitivitas (s) dihitung dari harga slope regresi linier yaitu besarnya perubahan sinyal untuk tiap satuan konsentrasi yang digunakan per satuan luas permukaan elektroda.

Presisi dinyatakan dengan harga koefisien variasi (KV) menurut persamaan berikut

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

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

Ketahanan dan waktu hidup sensor diuji dengan cara mengamati penyimpangan respon arus yang dihasilkan setelah sensor digunakan untuk analisis sederetan larutan

asam urat konsentrasi tertentu yang sama secara berulang-ulang dan dalam rentang waktu yang lama.

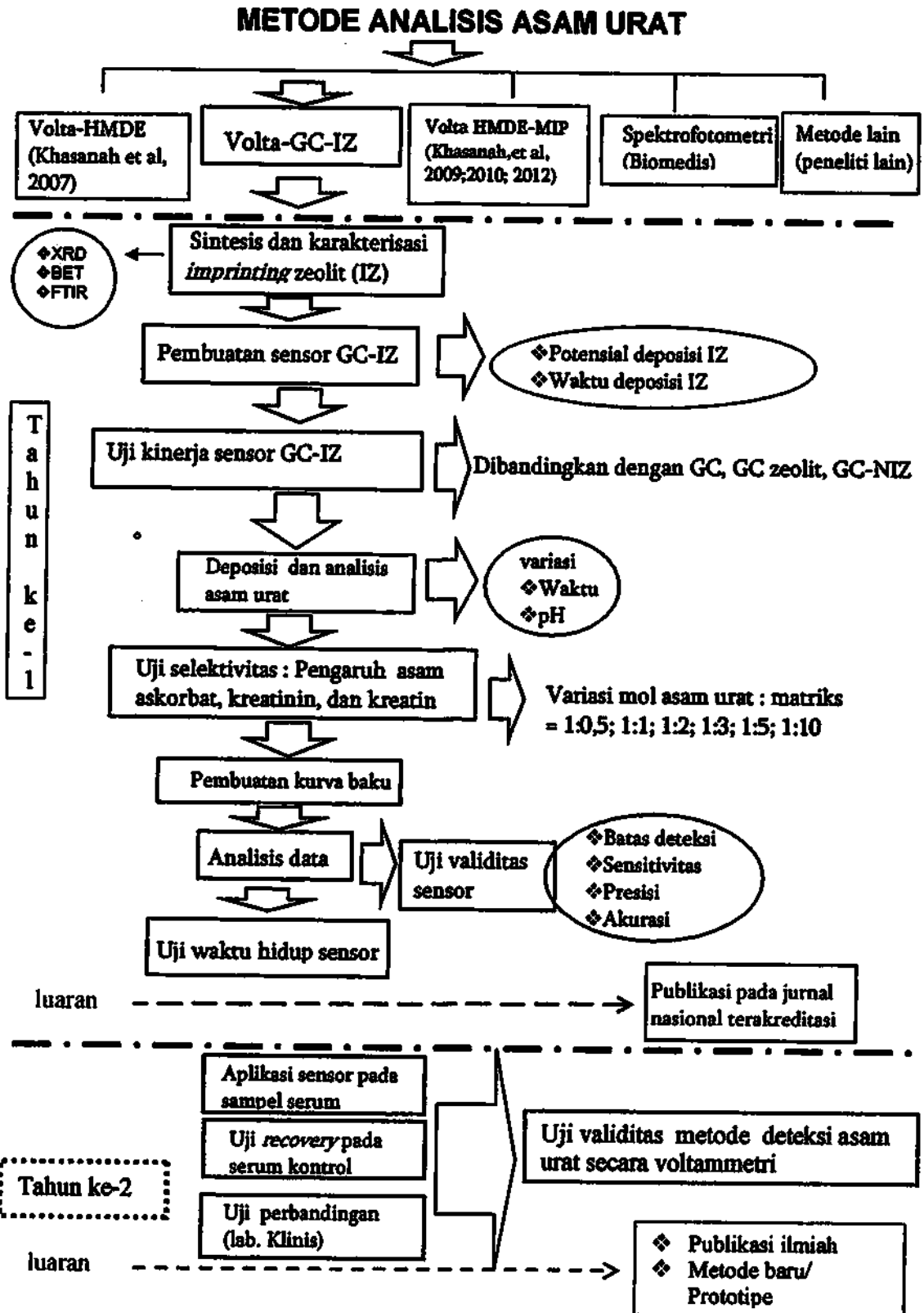
Untuk mengetahui selektivitas sensor dan melihat gangguan matriks pada analisis asam urat, dilakukan uji pengaruh senyawa yang biasanya terdapat dalam sampel serum yaitu asam askorbat, kreatinin, dan kreatin. Ke dalam larutan asam urat, ditambahkan larutan asam askorbat dengan perbandingan konsentrasi asam urat dan asam askorbat bervariasi yaitu 1:0,5; 1:1; 1:2; 1:3; 1:5. Kemudian respon arus yang diperoleh dibandingkan dengan respon arus hasil analisis asam urat tanpa penambahan asam askorbat. Dilakukan prosedur yang sama untuk penambahan kreatinin dan kreatin.

Akurasi dipelajari dengan cara menganalisis arutan baku asam urat konsentrasi tertentu secara voltametri menggunakan sensor GC-IZ dengan kondisi hasil optimasi prosedur sebelumnya. Akurasi dihitung dengan persamaan berikut.

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

dengan ketentuan x adalah konsentrasi asam urat yang diperoleh dari hasil analisis, sedangkan μ adalah konsentrasi asam urat yang sebenarnya.

4.5 Diagram Alir (mengikuti alur tanda panah) dan Luaran Penelitian



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pembuatan Zeolit, *non imprinting zeolite* (NIZ), dan *imprinting zeolite* (IZ)

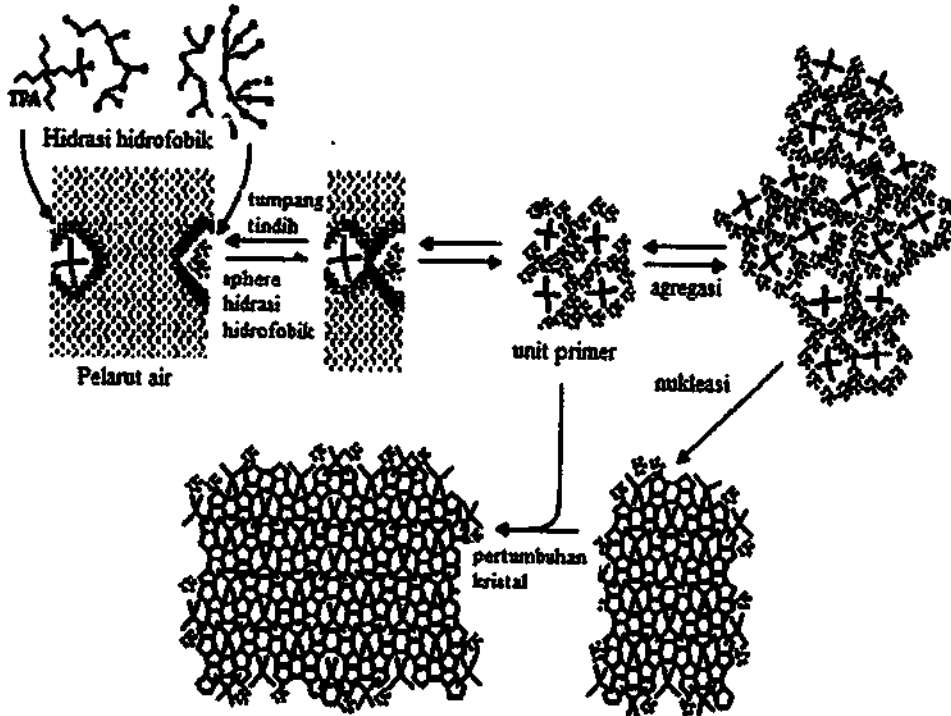
Pada penelitian ini, dibuat sensor asam urat melalui modifikasi elektroda *glassy carbon* (GC) menggunakan zeolit. Zeolit yang digunakan adalah zeolit sintesis dimana ukuran dan bentuk pori zeolit dapat disesuaikan dengan analit dan memiliki derajat kemurnian yang tinggi. Dalam hal ini, zeolit berperan sebagai *imprinter* (cetakan) bagi asam urat sehingga setelah asam urat diekstraksi akan dihasilkan ukuran pori zeolit yang tercetak dengan ukuran molekul asam urat.

Jenis zeolit yang digunakan dalam penelitian ini adalah titanium silikalit-1 (TS-1). Titanium silikalit-1 (TS-1) disintesis dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Eimer *et al.* (2008). TS-1 terdiri dari rangkaian Si-O-Ti yang tersusun secara tetrahedral dimana Ti mensubstitusi sebagian silikon dalam kerangka. Prekursor yang digunakan adalah tetrabutyl ortotitanat (TBOT) dan tetraetil ortosilikat (TEOS) sebagai sumber titanium dan sumber silika, serta tetrapropil amoniumhidroksida (TPAOH) sebagai agen pengarah struktur dan pemberi suasana basa. Asam urat digunakan sebagai pengarah ukuran pori TS-1.

Penambahan alkoksida pada rute sol-gel diawali dari pencampuran alkoksida yang kurang reaktif yaitu TEOS dan TBOT. Selama proses pencampuran, terbentuk campuran berwarna putih keruh yang menandakan terjadinya hidrolisis parsial larutan prekursor. Sebelum dicampur, TBOT terlebih dahulu dilarutkan dalam isopropanol untuk menghindari hidrolisis TBOT menjadi TiO_2 sebagaimana yang dilaporkan oleh Thangaraj *et al.* (1991). Selanjutnya, campuran ditambah dengan TPAOH yang berfungsi sebagai pengarah struktur dan pemberi suasana basa. Kebasaan yang ditimbulkan oleh TPAOH sesuai untuk melarutkan silika (Zhao *et al.*, 1996). Pada suasana basa, spesi silikat berada dalam bentuk oligomer. Silikat lebih mudah berinteraksi dengan titanat apabila konsentrasi silikat sebagian besar dalam bentuk oligomer.

Pengukuran pH yang dilakukan setelah proses hidrotermal menunjukkan pH campuran sebesar 11. Setelah penambahan TPAOH, campuran di-*aging* dengan cara mengaduknya selama 15 jam. Selama *aging*, terjadi proses nukleasi kristal yang mempengaruhi jumlah inti zeolit yang terbentuk (Wong *et al.*, 2001). Setelah terbentuk gel berwarna putih, campuran dilakukan hidrotermal pada suhu $80^\circ C$ agar terjadi reaksi

kondensasi yang memungkinkan terjadinya pemutusan dan pembentukan ikatan baru Si,Ti-O-Si,Ti (Cundy dan Cox, 2005). Proses hidrotermal dilakukan dengan variasi waktu selama 2, 4, dan 8 hari. Proses hidrotermal merupakan tahap pertumbuhan inti kristal zeolit. Pada tahap hidrotermal ini terjadi reaksi kondensasi yang memungkinkan terbentuknya ikatan Ti-O-Si



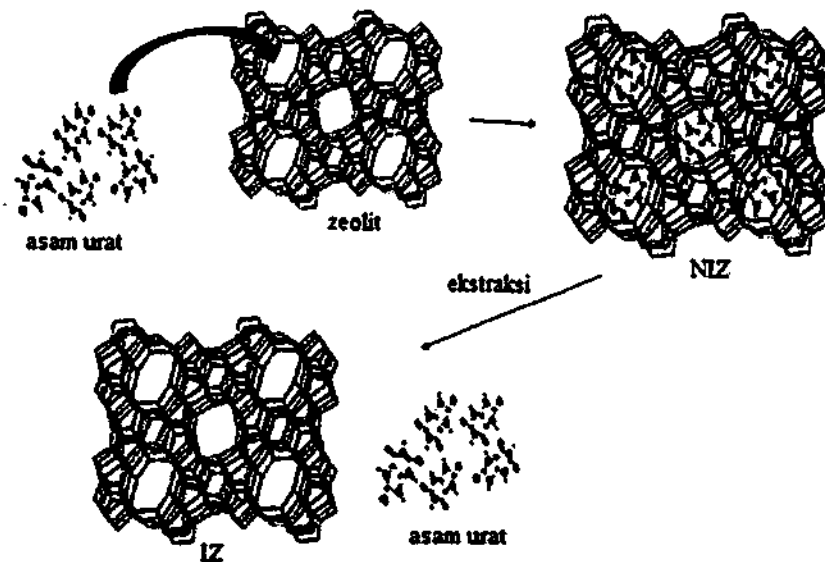
Gambar 5.1 Mekanisme kristalisasi zeolit (Houssin, 2003)

Selanjutnya dilakukan sintesis *non imprinting* zeolit (NIZ). NIZ merupakan zeolit yang telah ditambahkan sejumlah mol *template* (cetakan) asam urat. Adanya *template* menyebabkan ukuran pori zeolit menyesuaikan dengan volume *template* sehingga ukuran pori zeolit tercetak oleh *template*. Rasio mol asam urat/Si yang digunakan pada penelitian sebesar $2,98 \cdot 10^{-4}$.

Tahapan berikutnya adalah pendiaman campuran selama 3 jam. Proses ini bertujuan untuk memasukkan *template* asam urat ke dalam kerangka TS-1. Adanya *template* menyebabkan volume pori zeolit menyesuaikan dengan volume *template* sehingga ukuran pori zeolit sesuai dengan ukuran *template*. NIZ yang dihasilkan dari penelitian ini berupa padatan putih dengan filtrat putih keruh. Padatan yang terbentuk kemudian di-*sentrifuge*, dicuci dengan air hingga netral untuk menghilangkan atau

membersihkan sisa basa TPAOH dan asam urat yang tidak bereaksi. Untuk mendapatkan endapan kering, NIZ dipanaskan dalam oven pada temperatur 80°C.

Imprinting zeolit (IZ) merupakan NIZ yang asam uratnya telah diekstraksi. Asam urat diekstraksi menggunakan air panas yang selanjutnya dipisahkan antara endapan dan filtratnya dengan cara sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan sebanyak 16 kali agar asam urat dapat terekstrak dengan sempurna. IZ yang dihasilkan pada penelitian ini berupa padatan putih. Untuk mendapatkan padatan IZ kering, maka IZ dipanaskan dalam oven pada temperatur 80°C. Pada kondisi ini diharapkan pori-pori zeolit sudah tertetak sesuai dengan ukuran molekul asam urat.



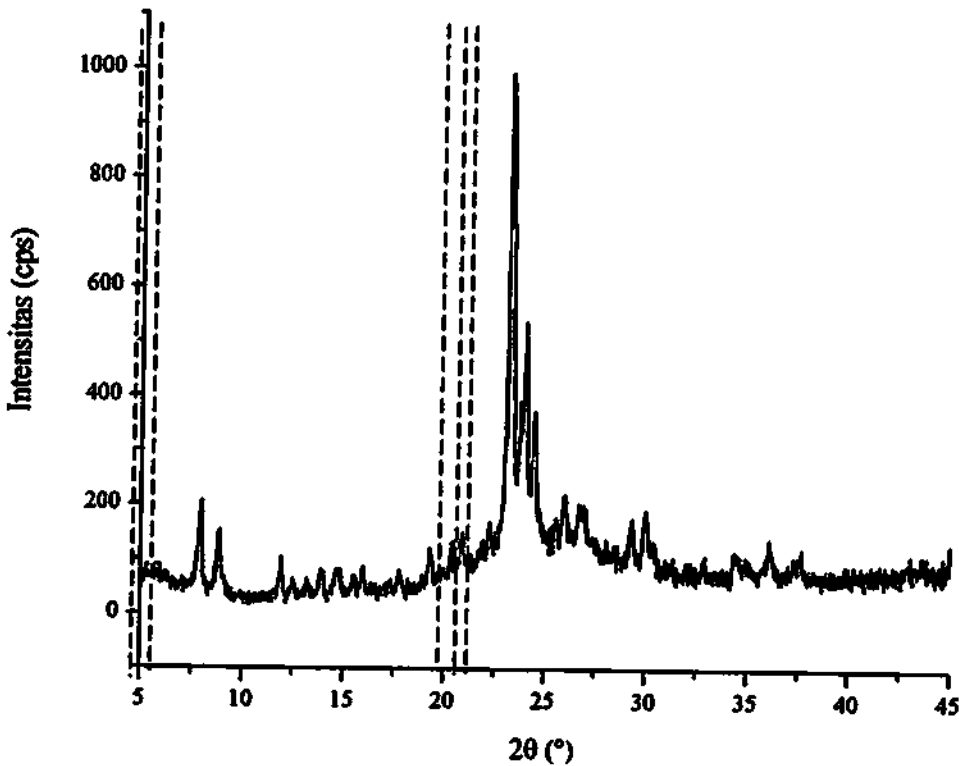
Gambar 5.2 Skema pembentukan NIZ dan IZ

5.2 Karakterisasi Zeolit

5.2.1 Karakterisasi zeolit dengan difraksi sinar X (*X-ray diffraction/XRD*)

Difraktogram zeolit memberikan informasi mengenai identifikasi struktur zeolit. Berdasarkan hasil difraktogram pada Gambar 5.3, terlihat bahwa keseluruhan puncak difraksi zeolit hasil sintesis muncul pada 2θ 7,96; 8,85; 23,2; 23,9; dan 24,4°. Puncak-puncak tersebut sesuai dengan puncak karakteristik MFI seperti yang dilaporkan Treacy *et al.* (2001). Kesesuaian puncak menunjukkan bahwa semua padatan hasil sintesis telah membentuk struktur MFI yang merupakan kerangka khas zeolit TS-1. Pada 2θ sekitar 24,4° tidak terdapat puncak refleksi ganda, melainkan terdapat puncak refleksi tunggal. Puncak refleksi ganda merupakan puncak khas dari struktur monoklin (Xia dan Gao, 1997), sedangkan puncak refleksi tunggal menunjukkan bentuk struktur

ortorombik. Ini menunjukkan bahwa telah terjadi perubahan struktur material dari monoklin (silikalit) menjadi ortorombik (TS-1). Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Mondal dan Deka, (2007) dalam mensintesis TS-1.



Gambar 5.3 Difraktogram zeolit hasil sintesis

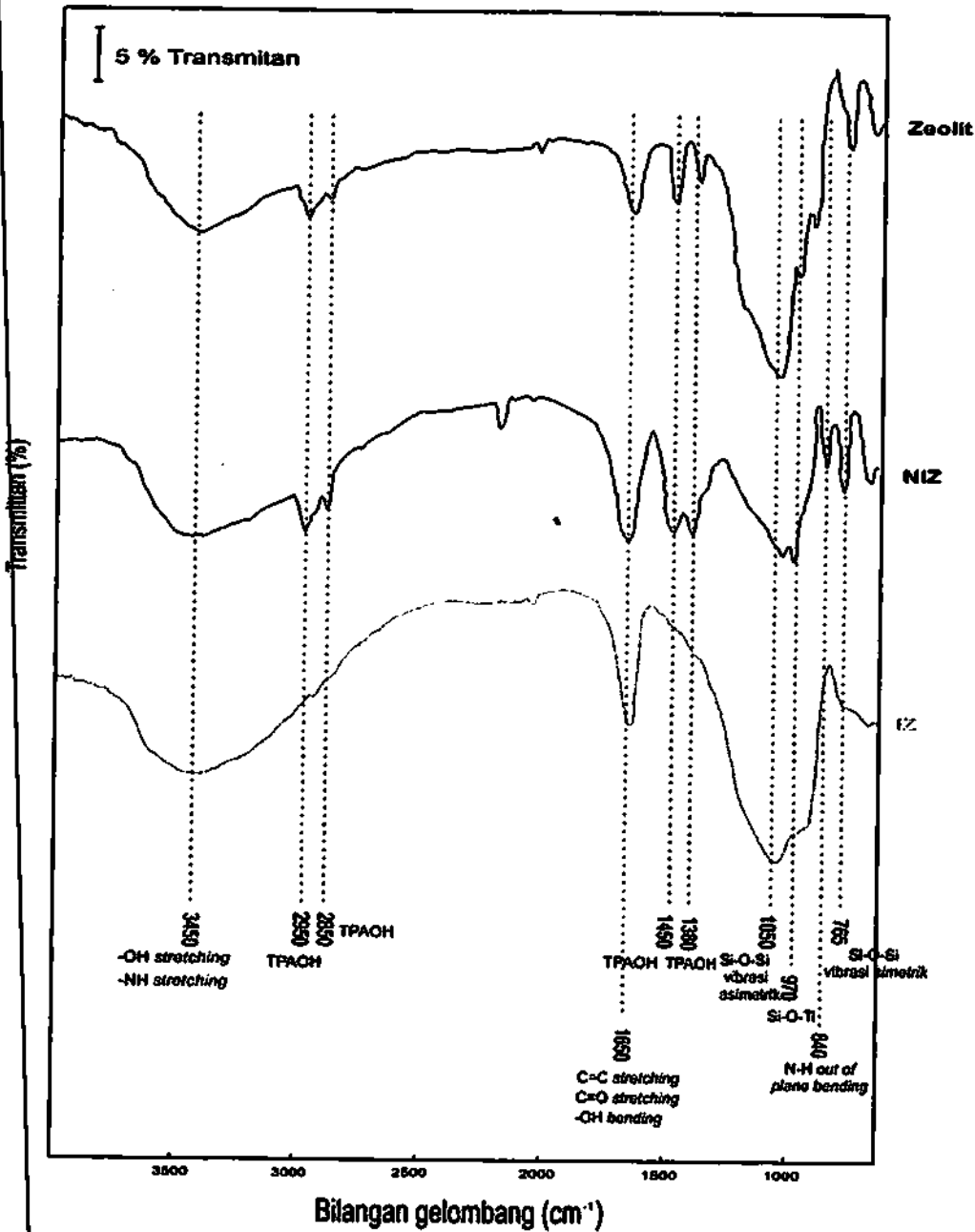
5.2.2 Karakterisasi dengan *Fourier transform infrared* (FTIR)

Karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi dalam zeolit, NIZ, dan IZ. Tabel 1 dan Gambar 5.4 menunjukkan data spektra FTIR dari zeolit, NIZ, dan IZ secara terpisah.

Spektra zeolit

Pada spektra IR zeolit tampak puncak pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , 1050 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} , 2950 cm^{-1} , dan 3450 cm^{-1} . Bilangan gelombang 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , dan 1050 cm^{-1} merupakan puncak khas dari zeolit. Puncak pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur simetrik Si-O-Si, bilangan gelombang 970 cm^{-1} mengindikasikan adanya titanium (Si-O-Ti) dalam kerangka zeolit, dan bilangan gelombang 1050 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur asimetrik Si-O-Si. Bilangan gelombang 1380 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} , dan 2950 cm^{-1} merupakan puncak dari TPAOH. Bilangan gelombang 3450 cm^{-1}

merupakan puncak vibrasi simetrik-asimetri O-H dari H₂O (Bosman, 1995) dan bilangan gelombang 1650 cm⁻¹ merupakan puncak dari -OH *bending* yang teradsorpsi.



Gambar 5.4 Spektra FTIR zeolit, NIZ, dan IZ

Spektra NIZ

NIZ merupakan zeolit yang di dalamnya mengandung sejumlah asam urat. Pada spektra NIZ teramati puncak pada bilangan gelombang 765; 850; 970; 1050; 1380; 1450; 1650; 2850; 2950 dan 3450 cm⁻¹. Puncak pada bilangan gelombang 765; 970 dan

1050 cm^{-1} merupakan puncak dari zeolit; bilangan gelombang 1380; 1450; 2850 dan 2950 cm^{-1} , merupakan puncak dari TPAOH; dan bilangan gelombang 840; 1650; dan 3450 cm^{-1} merupakan puncak dari senyawa asam urat. Spektra pada bilangan gelombang 840 cm^{-1} merupakan puncak dari N-H *out of bending*; pada 1380 cm^{-1} merupakan vibrasi *stretching* C-N; pada 1640 cm^{-1} merupakan vibrasi *stretching* C=C, vibrasi *stretching* C=O yang berasal dari asam urat, dan vibrasi *bending* O-H; dan pada bilangan gelombang 3450 cm^{-1} diduga merupakan vibrasi *stretching* N-H yang muncul berdekatan dengan puncak dari vibrasi *stretching* -OH sehingga tidak dapat dipastikan puncak yang ada pada bilangan gelombang tersebut merupakan puncak vibrasi *stretching* -OH atau puncak vibrasi *stretching* N-H. Jika dilihat dari harga transmittan pada bilangan gelombang tersebut.

Spektra IZ

Imprinting zeolit (IZ) adalah zeolit yang sudah tidak mengandung asam urat. Puncak yang muncul pada spektra IZ yaitu puncak khas zeolit yaitu pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} dan 1050 cm^{-1} . Pada spektra IZ, puncak asam urat pada bilangan gelombang 840 cm^{-1} dan 1380 cm^{-1} sudah tidak terdeteksi, intensitas puncak pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} juga berkurang. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa pada IZ telah terbentuk cetakan asam urat yang berasal dari NIZ dengan indikasi asam urat dan TPAOH sudah terlepas dari kerangka zeolit meskipun belum terekstraksi secara sempurna (masih ada puncak -C=O).

Tabel 5.1 Bilangan gelombang spektra FTIR hasil karakterisa zeolit, NIZ, dan IZ

Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Gugus Fungsi
Zeolit	NIZ	IZ	
765	765	765	Vibrasi <i>stretching</i> simetrik Si-O-Si
-	840	-	Vibrasi <i>bending</i> N-H <i>out of plane</i> dari asam urat
970	970	-	Vibrasi <i>stretching</i> Si-O-Ti
1050	1050	1050	Vibrasi <i>stretching</i> asimetrik Si-O-Si
1380	1380	-	• Vibrasi <i>stretching</i> C-N
1450	1450	-	• <i>Bending</i> CH ₂ dari kation TPA ⁺ • <i>Stretching</i> C=C dari asam urat
-	1650	1650	• Vibrasi <i>stretching</i> C=O dari asam urat
2850-2950	2850-2950	-	<i>Stretching</i> asimetri dan simetri CH dari kation TPA ⁺
3450	3450	3450	• <i>Stretching</i> -OH dari SiOH, TiOH, H ₂ O, dan TPAOH • <i>Stretching</i> NH dari asam urat

5.3 Analisis Asam Urat secara voltammetri Lucutan menggunakan Elektroda GC

Asam urat merupakan salah satu senyawa elektroaktif sehingga dapat dianalisis menggunakan metode voltammetri. Untuk diperoleh kondisi optimum pada analisis asam urat secara voltammetri dengan elektroda GC, maka dilakukan beberapa optimasi, yaitu optimasi potensial deposisi, waktu deposisi, dan pH larutan asam urat.

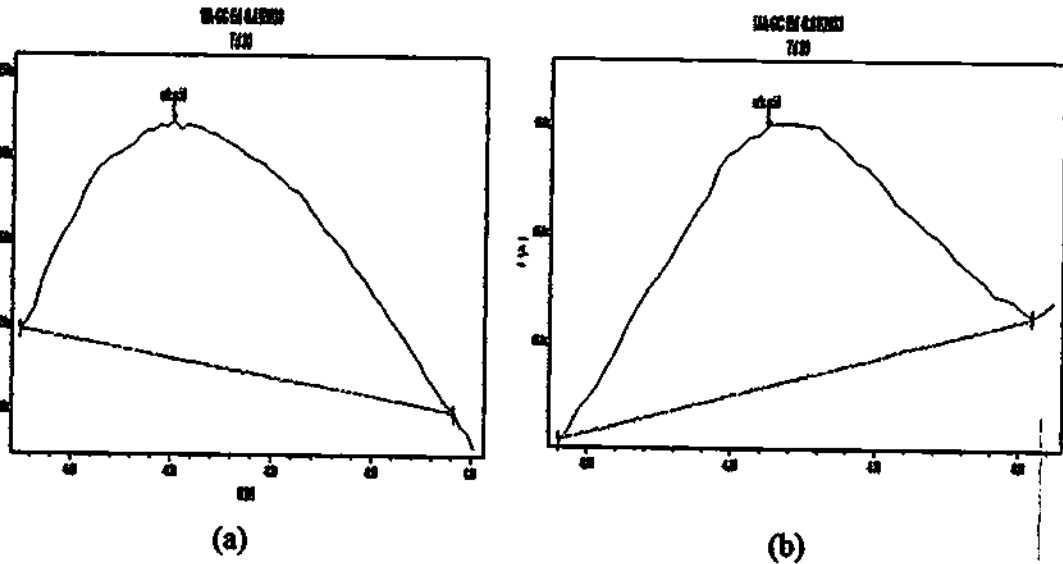
Optimasi potensial deposisi dilakukan untuk mengetahui potensial optimum dari asam urat sehingga dapat terdeposisi pada permukaan elektroda GC. Hal ini berpengaruh pada selektivitas dalam analisis (Wang, 2000). Larutan asam urat yang digunakan pada optimasi parameter tersebut adalah larutan asam urat dengan konsentrasi 4,76 ppb dengan penambahan larutan KNO_3 0,02 M. Larutan KNO_3 ini merupakan larutan elektrolit yang berfungsi untuk meminimalkan arus migrasi karena arus tersebut merupakan arus yang tidak diharapkan. Data hasil optimasi potensial deposisi larutan asam urat 4,76 ppb menggunakan elektroda GC ditampilkan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Data hasil optimasi potensial deposisi asam urat pada elektroda GC

No	Potensial deposisi (mV)	Arus (μA)	Potensial puncak (V)	Lebar dasar puncak (mV)	Kemiringan <i>baseline</i>
1.	-1,0	0,6246	-0,324	1,8	10°
2.	-0,9	1,023	-0,404	2,4	16°
3.	-0,8	1,537	-0,383	2,9	6°
4.	-0,7	2,065	-0,342	2,3	18°
5.	-0,6	2,412	-0,376	3,2	10°
6.	-0,5	2,398	-0,376	3,2	18°
7.	-0,4	2,830	-0,299	4,8	6°
8.	-0,3	2,313	-0,356	3,5	26°
9.	-0,2	2,239	-0,342	7	12°
10.	-0,1	1,744	-0,362	2,8	3°
11.	0	2,121	-0,369	2,9	10°
12.	0,1	1,763	-0,356	2,8	15°
13.	0,2	1,757	-0,354	3,2	1°
14.	0,3	1,318	-0,361	2,5	27°
15.	0,4	1,334	-0,333	3	15°
16.	0,5	1,583	-0,354	2,5	18°
17.	0,6	1,425	-0,320	3,2	17°
18.	0,7	1,042	-0,354	2	32°
19.	0,8	2,082	-0,347	3,5	13°
20.	0,9	1,434	-0,354	3	18°
21.	1,0	1,953	-0,354	2,8	14°

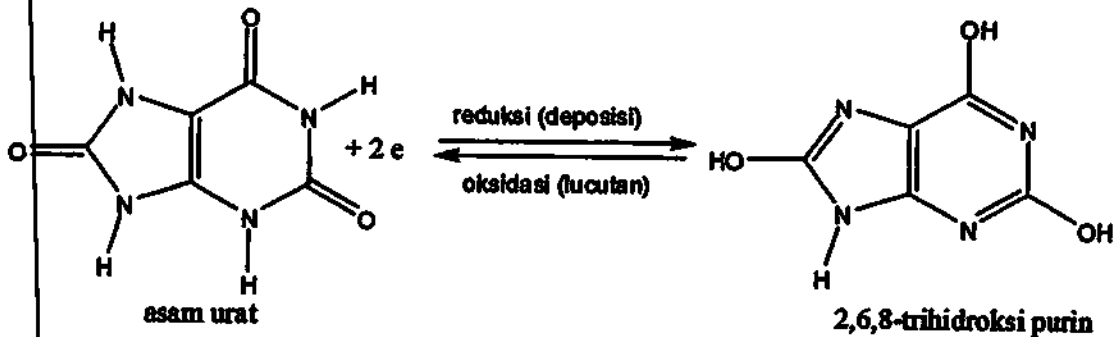
Berdasarkan Tabel 5.2, terlihat bahwa nilai arus tertinggi didapatkan dari potensial deposisi (E_d) -0,4 V. Namun pada E_d tersebut dihasilkan *baseline* (lebar dasar

puncak) yang sangat besar sehingga dipilih E_d -0,6 V sebagai potensial deposisi dengan pertimbangan nilai arus yang cukup tinggi, lebar dasar puncak yang lebih sempit, dan kemiringan *baseline* yang kecil pula. Potensial puncak asam urat teramati pada -0,376 V dengan arus sebesar 2,412 μ A. Gambar 5.5 menunjukkan voltammogram asam urat konsentrasi 4,76 ppb pada E_d -0,4 V dan -0,6 V.



Gambar 5.5 Voltammogram asam urat pada E_d -0,4 V (a) dan -0,6 V (b) menggunakan elektroda GC

Potensial deposisi asam urat bernilai lebih negatif dibandingkan potensial puncak lucutannya, dengan demikian terjadi reaksi reduksi pada saat deposisi dan saat lucutan terjadi reaksi oksidasi. Reaksi redoks asam urat pada permukaan elektroda GC ditampilkan pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6 Reaksi deposisi dan lucutan asam urat pada permukaan elektroda

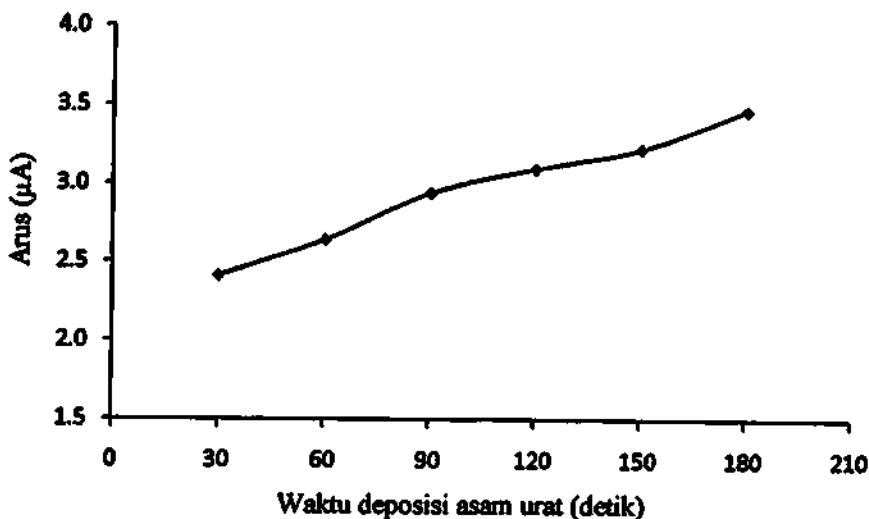
Dengan demikian teknik voltametri untuk analisis asam urat dengan elektroda GC pada penelitian ini tergolong voltametri lucutan anodik. Pada voltametri lucutan anodik terjadi reaksi reduksi pada saat deposisi dan terjadi reaksi oksidasi saat lucutan.

Selain optimasi potensial deposisi, optimasi waktu deposisi dan pH larutan asam urat juga penting untuk mendapatkan hasil yang optimum. Optimasi waktu optimum dilakukan untuk mengetahui pada waktu berapa analit terdeposisi dengan baik pada permukaan elektroda GC. Sedangkan pH optimum menunjukkan pada pH berapa analit dapat terukur dengan arus yang tinggi.

Optimasi waktu divariasikan dari 30-180 detik dengan interval 30 detik pada potensial deposisi (E_d) -0,6 V. Berdasarkan penelitian ini, waktu optimum untuk asam urat dapat terdeposisi dengan baik pada permukaan elektroda GC adalah selama 150 detik. Pertimbangan yang dilakukan adalah karena pada waktu tersebut dihasilkan arus yang tinggi yaitu sebesar 3,225 μA dengan lebar dasar puncak yang tidak terlalu lebar dan memiliki kemiringan *baseline* yang kecil. Dari optimasi waktu deposisi didapatkan data yang ditampilkan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Data hasil optimasi waktu deposisi asam urat menggunakan elektroda GC

No	Waktu (detik)	Arus (μA)	Peak potensial (V)	Lebar dasar puncak (mV)	Kemiringan <i>baseline</i>
1.	30	2,412	-0,376	2,5	10°
2.	60	2,646	-0,378	4,3	18°
3.	90	2,943	-0,358	4,3	8,5°
4.	120	3,099	-0,365	5	1°
5.	150	3,225	-0,358	4,5	1°
6.	180	3,475	-0,344	5,8	1°

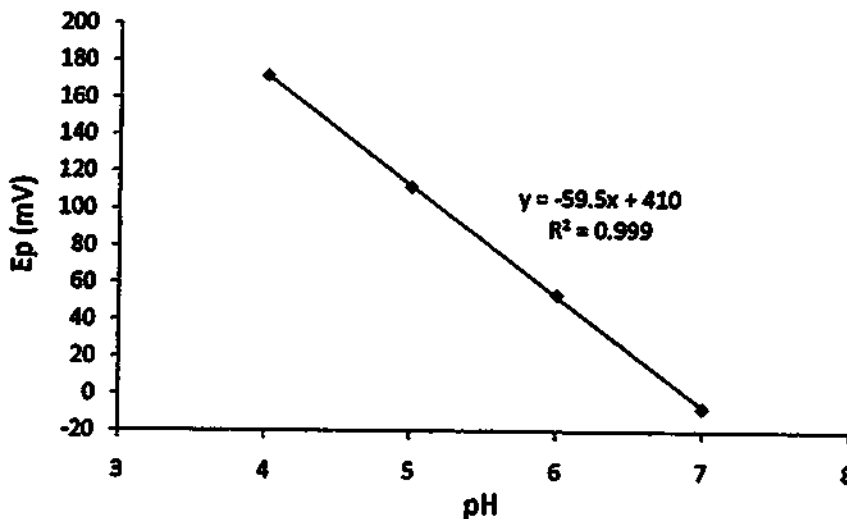


Gambar 5.7 Kurva hubungan antara waktu deposisi asam urat dengan arus

Optimasi pH untuk analisis asam urat 4,76 ppb dilakukan pada E_d -0,6 V selama 150 detik. Variasi pH yang digunakan pada penelitian ini adalah pH 4-7. Pada optimasi pH, tidak didapatkan voltammogram asam urat yang bagus pada berbagai kondisi pH. Voltammogram yang dihasilkan tidak sebgus voltammogram hasil analisis asam urat tanpa penambahan larutan bufer. Hal ini menandakan bahwa asam urat telah terdeposisi dengan baik tanpa adanya bufer. Data optimasi pH larutan asam urat ditampilkan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Data hasil optimasi pH larutan asam urat menggunakan elektroda GC

No	pH	Arus (μA)	Peak potensial (V)	Panjang base line (satuan)	Kemiringan base line
1.	4	1,0322	0,172	4	7°
2.	5	1,0254	0,112	3,5	9°
3.	6	1,1751	0,054	4	11°
4.	7	2,2531	-0,007	3,5	11°



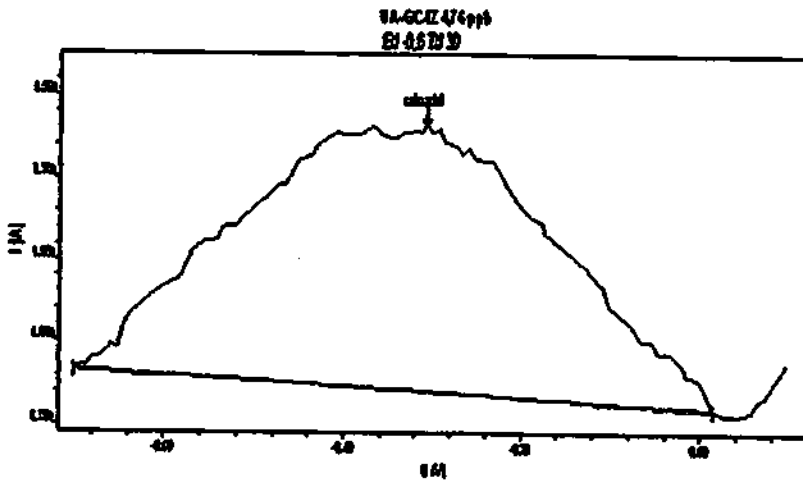
Gambar 5.8 Kurva hubungan antara pH dan potensial puncak lucutan (E_p) asam urat

Kurva hubungan antara pH larutan dan potensial puncak lucutan asam urat menghasilkan slope sebesar -59,5 mV. Hal ini menjelaskan bahwa reaksi redoks asam urat pada permukaan sensor GC-IZ melibatkan 2 elektron dan 2 proton (H^+), seperti yang telah dijelaskan pada reaksi Gambar 5.6.

5.4 Pelapisan *Imprinting* Zeolit pada Elektroda GC

Cairan *imprinting* zeolit (IZ) yang digunakan pada penelitian ini dibuat dengan menambahkan air pada padatan IZ sehingga sebelum dilakukan analisis tidak dilakukan pelapisan IZ pada elektroda GC melainkan pelapisan tersebut dilakukan secara *in-situ*,

artinya asam urat dan IZ berada dalam satu larutan. Dari penelitian ini diperoleh potensial puncak asam urat menggunakan sensor GC-IZ sebesar -0,356 V pada E_d -0,6 V dan waktu pelapisan 30 detik dengan arus sebesar 630,8 nA. Gambar 5.9 menampilkan voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ.

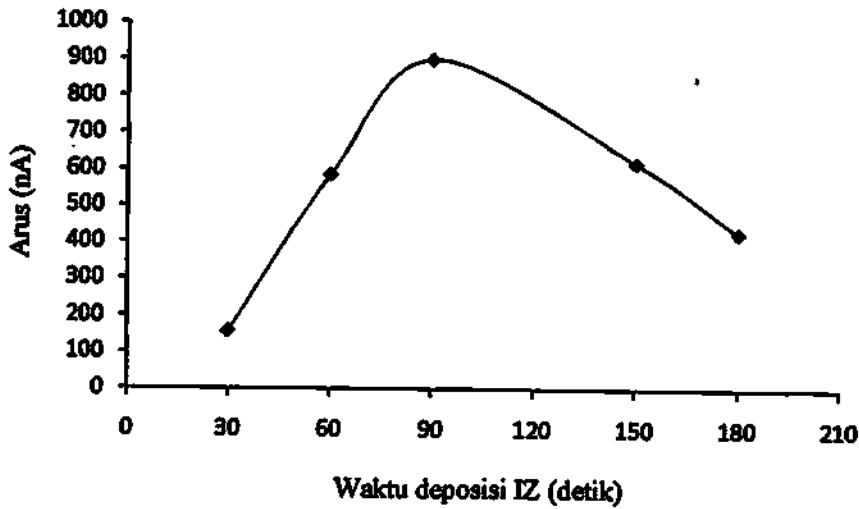


Gambar 5.9 Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ

Untuk mengkondisikan modifikasi elektroda ini pada kondisi yang optimal, maka dilakukan optimasi waktu. Optimasi waktu dilakukan pada rentang waktu 30-180 detik dengan interval 30 detik pada E_d -0,6 V. Data hasil optimasi waktu pelapisan IZ pada elektroda GC ditampilkan pada Tabel 5.5.

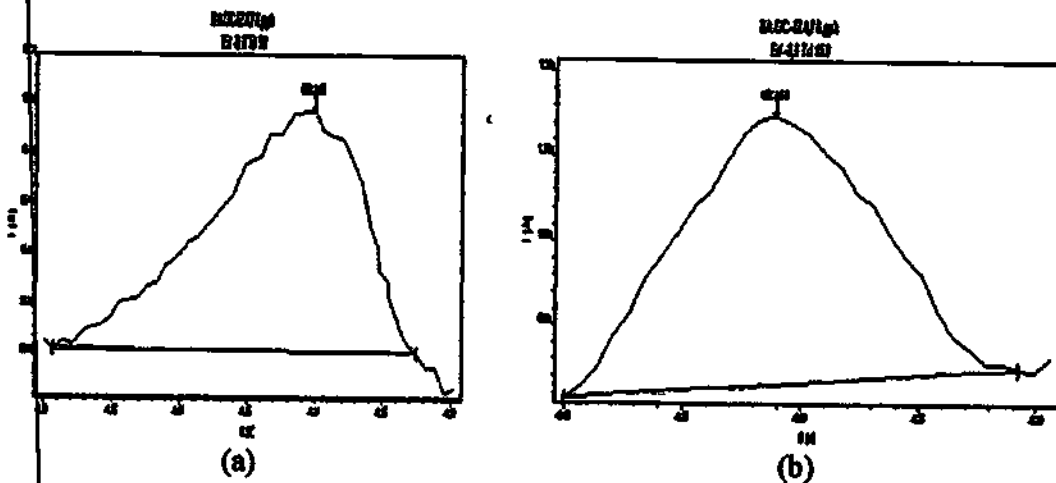
Tabel 5.5 Data hasil optimasi waktu pelapisan IZ pada elektroda GC

No	Waktu (detik)	Arus (nA)	Arus rata-rata (nA)	KV (%)
1.	30	150,7	157,5	3,892
		159,2		
		162,6		
2.	60	541,2	585,7	6,682
		600,3		
		615,2		
3.	90	832,4	901,6	7,356
		907,8		
		964,6		
4.	120	336,7	384,5	11,541
		392,3		
		424,4		
5.	150	607,5	619,9	1,891
		621,4		
		630,8		
6.	180	397,6	427,2	7,226
		424,8		
		459,2		



Gambar 5.10 Kurva hubungan waktu pelapisan IZ dan arus pada analisis asam urat 4,76 ppb dengan E_d -0,6 V

Kurva hubungan antara waktu pelapisan IZ terhadap arus asam urat ditampilkan pada Gambar 5.10. Dari kurva tersebut dapat dilihat bahwa pada waktu pelapisan selama 90 detik menghasilkan arus yang paling tinggi, namun menghasilkan nilai KV yang cukup besar. Dibandingkan dengan waktu pada pelapisan selama 90 detik, pelapisan selama 150 detik memiliki KV yang sangat kecil. Semakin besar nilai KV, maka pengukuran keterulangan semakin tidak teliti. Data ini digunakan sebagai pertimbangan waktu optimum pelapisan.



Gambar 5.11 Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ pada waktu deposisi (a) 90 detik dan (b) 150 detik

Selain itu berdasarkan voltammogramnya, analisis asam urat pada pelapisan IZ selama 150 detik menghasilkan voltammogram yang lebih bagus, memiliki lebar dasar puncak yang lebih kecil, dan kemiringan *baseline* yang lebih kecil dibandingkan voltammogram analisis asam urat pada pelapisan IZ selama 90 detik. Oleh karena itu dipilih waktu pelapisan IZ yang optimum pada waktu 150 detik. Gambar 5.11 memperlihatkan perbedaan voltammogram asam urat menggunakan GC-IZ pada optimasi waktu 90 detik dan 150 detik. Hasil ini sangat sesuai dengan hasil optimasi waktu deposisi asam urat pada permukaan elektroda GC (sub bab 5.3). Pelapisan IZ pada permukaan elektroda GC dilakukan secara *in situ* sehingga pelapisan IZ dilakukan bersamaan dengan deposisi asam urat.

5.5 Uji kinerja sensor GC-IZ

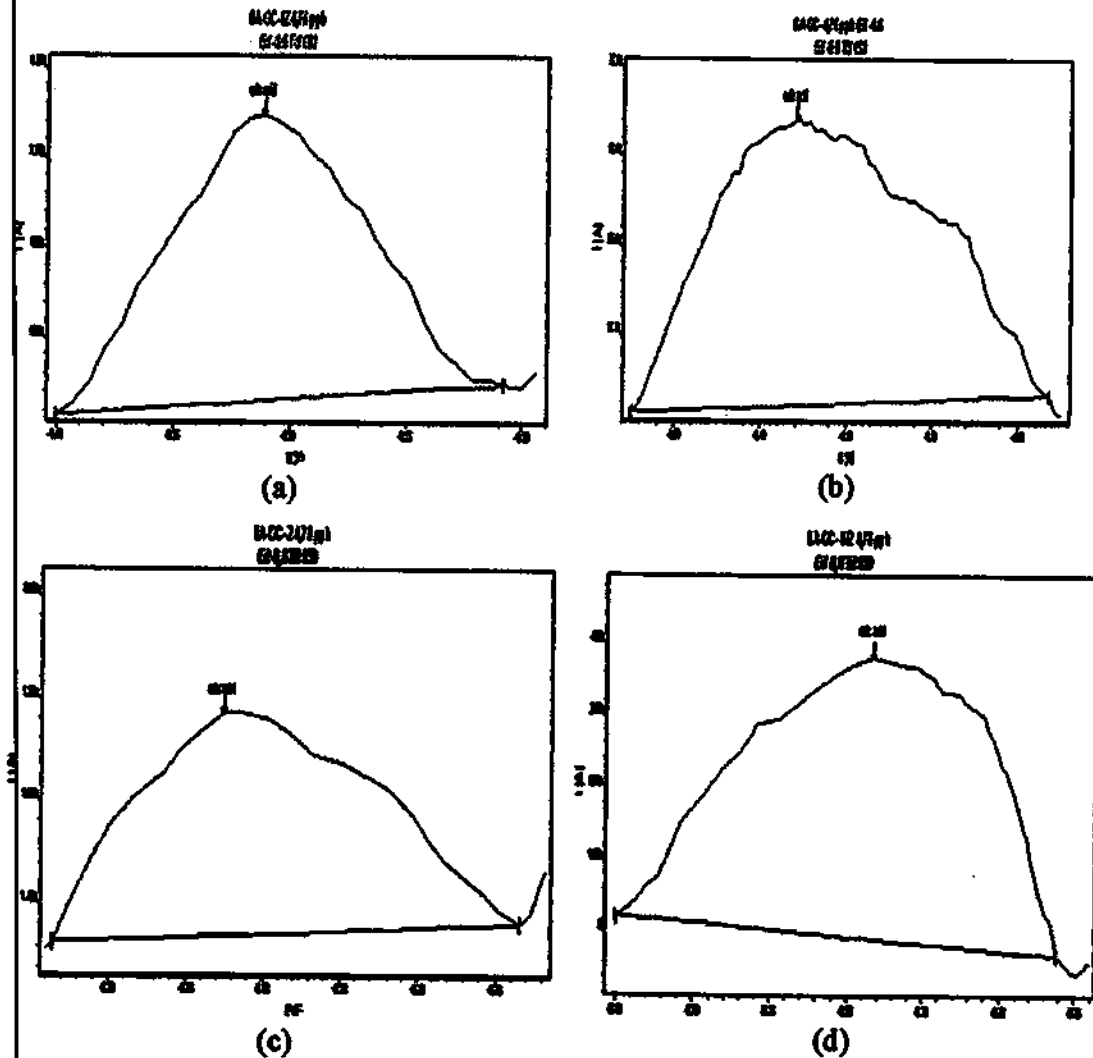
Sensor GC-IZ yang telah dibuat diuji kinerjanya secara voltametri dengan cara membandingkan hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ dengan hasil analisis asam urat menggunakan elektroda GC, GC-Z, dan GC-NIZ secara voltametri lucutan. Uji kinerja secara voltametri lucutan dilakukan dalam kondisi yang optimum dan sama untuk semua parameter (potensial dan waktu deposisi) agar hasil pengukuran juga optimal. Tabel 5.6 menampilkan hasil uji kinerja sensor GC-IZ, GC, GC-Z, dan GC-NIZ pada potensial deposisi IZ -0,6 V selama 150 detik.

Tabel 5.6 Data hasil uji kinerja sensor GC-IZ, GC, GC-Z, dan GC-NIZ secara voltametri

Jenis sensor	Arus (nA)	Arus rata-rata (nA)	KV (%)
GC-IZ	607,5	619,9	1,891
	621,4		
	630,8		
GC	2965	3082,0	4,281
	3056		
	3225		
GC-Z	431,7	489,6	13,443
	476,0		
	561,2		
GC-NIZ	3234	3643,7	10,167
	3742		
	3955		

Tabel 5.6 memperlihatkan bahwa arus tertinggi dihasilkan dari analisis asam urat menggunakan sensor GC-NIZ, kemudian diikuti oleh elektroda GC, GC-IZ, dan GC-Z. Harga KV terendah dihasilkan dari analisis asam urat menggunakan GC-IZ

diikuti dengan hasil analisis menggunakan elektroda GC, GC-NIZ, dan GC-Z. Data tersebut menunjukkan bahwa analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ memiliki keterulangan yang bagus dibandingkan ketiga elektroda lainnya.



Gambar 5.12 Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor (a) GC-IZ, (b) GC, (c) GC-Z, dan (d) GC-NIZ

Analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan sensor GC-Z menghasilkan arus terendah dibandingkan elektroda lainnya. Hal ini dikarenakan permukaan elektroda GC terlapisi oleh lapisan zeolit. Zeolit ini memiliki pori yang tidak dikondisikan sesuai dengan analit sehingga asam urat tidak dapat melewati lapisan IZ untuk terdeposisi pada permukaan elektroda GC. Analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ menghasilkan arus yang rendah namun tidak serendah bila menggunakan sensor GC-Z. Hal ini dikarenakan lapisan zeolit membentuk pori yang telah tercetak

oleh asam urat sehingga molekul asam urat dapat berdifusi melalui pori IZ menuju permukaan elektroda GC.

Pada analisis asam urat ini, arus tertinggi dihasilkan dengan menggunakan sensor GC-NIZ. Pada NIZ, terdapat asam urat yang telah menempati pori zeolit. Selama proses analisis, terjadi proses reduksi oksidasi sehingga asam urat terlepas dari kerangka zeolit dan memberikan sinyal arus sehingga menambah sinyal arus asam urat dalam larutan. Hal inilah yang menyebabkan sensor GC-NIZ tidak dapat digunakan untuk analisis asam urat dengan tepat. Sedangkan analisis asam urat menggunakan elektroda GC tidak termodifikasi menghasilkan arus yang tinggi dibandingkan bila menggunakan elektroda GC-Z dan GC-IZ. Hal ini dikarenakan luas permukaan elektroda untuk kontak dengan asam urat pada elektroda GC lebih besar jika dibandingkan pada sensor termodifikasi. Analisis tersebut didukung dengan data isoterm adsorpsi-desorpsi N_2 seperti yang tertera pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil analisis permukaan dan pori IZ, Z, dan NIZ

Permukaan dan pori	Material		
	IZ	Z	NIZ
Volume pori (cc/g)	0,599	0,233	0,006
Diameter pori (nm)	2,186	3,836	31,179
Luas permukaan (m^2/g)	226,614	473,561	0,208

Material Z memiliki diameter pori 3,836 nm, sedangkan material IZ memiliki diameter pori 2,186 nm. Perbedaan ukuran pori menyebabkan analisis asam urat menggunakan GC-Z memberikan sinyal arus lebih rendah daripada GC-IZ. Dengan ukuran pori yang lebih besar, molekul asam urat lebih mudah bergerak dalam larutan dan sulit terperangkap pada pori zeolit, akibatnya arus yang dihasilkan menjadi kecil. Berbeda dengan GC-Z, GC-IZ memberikan sinyal arus yang lebih besar karena ukuran pori material IZ yang kecil memudahkan asam urat terjebak ke dalam pori.

Analisis menggunakan GC-NIZ memberikan sinyal arus paling besar karena sebagian besar pori zeolit telah tertutup oleh asam urat. Ini dibuktikan dengan rendahnya luas permukaan dan volume pori NIZ yaitu sebesar $0,208 m^2/g$ dan $0,006 cc/g$. Data pada Tabel 5.7 yang menyatakan bahwa material NIZ memiliki diameter pori sebesar 31,179 nm merupakan data ukuran pori dari beberapa pori zeolit yang belum tertutup oleh asam urat. Hal ini didukung dengan data *BJH (Barret-Joyner-Halenda) Pore Size Distribution* yang tertera pada Tabel 5.8. Data lengkap hasil analisis menggunakan BET/BJH ditampilkan pada Lampiran 5.

Tabel 5.8 Hasil analisis *BJH pore size distribution* NIZ

Diameter (nm)	dV(d) [cc/nm/g]	Diameter (nm)	dV(d) [cc/nm/g]
1,6825	0,0000	4,9028	0,0000
1,9305	0,0000	5,6004	0,0000
2,1803	0,0000	6,5222	0,0000
2,4549	0,0000	7,7548	0,0000
2,7409	0,0000	9,5106	0,0000
3,0585	0,0000	12,2561	0,0000
3,4151	0,0000	17,3776	0,0000
3,8331	0,0000	31,1793	$4,6493 \times 10^{-3}$
4,3384	0,0000	173,5537	$4,2121 \times 10^{-4}$

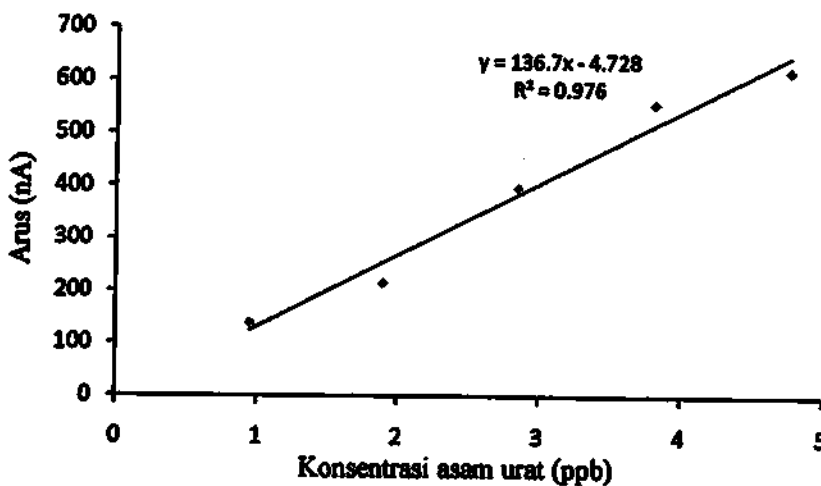
Berdasarkan voltammogram hasil analisis asam urat dengan keempat elektroda, voltammogram yang paling bagus adalah voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ. Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan elektroda GC juga menghasilkan voltammogram yang bagus tetapi memiliki lebar puncak dasar yang lebih besar bila dibandingkan dengan menggunakan sensor GC-IZ pada analisis asam urat. Voltammogram hasil analisis asam urat menggunakan sensor GC-Z dan GC-NIZ menghasilkan voltammogram yang tidak bagus dan memiliki lebar puncak dasar yang besar. Gambar 5.12 memperlihatkan perbedaan voltammogram asam urat menggunakan elektroda GC, GC-Z, GC-NIZ, dan GC-IZ.

5.6 Pembuatan Kurva Baku Asam Urat

Pembuatan kurva baku dilakukan untuk mengamati perubahan arus terhadap konsentrasi asam urat yang nantinya dapat digunakan untuk mengetahui kadar asam urat pada sampel melalui persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva baku tersebut. Konsentrasi larutan baku asam urat yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,95 ppb sampai 4,76 ppb. Pada setiap konsentrasi asam urat yang dianalisis dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Tabel 5.9 menampilkan data arus dari larutan baku asam urat hasil analisis menggunakan sensor GC-IZ pada potensial deposisi -0,6 V selama 150 detik.

Tabel 5.9 Data hasil pengukuran arus larutan baku asam urat

Konsentrasi asam urat (ppb)	Arus (nA)	Arus rata-rata (nA)	KV (%)
0,95	128,2	138,3	7,649
	137,4		
	149,3		
1,90	207,3	216,2	5,162
	212,5		
	228,7		
2,85	354,3	397,4	5,662
	386,3		
	397,7		
3,81	536,6	556,3	3,850
	553,2		
	579,1		
4,76	607,5	619,9	1,891
	621,4		
	630,8		



Gambar 5.13 Kurva baku asam urat

Dari kurva baku asam urat (Gambar 5.13) diperoleh persamaan regresi $y = 136.7x - 4.728$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9834. Dapat dilihat dari kurva tersebut bahwa semakin tinggi konsentrasi asam urat, maka semakin tinggi pula arus yang dihasilkan.

5.7 Uji Validitas Metode

Validasi metode digunakan untuk mengetahui kelayakan dari metode yang digunakan. Validasi metode pada pengukuran asam urat secara voltametri lucutan pada penelitian ini meliputi linieritas, ketelitian, sensitivitas, batas deteksi, dan akurasi.

5.7.1 Linieritas

Linieritas antara konsentrasi asam urat dengan respon arus yang terukur dapat ditentukan dari harga koefisien korelasi (r) persamaan regresi kurva baku asam urat. Linieritas dikatakan baik jika koefisien korelasinya mendekati 1 (Miller and Miller, 1988). Berdasarkan kurva baku asam urat diperoleh nilai koefisien korelasi sebesar 0,9834. Untuk mengetahui apakah ada hubungan linier antara konsentrasi terhadap arus, maka dilakukan uji-t. Dari uji-t ini diperoleh $t_{hitung} = 6,3846$, sedangkan t_{tabel} sebesar 2,920. Data t_{hitung} yang lebih besar dari pada t_{tabel} menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi larutan baku asam urat terhadap arus yang dihasilkan.

5.7.2 Presisi (ketelitian)

Uji presisi digunakan untuk mengetahui seberapa dekat hasil antar pengukuran yang dilakukan secara berulang-ulang pada kondisi yang sama. Untuk memperoleh nilai presisi, maka pengukuran larutan baku asam urat menggunakan sensor GC-IZ dilakukan tiga kali pengulangan. Dari pengukuran tersebut diperoleh data arus rata-rata, nilai standar deviasi dan koefisien variasi (KV). Data pengukuran larutan baku dengan tiga kali pengulangan ditampilkan pada Tabel 5.7.

Ketelitian hasil pengukuran dikatakan tinggi apabila nilai KV yang dihasilkan dari analisis asam urat secara berulang bernilai kecil. Dari penelitian ini, pengukuran larutan asam urat 4,76 ppb memiliki presisi yang baik karena memiliki KV yang kecil yaitu 1,891%, sedangkan pengukuran larutan asam urat 0,95 ppb memiliki KV yang besar yaitu 7,649%. Rendahnya nilai konsentrasi tersebut menyebabkan hasil pengukuran berulang memiliki perbedaan arus yang besar. Presisi suatu metode dikatakan memenuhi syarat keberterimaan jika nilai KV lebih kecil dari $2/3KV_{Horwitz}$. Metode analisis asam urat menggunakan sensor termodifikasi pada penelitian ini memberikan presisi yang lebih kecil dari $2/3KV_{Horwitz}$ (30% untuk konsentrasi level ppb atau 10^{-9} M) (Harmita, 2004; Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006). Dengan demikian nilai presisi hasil penelitian ini memenuhi syarat keberterimaan.

5.7.3 Sensitivitas

Suatu metode pengukuran dikatakan sensitif apabila perubahan konsentrasi analit yang kecil menghasilkan perbedaan arus yang besar. Nilai sensitivitas dapat ditentukan melalui harga *slope* dari persamaan regresi kurva baku asam urat. Dari persamaan regresi kurva baku asam urat didapatkan nilai *slope* sebesar 136,7. Nilai *slope* tersebut menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi sebesar 0,95 ppb

menghasilkan perubahan arus sebesar 136,7 nA. Elektroda GC yang digunakan pada penelitian ini memiliki diameter 3 mm, dengan demikian memiliki luas permukaan 0,071 cm². Dengan mengasumsikan bahwa luas permukaan sensor GC-IZ sama dengan GC, maka diperoleh nilai sensitivitas metode analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ 2,0 $\mu\text{A/ppb/cm}^2$ (0,33 $\mu\text{A/nM/cm}^2$). Nilai sensitivitas ini lebih rendah jika dibandingkan menggunakan elektroda GC dan GC-cetakan molekul yang telah dikembangkan sebelumnya (Khasanah, 2012).

5.7.4 Batas deteksi

Batas deteksi yang dihasilkan dari analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ pada penelitian ini sebesar 0,996 ppb ($5,9 \cdot 10^{-9}$ M). Nilai batas deteksi ini lebih rendah dari nilai batas deteksi yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yang menggunakan elektroda GC termodifikasi pereaksi kimia/polimer (Zare *et al.*, 2005; Lin dan Jin, 2005; Zare *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2006; Lin dan Li, 2006; Wei *et al.*, 2006) (Tabel 5.8); pasta karbon termodifikasi zeolit terdoping Fe³⁺ yaitu $8,0 \cdot 10^{-8}$ M (Babaei *et al.*, 2008) dan namun lebih tinggi dari nilai batas deteksi menggunakan elektroda GC termodifikasi polimer cetakan molekul (GC-cetakan molekul) (Khasanah *et al.*, 2010^b). Data nilai batas deteksi beberapa metode analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda GC termodifikasi ditampilkan pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Nilai batas deteksi metode analisis asam urat menggunakan sensor berbasis GC

Sensor	Batas deteksi (M)	Pustaka
GC-norepinefrin	$1,0 \cdot 10^{-5}$	Zare <i>et al.</i> , 2005
GC-propionilkolin	$2,0 \cdot 10^{-5}$	Lin dan Jin, 2005
GC-oracet blue	$4,0 \cdot 10^{-7}$	Zare <i>et al.</i> , 2006
GC-poli-asam kafeat	$6,0 \cdot 10^{-7}$	Ren <i>et al.</i> , 2006
GC-hidroksi triptofan	$2,8 \cdot 10^{-7}$	Lin dan Li, 2006
GC-CeO	$2,0 \cdot 10^{-7}$	Wei <i>et al.</i> , 2006
GC-cetakan molekul	$1,6 \cdot 10^{-9}$	Khasanah <i>et al.</i> , 2010 ^b
GC-zeolit	$5,9 \cdot 10^{-9}$	Penelitian ini

Nilai batas deteksi yang diperoleh dari penelitian sekitar 10^4 kali lebih rendah jika dibandingkan menggunakan metode spektrofotometri ($1,2 \cdot 10^{-5}$ M). Dengan nilai batas deteksi yang rendah tersebut, maka dapat dilakukan deteksi asam urat di dalam tubuh secara dini dengan jumlah sampel yang sangat sedikit (level μL).

5.7.5 Akurasi

Akurasi menyatakan seberapa dekat nilai pengukuran (C_p) terhadap nilai sebenarnya (K_s). Analisis sampel asam urat 4,76 ppb dengan metode voltametri lucutan menggunakan sensor GC-IZ memiliki akurasi sebesar 94,75%. Akurasi yang tinggi memiliki nilai yang mendekati 100% sehingga akurasi yang dihasilkan pada metode ini cukup baik. Nilai akurasi yang diperoleh dari penelitian ini sangat bagus dan memenuhi syarat keberterimaan (akurasi/recovery untuk konsentrasi ppb adalah 70-125%) (Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006).

5.7.6 Selektivitas

Salah satu kriteria metode analisis yang baik ditentukan oleh selektivitas metode, terutama jika digunakan untuk analisis suatu komponen yang berada dalam matriks yang kompleks. Asam urat di dalam sampel serum selalu berada bersama-sama dengan senyawa lain di antaranya asam askorbat, urea, kreatin dan kreatinin. Pada penelitian ini telah dipelajari interferensi yang disebabkan oleh senyawa yang memiliki struktur mirip dengan asam urat yaitu asam askorbat, kreatin dan kreatinin. Uji interferensi dilakukan untuk mengetahui selektivitas sensor GC-IZ terhadap asam urat. Dengan menggunakan elektroda GC tanpa dan dengan berbagai modifikasi menggunakan pereaksi kimia, analisis asam urat dalam sampel serum sangat diganggu oleh asam askorbat karena potensial puncak kedua senyawa tersebut berdekatan dan bahkan cenderung tumpangtuh (John, 2005; Premkumar dan Khoo, 2005).

Analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda HMD dan GC umumnya sangat diganggu oleh asam askorbat. Pada penelitian sebelumnya (Khasanah *et al.*, 2009) telah dilakukan uji pengaruh penambahan asam askorbat pada penentuan asam urat secara voltametri lucutan menggunakan elektroda HMD dan GC. Dari hasil penelitian tersebut, keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi sama dengan konsentrasi asam urat terbukti menyebabkan penurunan respon arus sebesar 24,96% untuk elektroda HMD dan 14,24% untuk elektroda GC. Gangguan tersebut menjadi jauh lebih kecil jika analisis asam urat dilakukan menggunakan elektroda HMD dan GC termodifikasi polimer cetakan molekul (Khasanah *et al.*, 2010^{a,b}). Pada penelitian ini digunakan zeolit tercetak molekul asam urat untuk memodifikasi elektroda GC pada analisis asam urat. Dengan demikian diharapkan analisis asam urat menggunakan sensor termodifikasi tersebut tidak diganggu oleh keberadaan matriks lain dalam sampel serum. Namun demikian, keberadaan senyawa lain yang struktur dan ukurannya hampir

sama atau lebih kecil dari molekul asam urat kemungkinan besar akan dapat mengganggu analisis asam urat. Asam askorbat, kreatin dan kreatinin adalah senyawa-senyawa yang struktur dan ukurannya mirip dengan asam urat, sehingga senyawa-senyawa tersebut kemungkinan akan mengganggu dalam analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan sensor GC-IZ.

Hasil penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa keberadaan asam askorbat dalam sampel serum mengganggu analisis asam urat menggunakan elektroda GC dan GCO (John, 2005; Premkumar dan Khoo, 2005). Gangguan tersebut disebabkan oleh kemiripan struktur dan sifat elektrik asam askorbat dengan asam urat. Pengaruh penambahan asam askorbat pada analisis asam urat secara voltametri menggunakan elektroda GC ditampilkan pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Data penyimpangan arus asam urat akibat penambahan asam askorbat menggunakan elektroda GC

Konsentrasi (M)		[UA]:[AA]	Rerata arus (μA)	Penurunan arus (%)
Asam urat	Asam askorbat			
$6,0 \times 10^{-9}$	0		83,44	
$6,0 \times 10^{-9}$	$3,0 \times 10^{-9}$	1:0,5	75,19	9,89
$6,0 \times 10^{-9}$	$6,0 \times 10^{-9}$	1:1	71,59	14,20
$6,0 \times 10^{-9}$	$3,0 \times 10^{-8}$	1:5	70,01	16,10
$6,0 \times 10^{-9}$	$6,0 \times 10^{-8}$	1:10	68,74	17,62

Data pada Tabel 5.11 tersebut menjelaskan bahwa asam askorbat sangat mengganggu analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan elektroda GC tanpa modifikasi. Dengan menggunakan elektroda GC tanpa modifikasi, keberadaan asam askorbat dengan konsentrasi sama dengan asam urat menyebabkan penurunan arus asam urat sebesar 14,20%. Namun jika menggunakan sensor GC-IZ hanya menyebabkan penurunan arus sebesar 3,49%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa sensor GC-IZ mempunyai selektivitas yang lebih tinggi (5 kali) daripada elektroda GC. Selektivitas yang tinggi tersebut disebabkan oleh bentuk cetakan pada zeolit yang hanya sesuai untuk asam urat. Sebagaimana dilaporkan, konsentrasi asam askorbat dalam sampel serum adalah sekitar $45,8 \mu\text{M}$ atau kira-kira sepersepuluh konsentrasi asam urat (Chen *et al.*, 2010). Berdasarkan data pada Tabel 5.12 dapat disimpulkan bahwa analisis asam urat secara voltametri lucutan menggunakan sensor

GC-IZ yang dikembangkan pada penelitian ini relatif tidak diganggu oleh asam askorbat.

Tabel 5.12 Data penyimpangan arus asam urat akibat penambahan asam askorbat menggunakan sensor GC-IZ

No	Konsentrasi (M)		[UA] : [AA]	Rerata arus (nA)	Kenaikan arus (%)
	Asam urat	Asam askorbat			
1	$5,0 \times 10^{-7}$	0	0	49,88	
2	$5,0 \times 10^{-7}$	$6,0 \times 10^{-7}$	1:1	51,63	3,49
3	$5,0 \times 10^{-7}$	$1,2 \times 10^{-6}$	1:2	52,10	4,44
4	$5,0 \times 10^{-7}$	$1,8 \times 10^{-6}$	1:3	53,17	6,59
5	$5,0 \times 10^{-7}$	$2,4 \times 10^{-6}$	1:4	53,40	7,06
6	$5,0 \times 10^{-7}$	$3,4 \times 10^{-6}$	1:5	54,44	9,14

Keterangan: [UA] = konsentrasi asam urat, [AA] = konsentrasi asam askorbat, $n = 3$

Secara hipotesis, ukuran molekul kreatin dan kreatinin hampir sama dengan asam urat. Kreatin dan kreatinin juga memiliki gugus fungsi yang mirip dengan asam urat yaitu gugus $-NH$ dan $-C=O$. Jika zeolit yang digunakan untuk melapisi elektroda GC mengandung cetakan molekul asam urat, maka dimungkinkan terjadinya gangguan kedua senyawa tersebut pada analisis asam urat. Untuk mempelajari pengaruh tersebut pada penelitian ini dilakukan penambahan kreatin dan kreatinin pada larutan asam urat.

Tabel 5.13 Data penambahan arus yang disebabkan oleh penambahan kreatin pada analisis asam urat menggunakan sensor GC dan GC-IZ

[UA]/[kreatin]	GC			GC-IZ		
	Arus (nA)	Penyimpangan arus (%)	KV (%)	Arus (nA)	Penyimpangan arus (%)	KV (%)
1:0	20,61		5,18	30,36		3,86
1:1	22,02	6,87	3,13	30,47	0,38	5,11
1:2	24,03	16,60	7,84	31,61	4,14	1,48
1:3	26,91	30,60	3,32	35,60	17,28	5,34
1:4	40,24	95,29	3,32	36,32	19,63	6,43
1:5	40,71	97,57	4,58	36,36	19,77	5,34

Keterangan: [UA] = konsentrasi asam urat = $5,0 \times 10^{-7}$ M, [kreatin] = konsentrasi kreatin, $n = 3$

Data pada Tabel 5.13 menjelaskan bahwa kreatin dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi asam urat dapat menyebabkan penyimpangan (kenaikan) arus sebesar 6,87%, sedangkan menggunakan sensor GC-IZ hanya menyebabkan penyimpangan sebesar 0,38%. Hal ini menunjukkan bahwa elektroda GC termodifikasi zeolit memiliki selektivitas terhadap asam urat sebesar 18 kali dibanding menggunakan elektroda GC. Analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ yang dikembangkan pada

penelitian ini tidak diganggu oleh kreatin karena konsentrasi normal kreatin dalam sampel serum adalah seperempat konsentrasi asam urat (Lakhmi *et al.*, 2007).

Data pada Tabel 5.14 menunjukkan bahwa kreatinin menurunkan respon arus asam urat. Dengan menggunakan elektroda GC analisis asam urat sangat diganggu oleh kreatinin. Keberadaan kreatinin dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi asam urat menurunkan respon arus sebesar 5,42%, sedangkan dengan GC-IZ hanya menurunkan arus sebesar 2,76%. Dengan demikian, sensor GC-IZ molekul terbukti sangat selektif terhadap asam urat yang berada dalam sampel yang mengandung kreatinin. Sebagaimana dilaporkan sebelumnya bahwa konsentrasi kreatinin dalam sampel serum adalah seperempat konsentrasi asam urat (Lakshmi *et al.*, 2006; 2007). Dengan demikian metode yang dikembangkan ini mempunyai selektivitas yang tinggi terhadap asam urat dalam matriks sampel yang mengandung kreatinin.

Tabel 5.14 Data penambahan arus yang disebabkan oleh penambahan kreatinin pada analisis asam urat menggunakan sensor GC dan GC-IZ

[UA]/[kreatinin]	GC			GC-IZ		
	Arus (nA)	Penyimpangan arus (%)	KV (%)	Arus (nA)	Penyimpangan arus (%)	KV (%)
1:0	82,38		2,63	19,33		1,77
1:1	86,85	5,42	3,60	19,86	2,76	0,94
1:2	92,78	12,62	0,49	20,20	4,52	6,30
1:3	97,99	18,95	0,44	20,29	5,00	5,85
1:4	103,63	25,79	0,44	20,64	6,81	7,23
1:5	105,83	28,46	3,04	20,56	6,38	7,75

Keterangan: [UA] = konsentrasi asam urat = $5,0 \times 10^7$ M, [kreatinin] = konsentrasi kreatinin, $n = 3$

5.8. Uji waktu hidup (*lifetime*) sensor

Seperti telah dijelaskan di sub bab 5.3, pada penelitian ini tidak dilakukan pelapisan IZ pada permukaan elektroda GC dengan prosedur terpisah sebelum dilakukan analisis asam urat. Asam urat dan IZ berada dalam larutan yang sama. Pelapisan IZ dilakukan secara bersamaan (*in situ*) dengan deposisi asam urat. Dengan demikian metode yang dikembangkan ini lebih sederhana dibandingkan metode modifikasi elektroda menggunakan pereaksi kimia/polimer. Dengan teknik *in situ* ini maka elektroda pendukung (GC) tidak mengalami kerusakan dan dapat digunakan untuk berkali-kali analisis. Namun setiap melakukan analisis terhadap larutan yang berbeda harus selalu ditambahkan IZ.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

- 1) Hasil karakterisasi menggunakan FTIR menunjukkan terbentuknya zeolit, IZ dan NIZ. Zeolit hasil sintesis merupakan jenis TS-1. Hasil analisis menggunakan XRD menunjukkan terbentuknya kerangka MFI dengan struktur ortorombik. Analisis menggunakan adsorpsi-desorpsi N₂ menunjukkan diameter pori zeolit sebesar 3,836 nm sedangkan IZ sebesar 2,186 nm.
- 2) Pelapisan IZ dilakukan secara *in situ* pada potensial dan waktu deposisi optimum masing-masing adalah -0,6 V dan 150 detik. Analisis dilakukan pada pH 7 tanpa penambahan buffer.
- 3) Validitas metode analisis asam urat secara voltametri menggunakan sensor GC-IZ meliputi nilai linieritas (*r*) sebesar 0,9834, presisi 1,89-7,65%, sensitivitas 2,0 $\mu\text{A/nM/cm}^2$, batas deteksi 0,996 ppb ($5,93 \cdot 10^{-9} \text{ M}$) dan akurasi 94,75%.
- 4) Sensor GC-IZ sangat selektif terhadap asam urat dalam matriks asam askorbat, kreatin dan kreatinin. Sensor GC-IZ lebih selektif 5, 18 dan 2 kali berturut-turut dalam matriks asam askorbat, kreatin dan kreatinin jika dibandingkan dengan sensor GC.
- 5) Sensor GC-IZ dapat digunakan untuk berkali-kali analisis (waktu hidup yang tinggi) namun diperlukan penambahan IZ untuk setiap sampel yang dianalisis.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai

- 1) Optimasi komposisi pembuatan dan lama kalsinasi zeolit agar diperoleh ukuran pori yang sesuai dengan ukuran molekul asam urat sehingga diperoleh sensor dengan selektivitas lebih tinggi.
- 2) Aplikasi sensor GC-IZ untuk analisis asam urat dalam sampel serum sehingga dapat diketahui pengaruh matriks lain yang berada dalam sampel serum (selain asam askorbat, kreatin dan kreatinin) terutama yang memiliki ukuran lebih kecil dari asam urat dan bersifat elektroaktif seperti urea dan glukosa.
- 3) Melakukan uji *recovery* dan uji perbandingan dengan metode analisis asam urat yang telah dianggap baku di bidang kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akyilmaz, E., Sezginurk, M. K. and Dinckaya E., 2003, A biosensor based on urate oxidase-peroxidase coupled enzyme system for uric acid determination in urine, *Talanta*, 61, 73-79.
- Alpat, S. K., Yuksel, U, and Akcay, H., 2005, Development of a novel carbon paste electrode containing a natural zeolite for the voltammetric determination of copper, *Electrochemistry Communication*, 7, 130-134
- Ardakani, M, M., Akrami, Z., Kazemian, H., and Zare, H. R., 2005, Electrocatalytic characteristics of uric acid oxidation at graphite-zeolite modified electrode doped with iron (III), *Electroanal. Chem.*, 586, 31-38.
- Babaei, A., Zandehdel, M., Khalilzadeh, B., and Taheri, A., 2008, Simultaneous determination of triptofan, uric acid and ascorbic acid at iron (III) doped zeolite modified carbon paste electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 66, 226-232.
- Bing, C., and Kryger, L., 1996, Accumulation and voltammetric determination of complexed metal ions at zeolite-modified sensor electrodes, *Talanta*, 43, 153-160.
- Bosman, H.J.M., 1995, Characterization on the acidity of SiO₂-ZrO₂ mixed oxides, *Master Thesis: Technische Universiteit Eindhoven*
- Brett, C.M.A. and Brett, A.M.O., 1998, *Electroanalysts*, Oxford Science Publications, Oxford
- 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, *Sens. Actuators B*, 110, 364.
- Chen, P., Vittal, R., Nien, P., Liou, G. and Ho, K., 2010, A novel molecularly imprinted polymer thin film as biosensor for uric acid, *Talanta*, 80, 1145-1151.
- Cundy, C. S., and Cox, P. A., 2003, The Hydrothermal Synthesis of Zeolites : Hystory and Development from the Earliest Days to the Present Time, *Chemical Review*, 103, 663-701.
- Dalimartha, S., 2006, *Resep Tumbuhan Obat untuk Asam Urat*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Davis, M. E. and Burkett, S. L., 1995, Towards the rational design and synthesis of microporous and mesoporous silica-containing materials, *Zeolite*, 12 (2), 40-47.
- Eimer, G.A., Diaz, I., Sastre, E., Casuscelli, G.S., Crivello, M.E., Herrero, E.R., and Perez-Pariente, J., 2008, Mesoporous titanosilicates synthesized from TS-1 precursors with enhanced catalytic activity in the α -pinene selective oxidation, *Applied Catalysis A: General*, 343, 77-86.
- El-Maali, N. A., 2004, Voltammetric analysis of drugs, *Biochem.*, 64, 99-107.
- Gourishkina, T.B., Kurs, B.A., and Dzyadevych, S.V., 2010, Application of Zeolites for Immobilization of glucose in amperometric biosensors, *Sens. Electron. and Microsystem Technologies*, 1, 36-42.
- Harmita, 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3), 117-135.

- John, S.A., 2005, Simultaneous Determination of Uric Acid and Ascorbic Acid using Glassy Carbon Electrodes in Acetate Buffer Solution, *J. Electroanal. Chem.*, 579, 249-256.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Handajani, U.S., Fitriana, M., and Asmaningrum, W., 2007, Analysis of uric acid in urine and serum with voltammetry stripping analysis using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of ICOWOBAS*, Universitas Airlangga, 307-311.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Mudasir, Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Roheni, I., 2009, The influence of ascorbic acid on uric acid determination in serum and urine with stripping voltammetry using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of The 2nd ICOWOBAS-RAFSS*, Universiti Teknologi Malaysia, 94-99.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Wafiroh, S., Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Mudasir, 2010^a, Enhancement of the sensitivity and selectivity of the voltammetric sensor for uric acid using molecularly imprinted polymer, *Indo. J. Chem.*, 10 (3), 295-300.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Tambunan, F.N., Mudasir, Kuncaka, A. and Sugiharto, E., 2010^b, Molecularly imprinted polymethacrylic acid modified glassy carbon as a voltammetric sensor of uric acid analysis, *Proceeding on the 2nd ICCS*, UGM, Yogyakarta, p. 457-460.
- Khasanah, M., 2012, Pengembangan metode voltammetri Lucutan untuk analisis asam urat melalupelapisan elektroda menggunakan polimer cetakan molekul, *Disertasi*, FMIPA UGM, Yogyakarta, 69-70.
- Lakshmi, D, Prasad B.B., and Sharma, P.S., 2006, Creatinine sensor based on a molecularly imprinted polymer modified hanging mercury drop electrode, *Talanta*, 70, 272-280.
- Lakshmi, D., Sharma, P.S. and Prasad, B.B., 2007, Imprinted polymer modified HMDE for DPCSV analysis of creatine, *Biosens. Bioelectron.*, 22, 3302-3308.
- Linder, M. C., 1992, *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian secara Klinis*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- 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, *Electrochim. Acta*, 51, 5794-5801.
- Lin, X. and Jin, G., 2005, Monolayer modification on glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid, *Electrochim. Acta*, 50, 3210 – 3216.
- Marcas, A. T., Gilmartin, J. P., Hart, and Birch, B., 1992, Voltammetric and amperometric behaviour of uric acid at bare and surface-modified screen-printed electrode: Studies towards a disposable uric acid sensor, *Analyst*, 117, 1299-1303.
- 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, *J. Electroanal. Chem.*, 588, 68-73.
- Matos, R.C., Augelli, M.A., 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
- Miland, E., Ordieres, A.J.M., Blanco, P.T., Smyth, M.R., and Fagain, C.O., 1996, Poly(o-aminophenol)-modified bienzyme carbon paste electrode for the detection of uric acid, *Talanta* 43, 785-796.

- Miller, J.C. and Miller, J. N., 1998, *Statistics for Analytical Chemistry*, 3th edition, Ellis Horwood Limited, New York.
- Mondal, P., and Deka, R. C., 2007, Structure and Stability of Titanium Atoms in TS-1 Zeolite Using Density Functional Theory, *Bulletin of The Catalysis Society of India*, 6, 151-159.
- O'Neil, M. J. (Ed), 2001, *The Merck Index*, 13th edition, Merck and Co. Inc., Whitehouse Stadion, New York.
- Pranaji, D.K., 2007, *Perencanaan Menu Untuk Asam Urat*, Niaga Swadaya, Jakarta.
- Premkumar, J and Khoo, S.B., 2005, Electrocatalytic oxidation of biological molecules (ascorbic acid and uric acid) at highly oxidized electrodes, *J. Electroanal. Chem.*, 576, 105-112
- 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, *Biosens. Bioelectron.*, 21, 1086-1092.
- Rodwell, V. W., Murray R. K., Granner D. K., and Mayes P. A., 1995, *Biokimia Harper*, edisi 24, diterjemahkan Andry Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 378-393.
- 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.
- Strochkova, E.M., Tur'yan, Ya.I., Kuseiman, I., and Shenhar, A., 1997, Simultaneous voltammetric determination of uric and ascorbic acid in urine, *Talanta*, 44, 1923-1928.
- Thangaraj, A., Kumar, R., Mirajkar, S. P., and Ratnasamy, P., 1991, "Catalytic Properties of Titanium Silicalites; Synthesis and Characterization of Titanium Rich Zeolite With MFI Structure", *J. Catalysts*, 130, 1-8.
- Treacy, M. M. J., Higgins, J. B. and von Ballom, R., 2001, *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolite*, 4th edition, Amsterdam: Elsevier
- Traverniers, I., De Loose, M., and Van Bockstaele, E., 2004, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem.*, 23 (8), 535-552.
- Vinu, A., Mori, T., Ariga, K., 2006, New Families of Mesoporous Materials, *Science and Technology of Advanced Materials*, 7, 753-771.
- Walcarius, A., 1999, Zeolite-modified electrodes in electroanalytical chemistry, *Anal. Chim. Acta*, 384, 1-16.
- Wang, J., 2000, *Analytical Electrochemistry*, Wiley-VCH, Canada
- Wei, Y., Li, M., Jiao, S., Huang, Q, Wang, G and Fang, B., 2006, Fabrication of CeO nanoparticles modified glassy carbon electrode and its application for electrochemical determination of uric acid and ascorbic acid simultaneously, *Electrochim. Acta*, 52, 766-772.
- Wong, W. C., Au, L. T. Y., and Lau, P. P. S., 2001, Effects of Synthesis Parameters on The Zeolite Membrane Morphology, *J. Membrane Sci.*, 193, 141-161.
- Workman, J.Jr. and Mark, H., 2006, Limitation in analytical accuracy, part I: Horwitz's trumpet, *Spectroscopy*, 21 (9), 18-24.
- Xia, Q. H. and Gao, Z., 1997, Crystallization Kinetics of Pure TS-1 Zeolite Using Quaternary Ammonium Halides as Templates, *Materials Chemistry and Physics*, 47, 225-230.

- 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, *Electrochim. Acta*, 50, 3495-3502.
- Zare, H.R., Rajabzadeh, N., and 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, *Electroanal. Chem.*, 589, 60 – 69.
- Zen, J.M., and Hsu, C.T., 1998, A Selective voltammetric method for uric acid detection at nafion-coated carbon paste electrode, *Talanta*, 46, 1363-1369.
- Zhao, X. S., Lu, M, G, Q., and Millar, G, J., 1996, Advances in Mesoporous Molecular Sieve MCM-41, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 35, 2075-2090.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Dukungan pelaksanaan penelitian dan sarana

1. Dukungan pelaksanaan penelitian

Dari segi pembiayaan tidak ada dukungan pembiayaan lain.

2. Sarana

A. Laboratorium

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Karakterisasi terhadap zeolit menggunakan FTIR dan *x-ray diffraction* (XRD) dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA UGM, analisis distribusi ukuran pori zeolit menggunakan teknik adsorpsi-desorpsi N₂ dilakukan di Laboratorium Laboratorium Energi ITS.

B. Instrumentasi/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 utama diatur bergantian secara terjadwal dengan mahasiswa peserta praktikum Spektrometri dan Elektrometri (semester genap, 4 jam/minggu), peserta praktikum Kimia Analisis Terapan (semester gasal, 4 jam/minggu) serta mahasiswa skripsi di lingkungan Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Dengan pemakaian yang diatur secara terjadwal tersebut maka pelaksanaan praktikum maupun penelitian yang menggunakan peralatan tersebut dapat berjalan lancar dan pelaksanaan penelitian ini tidak menemui hambatan yang berarti.

Peralatan penunjang (untuk karakterisasi polimer) tersedia di beberapa institusi perguruan tinggi maupun institusi layanan analisis lainnya. Berdasarkan pengalaman peneliti, laboratorium yang dipilih pada point (A) selama ini telah memberikan hasil analisis yang bagus dan akurat serta tidak membutuhkan waktu yang terlalu lama. Dengan demikian penelitian akan dapat terselesaikan sesuai waktu yang direncanakan.

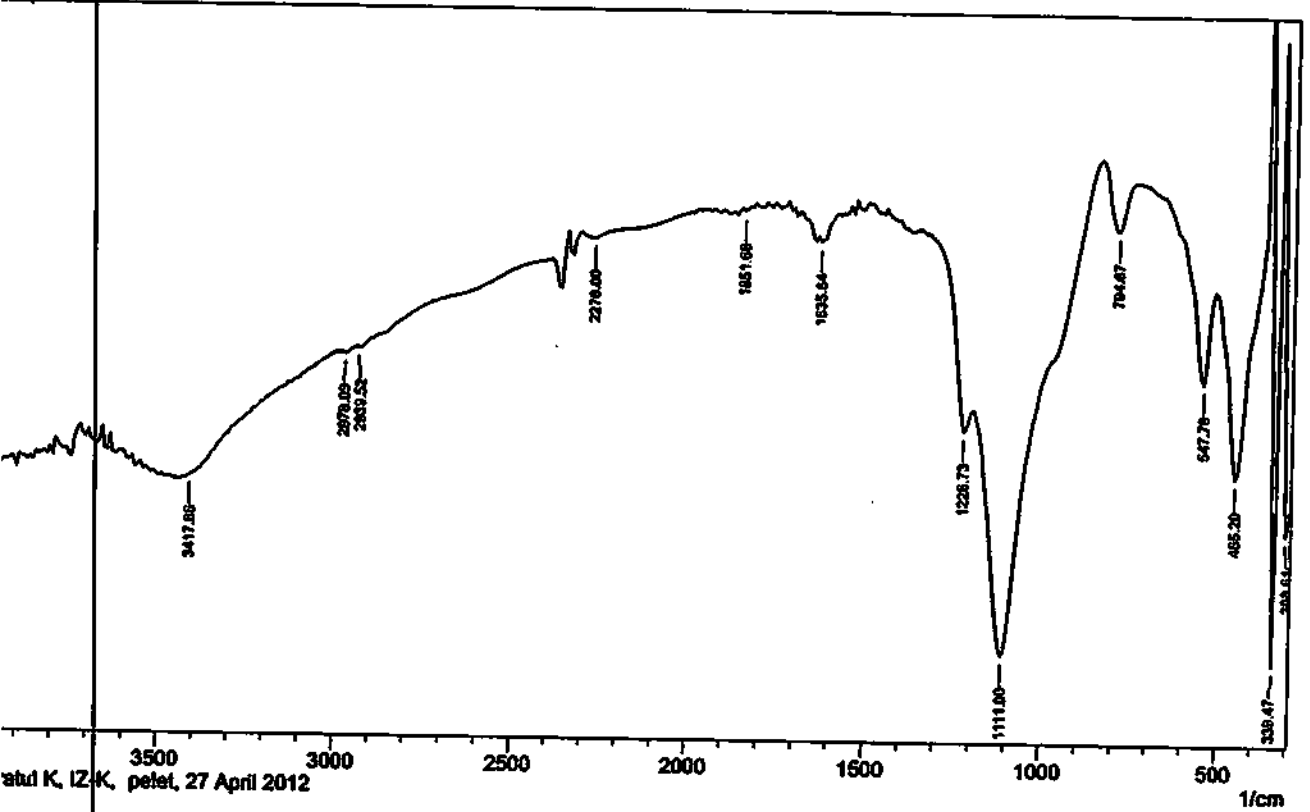
Lampiran 2 Daftar personalia dan uraian tugas**a. Daftar Personalia (Peneliti/Analisis/Laboran)**

No	Nama	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi waktu (Jam/minggu)
1	Dr. Miratul Khasanah, M.Si.	Kimia Analitik, Elektroanalisis, Instrumentasi Kimia	Dept. Kimia FST Unair	5
2	Dr. Muji Harsini, M.Si	Kimia Analitik, Elektroanalisis	Dept. Kimia FST Unair	5
3	Alfa Akustia W., S.Si., M.Si	Material Anorganik	Dept Kimia FST Unair	5
4	Roch Adi Prasetya	Analisis/teknisi kimia	Dept. Kimia FST Unair	5
5	Wagiman	Laboran	Dept. Kimia FST Unair	5

b. Uraian tugas personalia

No	Nama	Jabatan dalam tim	Rincian Tugas
1	Dr. Miratul Khasanah, M.Si.	Ketua	Sintesis sensor (modifikasi elektroda), karakterisasi sensor, analisis sampel, interpretasi data
2	Dr. Muji Harsini, M.Si	Anggota	Sintesis zeolit dan <i>imprinting</i> zeolit, preparasi sampel
3	Alfa Akustia W., S.Si., M.Si	Anggota	Sintesis dan karakterisasi zeolit
4	Roch Adi Prasetya	Analisis/teknisi	Menyiapkan bahan kimia, pembuatan pereaksi kimia teknisi instrumentasi
5	Wagiman	Laboran	Menyiapkan alat-alat gelas dan peralatan pendukung lainnya

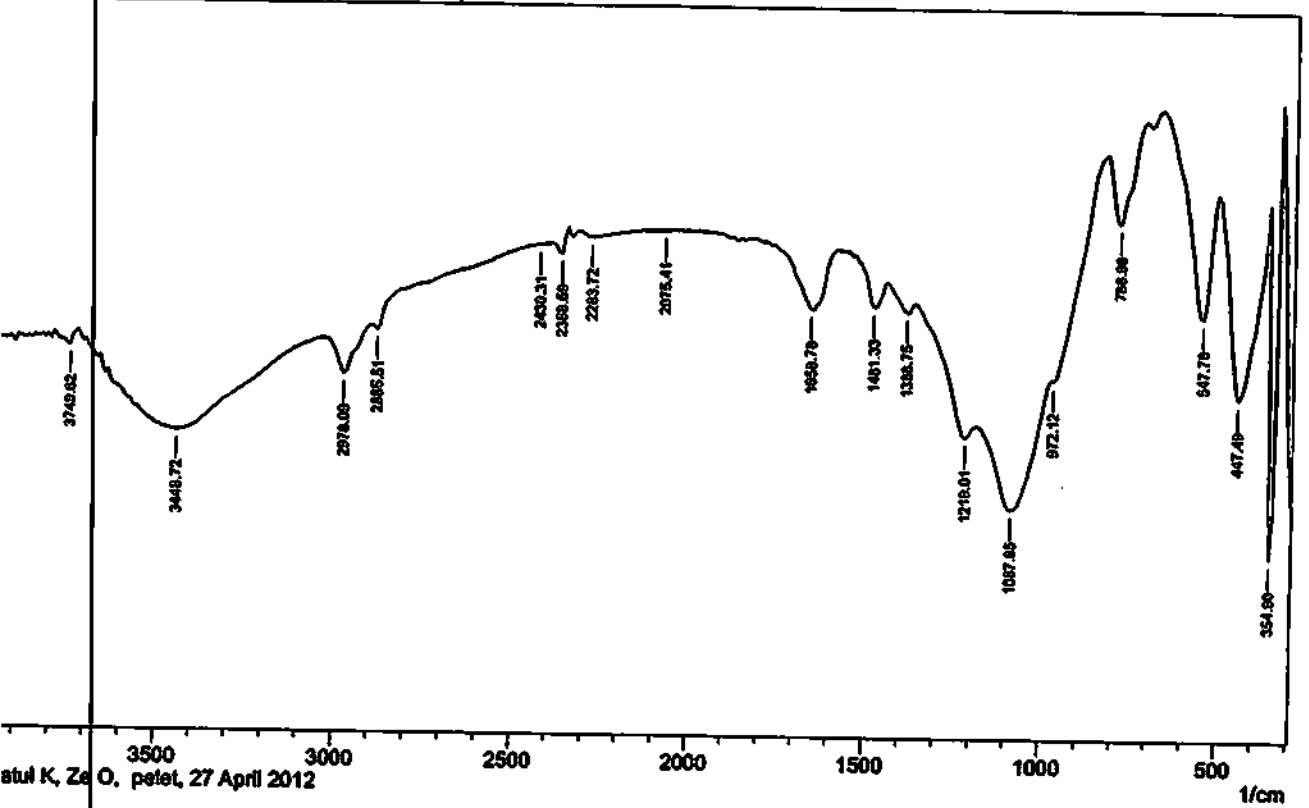
Lampiran 3 Hasil karakterisasi zeolit menggunakan FTIR



stud K, IZ-K, pelet, 27 April 2012

Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
308.61	11.617	10.901	316.33	293.18	21.103	3.134
339.47	4.479	30.823	364.9	324.04	25.619	11.928
455.2	14.707	17.277	509.21	362.62	97.504	28.171
647.78	19.935	5.892	732.95	516.92	123.442	4.269
794.67	28.266	3.252	840.98	740.67	52.679	2.262
1111	4.873	16.784	1195.67	648.68	272.118	59.332
1226.73	17.144	2.862	1357.89	1203.58	96.819	1.354
1635.64	27.462	0.46	1643.35	1589.34	29.658	0.195
1851.66	29.076	0.247	1859.38	1820.8	20.583	0.083
2276	27.496	0.501	2314.58	1982.82	182.293	1.363
2939.52	21.305	0.135	2947.23	2399.45	338.236	0.067
2978.09	21.002	0.124	2985.81	2947.23	28.007	0.057
3417.86	14.034	0.128	3425.58	3001.24	318.896	0

b. Kimia Organik FMIPA - UGM

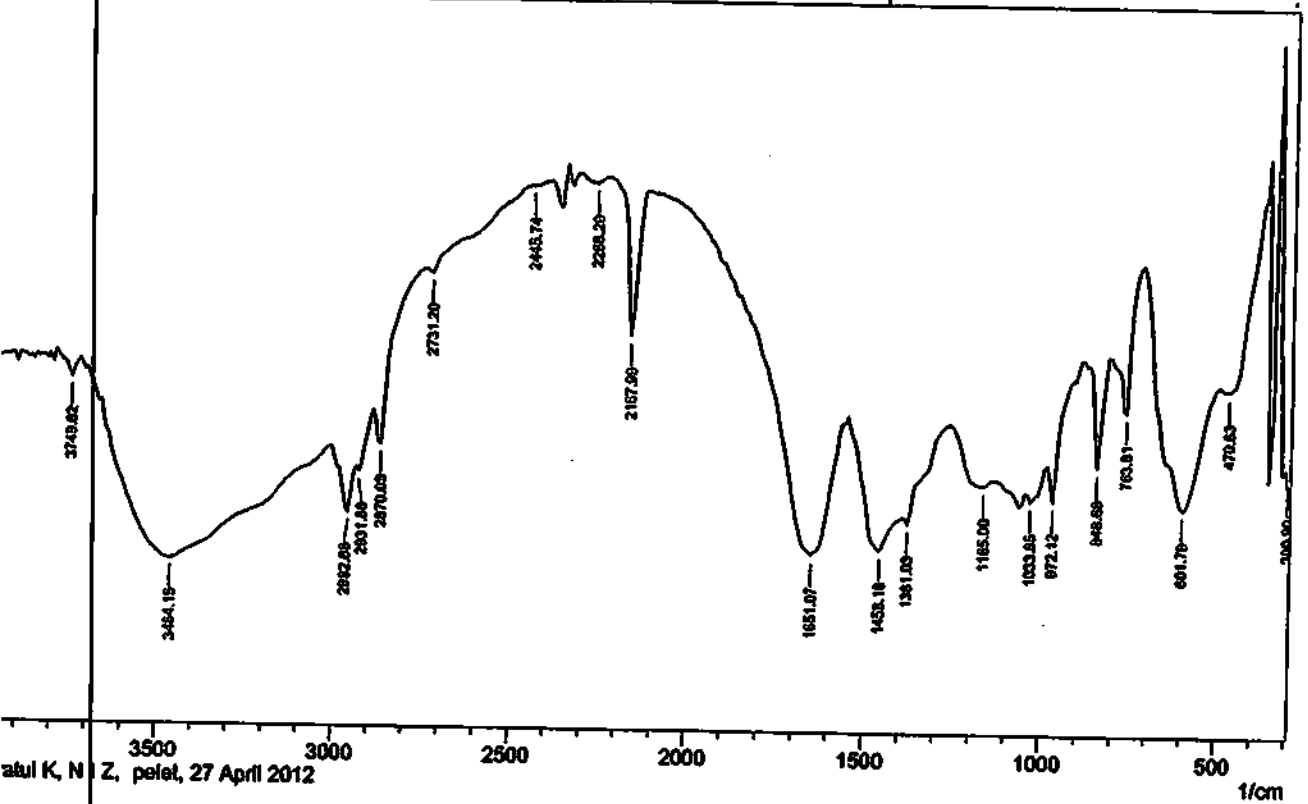


stul K, Ze O, pelet, 27 April 2012

Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
354.9	2.604	15.545	362.62	331.76	35.663	13.622
447.49	9.139	7.505	501.49	370.33	120.574	17.738
547.78	12.459	5.908	671.23	509.21	126.644	10.211
786.98	16.338	3.278	825.53	717.52	80.18	4.336
972.12	9.839	0.527	979.84	833.25	125.071	0.97
1087.85	4.529	4.282	1180.44	979.84	240.292	29.241
1219.01	7.451	1.389	1357.89	1188.15	172.063	3.138
1388.75	12.574	0.65	1442.75	1365.6	68.327	0.828
1481.33	12.786	1.398	1550.77	1450.47	86.219	1.718
1658.78	12.668	2.576	1789.94	1589.34	170.404	6.779
2075.41	15.822	0.008	2083.12	2052.26	24.705	0.003
2283.72	15.522	0.253	2314.58	2129.41	148.993	0.576
2368.59	14.858	0.777	2391.73	2353.16	31.518	0.427
2430.31	15.188	0.017	2438.02	2399.45	31.54	0.017
2885.51	11.625	0.287	2900.94	2439.02	396.152	0.148
2978.08	9.794	1.698	3039.81	2808.65	126.813	3.706
3448.72	7.377	2.913	3841.6	3047.53	623.921	42.803
3749.62	10.832	0.503	3788.19	3734.19	51.665	0.56

le O, pelet, 27 April 2012

ib. Kimia Organik FMIPA - UGM

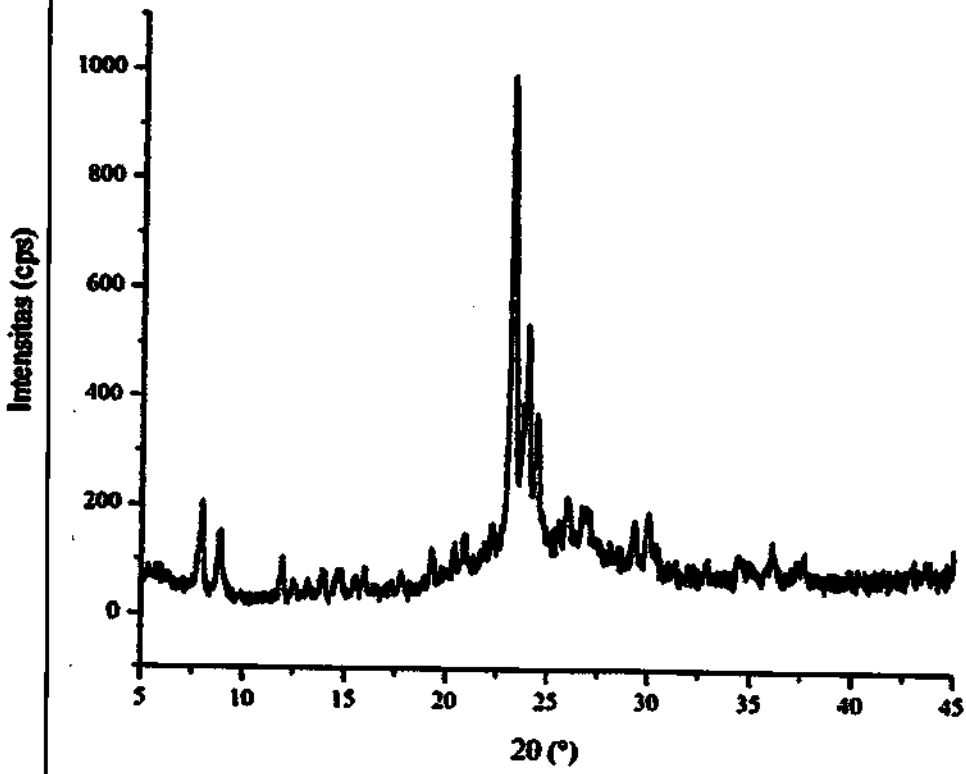


atul K, N Z, pelet, 27 April 2012

Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
300.9	2.946	3.173	331.76	293.18	52.281	5.854
470.63	6.925	1.328	493.78	370.33	128.04	4.522
601.79	2.835	6.146	717.52	501.49	280.176	52.388
763.81	6.132	3.597	810.1	725.23	91.783	5.44
848.69	4.244	3.441	864.11	817.82	56.295	5.072
972.12	3.092	1.802	987.55	894.97	114.493	2.836
1033.65	3.062	0.362	1041.56	995.27	67.768	1.88
1165	3.558	0.576	1257.59	1141.86	161.267	5.823
1381.03	2.251	0.583	1396.46	1265.3	182.864	1.014
1458.18	1.325	2.509	1550.77	1396.46	248.498	28.022
1651.07	1.125	6.825	2121.7	1558.48	663.042	78.972
2167.99	8.551	5.116	2229.71	2129.41	92.208	5.634
2266.29	13.77	0.255	2314.68	2245.14	59.569	0.365
2445.74	13.842	0.044	2463.45	2414.88	33.294	0.038
2731.2	10.65	0.267	2746.63	2453.45	267.54	0.202
2870.08	4.735	1.983	2893.22	2754.35	149.314	2.668
2931.8	3.787	0.486	2939.62	2900.94	51.59	0.931
2962.66	2.378	1.587	3008.95	2947.23	91.497	5.77
3464.15	0.722	5.733	3728.47	3016.67	1152.627	279.411
3749.62	6.902	0.577	3788.19	3734.19	61.468	0.787

I I Z, pelet, 27 April 2012

ampiran 4 Hasil analisis zeolit dengan XRD



Description:
 Miratul Kh(Kimia UNAIR)

Original scan: Zeolit_MRA
 Scan created: 4/13/12 10:07
 Description of scan:
 Miratul Kh(Kimia UNAIR)

Used wavelength: K-Alpha
 Wavelength (Å): 1.54056

Peak search parameter set:
 Set created: As Measured Intensities
 10/15/10 03:58
 Peak positions defined by: Minimum of 2nd derivative
 Minimum peak tip width (°2Theta): 0.00
 Maximum peak tip width (°2Theta): 1.00
 Peak base width (°2Theta): 2.00
 Minimum significance: 0.60

d-spacing (Å)	Relative Intensity (%)	Angle (°2Theta)	Peak Height (counts)	Background (counts)	Tip Width (°2Theta)	Significance
14.78211	4.49	5.97395	42.68	25.82	0.80000	0.76
11.08864	18.94	7.96660	179.86	25.82	0.12000	3.59
9.98050	13.01	8.85281	123.55	25.82	0.08000	0.81
7.41413	7.46	11.92684	70.83	27.95	0.06000	1.01
7.05768	2.83	12.53156	26.91	28.86	0.16000	0.76
6.67859	2.34	13.24598	22.25	29.93	0.24000	1.02

Philips Analytical

Page: 1

X'Pert Graphics & Identify
(searched) peak list: Zeolit MRA

d-spacing (Å)	Relative Intensity (%)	Angle ($^{\circ}2\theta$)	Peak Height (counts)	Background (counts)	Tip Width ($^{\circ}2\theta$)	Significance
6.34569	4.52	13.94423	42.93	30.98	0.24000	2.61
6.04741	4.97	14.63570	47.16	32.02	0.12000	0.81
5.71575	2.76	15.49000	26.22	33.30	0.16000	1.07
5.54363	5.55	15.97403	52.67	34.03	0.10000	0.82
4.98647	2.85	17.77259	27.06	36.73	0.28000	2.27
4.59871	6.65	19.28491	63.19	39.01	0.08000	0.64
4.34845	8.50	20.40833	80.76	40.69	0.08000	0.71
4.24312	10.76	20.91850	102.17	41.46	0.10000	0.98
3.99365	12.74	22.24134	121.00	43.45	0.12000	0.62
3.82971	100.00	23.20644	949.66	44.90	0.16000	8.50
3.70501	52.26	23.99887	496.29	46.09	0.14000	4.15
3.63824	32.05	24.44609	304.38	46.76	0.12000	1.45
3.42860	17.56	25.96611	166.72	49.04	0.16000	1.05
3.32059	14.61	26.82626	138.72	50.33	0.32000	1.30
3.04263	12.43	29.32944	118.05	54.09	0.16000	1.31
2.97472	13.33	30.01457	126.60	55.12	0.24000	3.36
2.72216	3.65	32.87464	34.65	59.42	0.16000	0.76
2.60280	5.08	34.42817	48.22	61.75	0.12000	0.61
2.48456	6.75	36.12162	64.12	64.30	0.16000	0.77
2.38907	4.36	37.61848	41.39	66.55	0.12000	0.71
2.08184	1.39	43.43112	13.25	72.37	0.64000	1.62
2.00064	13.17	45.28953	125.08	71.83	0.16000	0.91
1.99305	12.67	45.47168	120.32	71.78	0.24000	1.76
1.91062	3.46	47.55126	32.82	71.18	0.32000	1.05
1.86898	5.61	48.67865	53.24	70.85	0.12000	1.14
1.81597	0.97	50.19615	9.20	70.42	0.80000	0.64
1.76327	2.03	51.80579	19.31	70.46	0.40000	0.80
1.71254	2.22	53.46031	21.09	71.03	0.24000	1.08

Philips Analytical

d-spacing (Å)	Relative Intensity (%)	Angle (2θ)	Peak Height (counts)	Background (counts)	Tip Width (2θ)	Significance
1.66171	5.12	55.23241	48.61	71.64	0.48000	2.80
1.61729	1.86	56.88529	17.71	72.21	0.32000	0.61
1.48199	3.03	62.63225	28.75	78.05	0.32000	0.65
1.45419	5.66	63.96998	53.74	78.41	0.32000	0.87
1.44470	5.21	64.44066	49.48	78.54	0.24000	0.82
1.42101	5.65	65.64843	53.70	78.87	0.12000	0.86
1.39466	4.41	67.05081	41.90	79.25	0.04000	0.68
1.39068	3.69	67.26841	35.05	79.31	0.64000	0.93
1.35967	1.19	69.01552	11.29	80.35	0.32000	1.35
1.20915	2.66	79.14339	25.24	85.44	0.48000	0.66
1.17864	1.58	81.61697	14.97	77.81	0.64000	0.76
1.15311	2.61	83.82624	24.80	70.99	0.04000	0.63
1.12617	0.76	86.31140	7.26	63.32	0.80000	1.04



ampiran 5 Hasil analisis dengan BET

Weight: 0.103 g
 Gas: Nitrogen
 Time: 11:23 hr:min
 Standard: He Measure

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K

Date: 2012/07/25

Filename:

Comment:

Instrument:

Final Outgas Temp.:

Non-ideality:

Bath temp.:

Cold Zone V:

Report

Operator: Lab. Energi ITS

Date: 2012/08/07

BET_iq_phley_st1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

Autosorb IQ Station 1

300 °C

6.58e-05 1/mmHg

77.35 K

1.64133 cc

Extended info:

CellType:

Available

9mm

VoidVol Remeasure: on

Warm Zone V:

10.9264 cc

Isotherm: Linear

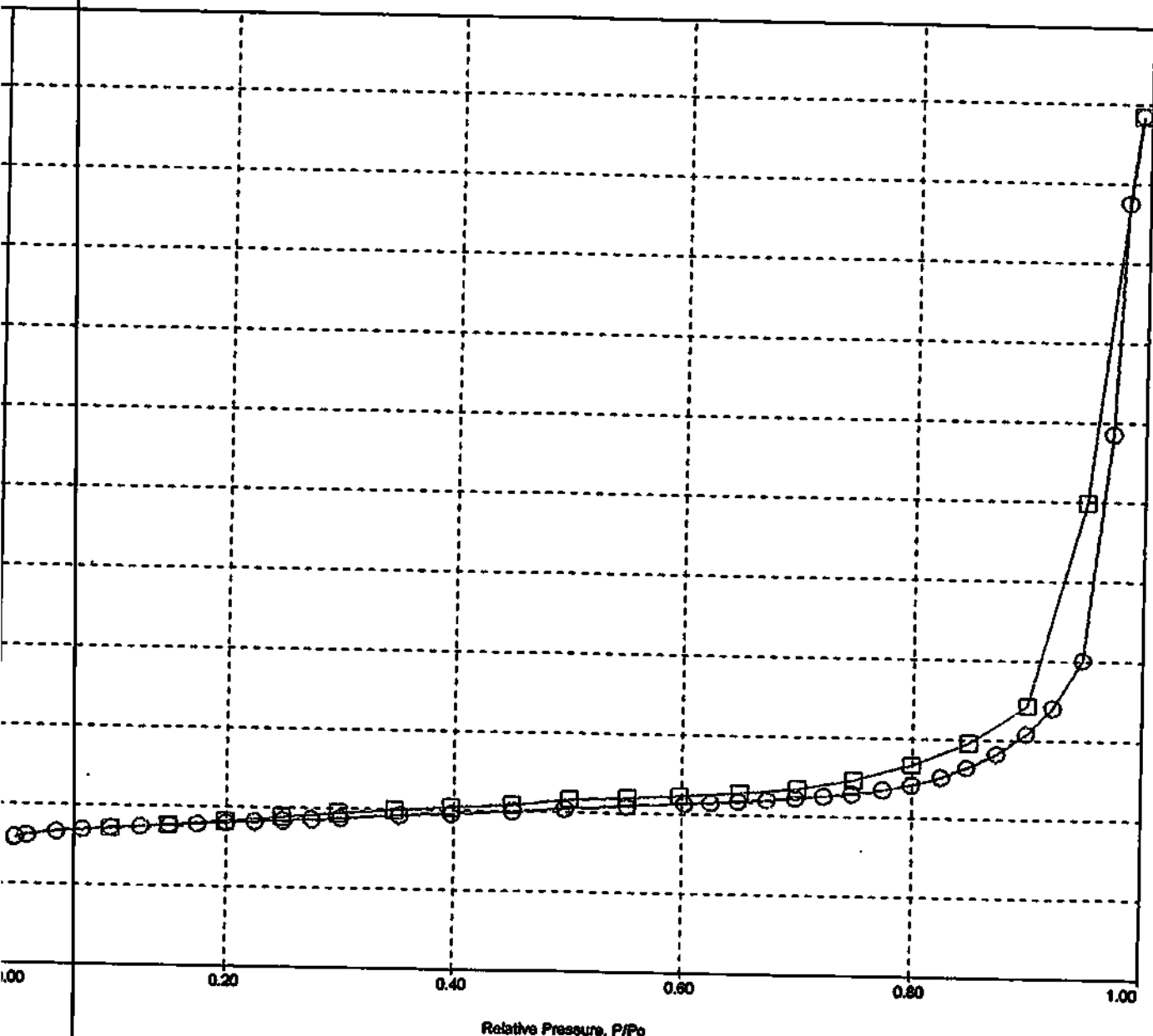
Data Reduction Parameters

Thermal Transpiration: on
 Nitrogen
 Molec. Wt.: 28.013

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å
 Temperature: 77.350K
 Cross Section: 16.200 Å²

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm

Liquid Density: 0.806 g/cc



c:
 ght
 gas Time
 i:
 se:
 de:
 fe:

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K

Date:2012/07/25

Report

Operator: Lab. Energi ITS Date:2012/08/07
 BET_iq_phisy_st1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

0.103 g
 32.1 hrs
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Filename:
 Comment:
 Instrument: Autosorb iQ Station 1
 Final Outgas Temp.: 300 °C
 Non-Ideality: 6.58e-05 1/mmHg
 Bath temp.: 77.35 K

Extended Info: Available
 CellType: 9mm
 VoidVol Remeasure: on
 Warm Zone V: 10.9264 cc

Cold Zone V: 1.64133 cc

Average Pore Size

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on
 Nitrogen
 Molec. Wt.: 28.013

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å
 Temperature 77.350K
 Cross Section: 16.200 Å²

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm
 Liquid Density: 0.806 g/cc

Average Pore Size summary

Average pore Diameter = 1.18818e+01 nm

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K

Date: 2012/07/25

Report

Operator: Lab. Energi ITS

Date: 2012/08/07

BET_lq_phisy_at1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

0.103 g

Filename:

Comment:

Instrument:

Autosorb IQ Station 1

Final Outgas Temp.:

300 °C

Non-Ideality:

6.58e-05 1/mmHg

Bath temp.:

77.35 K

Extended info:

Available

CellType:

9mm

VoidVol Remeasure:

on

Warm Zone V:

10.9284 cc

Cold Zone V: 1.64133 cc

BJH Pore Size Distribution Adsorption

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm

Calc. method: de Boer

Moving pt. avg.: off

Nitrogen

Temperature

77.350K

Molec. Wt.: 28.013

Cross Section:

16.200 Å²

Liquid Density:

0.806 g/cc

BJH Pore Size Distribution Adsorption Data

	Pore Volume	Pore Surf Area	dV(d)	dS(d)	dV(logd)	dS(logd)
	[cc/g]	[m²/g]	[cc/nm/g]	[m²/nm/g]	[cc/g]	[cc/g]
2057	3.4670e-03	1.1502e+01	1.9149e-02	6.3527e+01	5.3064e-02	1.7604e+02
3629	5.1072e-03	1.6315e+01	1.2300e-02	3.6099e+01	3.8570e-02	1.1320e+02
1967	6.3012e-03	1.9506e+01	8.9008e-03	2.3788e+01	3.0654e-02	8.1924e+01
1280	7.2156e-03	2.1753e+01	7.1135e-03	1.7478e+01	2.6653e-02	6.5484e+01
549	7.9817e-03	2.3499e+01	6.1227e-03	1.3956e+01	2.4730e-02	5.6369e+01
1788	8.7535e-03	2.5142e+01	6.2914e-03	1.3395e+01	2.2707e-02	5.7925e+01
1022	9.5759e-03	2.6785e+01	6.6193e-03	1.3224e+01	3.0507e-02	6.0947e+01
1276	1.0492e-02	2.8508e+01	7.2389e-03	1.3609e+01	3.5453e-02	6.6653e+01
553	1.1556e-02	3.0396e+01	8.2636e-03	1.4656e+01	4.2902e-02	7.6090e+01
1671	1.2555e-02	3.2069e+01	7.4130e-03	1.2422e+01	4.0734e-02	6.8258e+01
238	1.3609e-02	3.3739e+01	7.5922e-03	1.2033e+01	4.4110e-02	6.9909e+01
493	1.5620e-02	3.6665e+01	6.4403e-03	9.3700e+00	4.0727e-02	5.9254e+01
698	1.7024e-02	3.8501e+01	4.5493e-03	5.9471e+00	3.2025e-02	4.1865e+01
201	1.8671e-02	4.0427e+01	4.0001e-03	4.6784e+00	3.1463e-02	3.6798e+01
308	1.9626e-02	4.1424e+01	2.3311e-03	2.4341e+00	2.0543e-02	2.1450e+01
195	2.0720e-02	4.2437e+01	1.9255e-03	1.7831e+00	1.9124e-02	1.7709e+01
303	2.1622e-02	4.3088e+01	1.2279e-03	9.9619e-01	1.3919e-02	1.1283e+01
320	2.1866e-02	4.3341e+01	9.8422e-04	7.2476e-01	1.2306e-02	9.0618e+00
132	2.2125e-02	4.3519e+01	6.2637e-04	4.3100e-01	8.3807e-03	5.7667e+00
544	2.2515e-02	4.3768e+01	7.9568e-04	5.0808e-01	1.1471e-02	7.3248e+00
353	2.2940e-02	4.4019e+01	7.7007e-04	4.5396e-01	1.2025e-02	7.0887e+00
375	2.3634e-02	4.4395e+01	1.0644e-03	5.7630e-01	1.8093e-02	9.7967e+00
374	2.4589e-02	4.4867e+01	1.2769e-03	6.3157e-01	2.3762e-02	1.1763e+01
741	2.6683e-02	4.5800e+01	2.0422e-03	9.1028e-01	4.2154e-02	1.8769e+01
571	2.9814e-02	4.7046e+01	2.7449e-03	1.0917e+00	6.3496e-02	2.5254e+01
305	3.5477e-02	4.9033e+01	3.6627e-03	1.2851e+00	9.6000e-02	3.3683e+01
360	4.3835e-02	5.1597e+01	4.8457e-03	1.4868e+00	1.4524e-01	4.4566e+01
146	5.6273e-02	5.4850e+01	4.4542e-03	1.1649e+00	1.5643e-01	4.0911e+01
198	7.3604e-02	5.8544e+01	4.1681e-03	8.6827e-01	1.7940e-01	3.8233e+01
139	9.5894e-02	6.2280e+01	3.6964e-03	6.1957e-01	2.0202e-01	3.3863e+01
105	1.3683e-01	6.7203e+01	3.2077e-03	3.8577e-01	2.4262e-01	2.9178e+01
189	3.3282e-01	8.1193e+01	5.9764e-03	4.2659e-01	7.4863e-01	5.3436e+01
196	5.2679e-01	8.9509e+01	4.6505e-03	1.9940e-01	9.8210e-01	4.2110e+01
74	5.9763e-01	9.0988e+01	4.5714e-04	9.5423e-03	1.9019e-01	3.9700e+00

BJH adsorption summary

Surface Area = 90.988 m²/g
 Pore Volume = 0.598 cc/g
 Pore Diameter Dv(d) = 1.206 nm

htc
 gas Time
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K
 0.103 g
 32.1 hrs
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Date:2012/07/25
 Filename:
 Comment:
 Instrument:
 Final Outgas Temp.:
 Non-Ideality:
 Bath temp.:

Report
 Operator: Lab. Energi ITS
 BET_Iq_phisy_st1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps
 Autosorb iQ Station 1
 300 °C
 6.58e-05 1/mmHg
 77.35 K

Date:2012/08/07
 Available
 9mm

Extended Info:
 CellType:
 VoidVol Remeasure: on
 Warm Zone V: 10.9264 cc

Cold Zone V: 1.64133 cc

BJH Pore Size Distribution Desorption

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on
 Calc. method: de Boer
 Moving pt. avg.: off
 Nitrogen
 Molec. Wt.: 28.013
 Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å
 Temperature 77.350K
 Cross Section: 16.200 Å²
 Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm
 Liquid Density: 0.806 g/cc

BJH Pore Size Distribution Desorption Data

	Pore Volume [cc/g]	Pore Surf Area [m²/g]	dV(d) [cc/nm/g]	dS(d) [m²/nm/g]	dV(logd) [cc/g]	dS(logd) [cc/g]
854	1.3592e-03	3.2257e+00	5.3744e-03	1.2755e+01	2.0818e-02	4.9407e+01
859	4.5847e-03	9.8492e+00	1.2928e-02	2.8708e+01	5.7538e-02	1.1889e+02
869	9.2988e-03	1.8512e+01	1.8782e-02	3.4370e+01	9.4430e-02	1.7280e+02
481	1.3273e-02	2.5011e+01	1.4808e-02	2.4215e+01	8.3322e-02	1.3625e+02
430	1.5847e-02	2.8785e+01	8.7094e-03	1.2770e+01	5.4656e-02	8.0138e+01
142	1.7456e-02	3.0901e+01	4.8127e-03	8.3263e+00	3.3688e-02	4.4282e+01
433	1.8632e-02	3.2278e+01	2.8824e-03	3.3769e+00	2.2633e-02	2.6516e+01
350	2.4315e-02	3.8193e+01	1.2624e-02	1.3139e+01	1.1159e-01	1.1614e+02
959	2.4315e-02	3.8193e+01	0.0000e+00	0.0000e+00	0.0000e+00	0.0000e+00
179	2.4315e-02	3.8193e+01	0.0000e+00	0.0000e+00	0.0000e+00	0.0000e+00
751	2.6057e-02	3.9252e+01	1.6448e-03	1.0006e+00	0.0000e+00	0.0000e+00
940	3.2131e-02	4.2366e+01	4.3424e-03	2.2257e+00	2.4848e-02	1.5117e+01
595	4.5336e-02	4.7891e+01	6.2519e-03	2.6160e+00	7.7821e-02	3.9888e+01
458	6.5380e-02	5.4385e+01	5.7923e-03	1.8767e+00	1.3705e-01	5.7347e+01
335	9.7881e-02	6.1800e+01	4.7002e-03	1.0723e+00	1.6357e-01	5.2988e+01
316	2.8446e-01	8.5750e+01	9.1728e-03	1.1774e+00	1.8727e-01	4.2723e+01
118	5.9903e-01	9.3857e+01	1.3810e-03	3.5588e-02	6.3408e-01	8.1392e+01
					3.6661e-01	9.9629e+00

BJH desorption summary

Surface Area = 93.857 m²/g
 Pore Volume = 0.599 cc/g
 Pore Diameter Dv(d) = 2.186 nm

c:
 ght:
 gas Time:
 s:
 ne:
 de:
 de:

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K
 0.103 g
 32.1 hrs
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Date:2012/07/25

Filename:

Comment:

Instrument:

Final Outgas Temp.:

Non-Ideality:

Bath temp.:

Cold Zone V:

Report

Operator: Lab. Energi ITS

BET_iq_phisy_et1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

Date:2012/08/07

Autoorb IQ Station 1

300 °C

6.58e-05 1/mmHg

77.35 K

Extended info:

CellType:

Available

9mm

VoidVol Remeasure: on

Warm Zone V: 10.9264 cc

Isotherm

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on
 Nitrogen
 Molec. Wt.: 28.013

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å
 Temperature 77.350K
 Cross Section: 16.200 Å²

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm

Liquid Density: 0.806 g/cc

Isotherm Data

Relative Pressure	Volume @ STP	Relative Pressure	Volume @ STP	Relative Pressure	Volume @ STP
	[cc/g]		[cc/g]		[cc/g]
1.61792e-02	63.2514	6.02305e-01	84.8120	9.00915e-01	137.4396
1.58669e-02	63.1334	6.25206e-01	85.6473	8.49902e-01	118.3191
1.63653e-02	64.4653	6.49323e-01	86.5410	7.98512e-01	106.4272
1.16150e-02	66.4175	6.74442e-01	87.5757	7.49324e-01	98.3020
1.43073e-02	67.6085	6.99032e-01	88.6752	7.00808e-01	93.6280
1.94660e-02	68.6665	7.23926e-01	89.9693	6.50740e-01	90.8735
2.24906e-01	69.5915	7.48081e-01	91.4273	5.97626e-01	88.9156
1.50278e-01	70.4309	7.75350e-01	93.6078	5.51806e-01	87.5881
1.75276e-01	71.2266	7.99740e-01	96.2183	5.01646e-01	86.1434
1.00381e-01	72.0127	8.25689e-01	100.1718	4.51229e-01	83.0698
1.25473e-01	72.8037	8.47920e-01	105.2935	3.97766e-01	81.2941
1.50327e-01	73.6130	8.74200e-01	112.8377	3.47579e-01	79.5632
1.75448e-01	74.4090	9.00211e-01	123.1557	2.98044e-01	77.6425
1.00313e-01	75.2119	9.23450e-01	136.3287	2.48843e-01	75.3959
1.52273e-01	76.6576	9.48939e-01	160.4703	1.99480e-01	72.9319
1.98326e-01	78.2524	9.72635e-01	274.1523	1.49143e-01	70.6680
1.52167e-01	79.9486	9.82831e-01	380.1505	9.85382e-02	68.5607
1.98250e-01	81.3489	9.92813e-01	434.1023		
1.51966e-01	83.0942	9.951108e-01	239.4382		

c:
 ght:
 gas Time:
 s:
 e:
 de:
 de:

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K

Date:2012/07/25

Report

Operator: Lab. Energi ITS Date:2012/08/07
 BET_lq_phisy_st1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

0.103 g
 32.1 hrs
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Filename:
 Comment:
 Instrument: Autosorb iQ Station 1
 Final Outgas Temp.: 300 °C
 Non-Ideality: 6.58e-05 1/mmHg
 Bath temp.: 77.35 K

Extended info: Available
 CellType: 9mm

Cold Zone V: 1.64133 cc

VoidVol Remeasure: on
 Warm Zone V: 10.9284 cc

Multi-Point BET

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on
 Nitrogen
 Molec. Wt.: 28.013

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å
 Temperature 77.350K
 Cross Section: 16.200 Å²

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm
 Liquid Density: 0.806 g/cc

Multi-Point BET Data

Relative Pressure [P/Po]	Volume @ STP [cc/g]	1 / [W((Po/P) - 1)]	Relative Pressure [P/Po]	Volume @ STP [cc/g]	1 / [W((Po/P) - 1)]
1.16150e-02	66.4175	6.5563e-01	2.00381e-01	72.0127	2.7843e+00
1.43073e-02	67.6085	9.4998e-01	2.25473e-01	72.8037	3.1993e+00
1.94660e-02	68.6655	1.2670e+00	2.50327e-01	73.6130	3.6294e+00
2.4906e-01	69.5915	1.6410e+00	2.75448e-01	74.4090	4.0879e+00
3.50278e-01	70.4309	2.0091e+00	3.00313e-01	75.2119	4.5660e+00
5.75276e-01	71.2266	2.3674e+00			

BET summary

Slope = 15.635
 Intercept = -2.677e-01
 Correlation coefficient, r = 0.998135
 C constant = -57.406
 Surface Area = 226.614 m²/g

ht:
 gas Time
 Nitrogen
 11:23 hr:min
 Standard
 He Measure

Lab. Energi ITS
 JUL24.IZ-K

Date:2012/07/25

Filename:

Comment:

Instrument:

Final Outgas Temp.:

Non-ideality:

Bath temp.:

Cold Zone V:

Report

Operator: Lab. Energi ITS

Date:2012/08/07

BET_lq_phisy_st1_2012_07_25_08_48_33_01_IZ-K.qps

Autosorb iQ Station 1

300 °C

6.58e-05 1/mmHg

77.35 K

1.64133 cc

Extended Info:

CellType:

VoidVol Remeasure: on

Warm Zone V:

Available

9mm

10.9264 cc

Total Pore Volume

Data Reduction Parameters Data

Thermal Transpiration: on

Nitrogen

Molec. Wt.: 28.013

Eff. mol. diameter (D): 3.54 Å

Temperature

Cross Section: 16.200 Å²

Eff. cell stem diam. (d): 4.0000 mm

Liquid Density: 0.806 g/cc

Total Pore Volume summary

Total Pore Volume

Total pore volume = 6.731e-01 cc/g for
 pores smaller than 269.1 nm (Diameter)
 at P/Po = 0.99281

Lampiran 6 Draft artikel ilmiah**Sensor Berbasis *Imprinting Zeolite* untuk Deteksi Sensitif dan Selektif Asam Urat dalam Serum**

Miratul Khasanah, Muji Harsini, Alfa Akustia Widati

*Departemen Kimia FST Universitas Airlangga
Kampus C, Mulyorejo, Surabaya 60115**corresponding author:miratulkhasanah@gmail.com***ABSTRACT**

Development of the uric acid sensor through the coating of GC electrode with imprinting zeolite (IZ) was carried out. Zeolite was synthesized by mixing TEOS, TBOH, TPAOH, and water through hydrothermal process. Zeolite (Z) was molded by uric acid to produce imprinting zeolite (IZ). The deposition of IZ and uric acid were -0.6 V during 150 seconds with addition of KNO_3 0.02M as supporting electrolyte. The method validity obtained are linearity 0.9834 for concentration 0.95-4.76 ppb, precision 1.89-7.65%, sensitivity $2.0 \mu\text{A/nM/cm}^2$, limit of detection 0.996 ppb (5.9×10^{-9} M), and accuracy 94.75%. The developed sensor showed a high selectivity. Presence of ascorbic acid, creatine and creatinine with an equal concentration with uric acid did not interfere on the uric acid analysis. The developed GC-IZ sensor has a lifetime as long as the GC electrode.

Key words : *sensor, uric acid, stripping voltammetry, zeolite, glassy carbon*

1 PENDAHULUAN

Asam urat merupakan produk 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, serta dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskuler (Chen *et al.*, 2005). Metode penentuan kadar asam urat yang selama ini digunakan dalam bidang biomedis adalah secara spektrofotometri. Analisis asam urat menggunakan metode ini memerlukan jumlah sampel yang relatif banyak (2-3 mL), memiliki sensitivitas rendah serta batas deteksi yang tinggi (level mM).

Metode voltametri telah digunakan untuk penentuan konsentrasi dan sifat-sifat redoks suatu senyawa di dalam cairan tubuh, seperti asam urat. Metode analisis asam urat secara voltametri telah banyak dikembangkan melalui pengembangan sensor dengan tujuan khusus menurunkan batas deteksi, meningkatkan sensitivitas dan meningkatkan selektivitas analisis karena keberadaan asam urat dalam sampel serum

bersama-sama dengan senyawa lain yang strukturnya mirip dengan asam urat sehingga dapat mengganggu analisis asam urat (Khasanah *et al.*, 2007; 2010^{a,b})

Pada penelitian ini digunakan zeolit sintesis sebagai bahan alternatif untuk memodifikasi elektroda agar diperoleh sensor yang selektif untuk mendeteksi asam urat secara voltametri. Kesesuaian ukuran pori zeolit dengan ukuran molekul asam urat akan mampu meningkatkan kapasitas adsorpsi zeolit sehingga dapat meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi molekul asam urat. Bentuknya yang *rigid* membuat zeolit tidak mudah mengalami *swelling* dalam air sehingga dapat mempertahankan bentuk dan ukuran porinya (selektif) (Gourishkina *et al.*, 2010). Pada penelitian ini dilakukan sintesis *imprinting* zeolit (IZ) dari campuran tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), dan tetrabutyl ortotitanat (TBOT) dengan *template* asam urat. Pembuatan sensor dilakukan melalui pelapisan IZ pada elektroda GC dengan potensial dan waktu optimum. Selanjutnya dilakukan uji kinerja sensor, uji validitas, dan waktu hidup sensor.

2 METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan peralatan penelitian

Bahan kimia yang digunakan adalah asam urat, tetraetil ortosilikat, tetrapropilamonium hidroksida, tetrabutyl ortotitanat, 2-propanol, asam askorbat, kreatinin, kreatin, natrium asetat, asam asetat, natrium hidrogen fosfat, natrium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida dan ammonia. Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis. Air yang digunakan adalah *ultra high pure* (UHP) water.

Peralatan yang digunakan adalah 797 *Voltammetry Computrace (MVA system-1)* yang dilengkapi dengan wadah sampel, pengaduk magnetik, *processor unit*, PC, elektroda kerja *glassy carbon* (GC), elektroda pembanding Ag/AgCl dan elektroda *counter Pt*, spektrometri *Fourier transform infra red* (FTIR), *x-ray diffraction* (XRD) dan *Brunauer Emmet Teller* (BET/adsorpsi-desorpsi N₂), mikropipet, pH meter, *water purifier* Milliopore, *hotplate-magnetic stirrer*, oven serta peralatan pendukung lain.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Sintesis dan karakterisasi *imprinting zeolite*

Zeolit MFI disintesis dengan cara mencampurkan sebanyak 35 g TEOS ke dalam 0,9 g TBOT, kemudian diaduk selama 30 menit pada temperatur kamar. Sebanyak 20 g TPAOH ditambahkan ke dalam campuran, kemudian diaduk selama 15

jam, sehingga campuran yang diperoleh mempunyai perbandingan mol 1 TEOS : 0,017 TiO₂ : 0,24 TPAOH : 21,2 H₂O. Campuran yang terbentuk dipanaskan secara hidrotermal pada temperatur 80°C selama 4 hari. Sejumlah asam urat ditambahkan ke dalam campuran hingga diperoleh rasio molar asam urat/Si = $2,98 \times 10^{-4}$. Selanjutnya, campuran dibiarkan selama 3 jam (Eimer *et al.*, 2008). Sebagai pembanding, dengan cara yang sama, dilakukan sintesis zeolit (tidak dilakukan penambahan asam urat) dan *non imprinting zeolite* (asam urat tidak diekstraksi dari zeolit). Selanjutnya, padatan hasil sintesis (zeolit, *imprinting zeolite* dan *non-imprinting zeolite*) yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan FTIR, *x-ray diffraction* (XRD), dan adsorpsi-desorpsi N₂.

2.2.2 Pembuatan dan uji kinerja sensor GC-*imprinting zeolite* (GC-IZ)

Dilakukan pelapisan *imprinting zeolite* pada elektroda GC secara *electrocoating*. Pelapisan IZ dilakukan secara *in situ* yaitu bersamaan dengan deposisi asam urat. Sebanyak 20 mL larutan asam urat dengan konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam sel elektrokimia dan ditambah dengan sejumlah tertentu IZ. Dilakukan analisis menggunakan elektroda GC pada potensial +1 V sampai dengan -1 V (vs. Ag/AgCl). Waktu pelapisan divariasikan mulai 30 – 180 detik, sedangkan pH larutan dilakukan mulai pH 4-7. Selanjutnya dilakukan pelapisan zeolit dan *non imprinting zeolit* (NIZ) pada permukaan elektroda GC menggunakan potensial dan waktu optimum. Sensor GC-IZ, GC, GC-zeolit (GC-Z) dan GC-NIZ diaplikasikan untuk menganalisis larutan asam urat konsentrasi tertentu dengan pH optimum dan diamati potensial lucutan serta arus.

2.2.3 Uji validitas metode

Dibuat sederetan larutan baku asam urat dengan konsentrasi 0,95; 1,90; 2,85; 3,80 dan 4,76 ppb, kemudian dianalisis secara voltametri menggunakan sensor GC-IZ. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Data hasil pengukuran larutan baku ini digunakan untuk uji linieritas, batas deteksi, sensitivitas, presisi. Akurasi dipelajari dengan cara menganalisis larutan asam urat konsentrasi 4,76 ppb. Selektivitas sensor dipelajari melalui pengaruh penambahan senyawa lain (matriks) yang selalu berada bersama-sama asam urat dalam sampel serum yaitu asam askorbat, kreatinin, dan keratin pada analisis asam urat. Perbandingan konsentrasi asam urat dan matriks yang ditambahkan adalah 1:1; 1:2; 1:3; 1:4 dan 1:5. Kemudian respon arus yang diperoleh dibandingkan dengan respon arus hasil analisis asam urat tanpa penambahan matriks.

2.2.4 Uji waktu hidup (*lifetime*) sensor

Dilakukan uji terhadap ketahanan dan waktu hidup sensor dengan cara mempelajari penyimpangan respon arus yang dihasilkan setelah sensor digunakan untuk analisis sederetan larutan asam urat konsentrasi tertentu yang sama secara berulang-ulang dan dalam rentang waktu yang lama.

3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

3.1 Sintesis dan karakterisasi zeolit

Pada penelitian ini, dibuat sensor asam urat melalui modifikasi elektroda *glassy carbon* (GC) menggunakan zeolit. Jenis zeolit yang digunakan dalam penelitian ini adalah titanium silikalit-1 (TS-1). TS-1 terdiri dari rangkaian Si-O-Ti yang tersusun secara tetrahedral dimana Ti mensubstitusi sebagian silikon dalam kerangka. Prekursor yang digunakan adalah tetrabutil ortotitanat (TBOT) dan tetraetil ortosilikat (TEOS) sebagai sumber titanium dan sumber silika. Asam urat digunakan sebagai pengarah ukuran pori TS-1. Reaksi yang terjadi digambarkan pada persamaan 3.1.



Penjebakan asam urat pada saat sintesis zeolit menghasilkan NIZ. Proses ini bertujuan untuk memasukkan *template* asam urat ke dalam kerangka TS-1. NIZ yang dihasilkan dari penelitian ini berupa padatan putih. *Imprinted zeolit* (IZ) merupakan NIZ yang asam uratnya telah terekstraksi. Asam urat diekstraksi menggunakan air panas yang selanjutnya dipisahkan antara endapan dan filtratnya dengan cara sentrifugasi sampai asam urat dapat terekstrak dengan sempurna. IZ yang dihasilkan pada penelitian ini berupa padatan putih. Untuk mendapatkan padatan IZ kering, maka padatan IZ dipanaskan dalam oven pada temperatur 80°C.

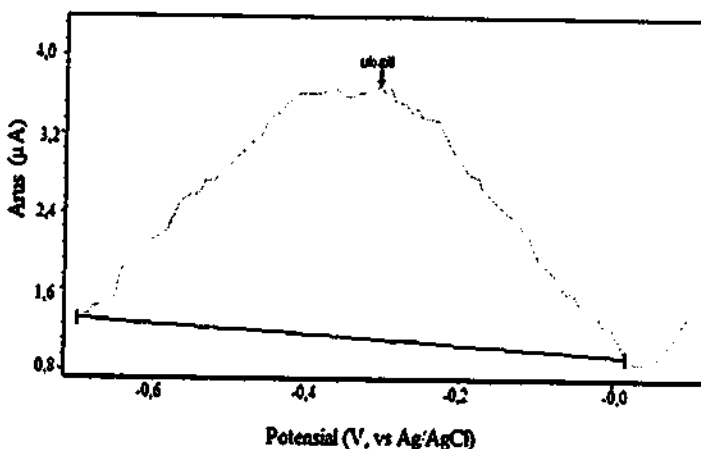
Karakterisasi menggunakan XRD memberikan informasi mengenai identifikasi struktur zeolit. Berdasar difraktogram diperoleh data bahwa keseluruhan puncak difraksi zeolit hasil sintesis muncul pada 2θ 7,96; 8,85; 23,2; 23,9; dan 24,4°. Puncak-puncak tersebut sesuai dengan puncak karakteristik MFI yang merupakan kerangka khas TS-1 (Treacy *et al.*, 2001). Pada 2θ sekitar 24,4° tidak terdapat puncak refleksi ganda, melainkan terdapat puncak refleksi tunggal. Ini menunjukkan bahwa telah terjadi perubahan struktur material dari monoklin (silikalit) menjadi ortorombik (TS-1) (Mondal dan Deka, 2007).

Karakterisasi zeolit menggunakan spektroskopi FTIR menunjukkan puncak spektra pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , dan 1050 cm^{-1} yang merupakan

puncak khas dari zeolit. Puncak pada bilangan gelombang 765 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur simetrik Si-O-Si, bilangan gelombang 970 cm^{-1} mengindikasikan adanya titanium (Si-O-Ti) dalam kerangka zeolit, dan bilangan gelombang 1050 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur asimetrik Si-O-Si (Bosman, 1995). Pada spektra NIZ tampak puncak pada bilangan gelombang 840 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , dan 3450 cm^{-1} yang merupakan puncak dari senyawa asam urat. Pada spektra IZ, terjadi pengurangan intensitas pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} yang merupakan puncak khas gugus karbonil yang berasal dari asam urat. Dengan demikian dapat disimpulkan asam urat telah terekstraksi dari kerangka zeolit, meskipun belum keseluruhan asam urat terlepas dari kerangka zeolit tersebut. Hasil karakterisasi menggunakan adsorpsi-desorpsi N_2 diperoleh bahwa zeolit memiliki diameter pori $3,836\text{ nm}$, sedangkan IZ memiliki diameter pori $2,186\text{ nm}$. Perbedaan ukuran pori menyebabkan analisis asam urat menggunakan GC-Z memberikan sinyal arus lebih rendah daripada GC-IZ.

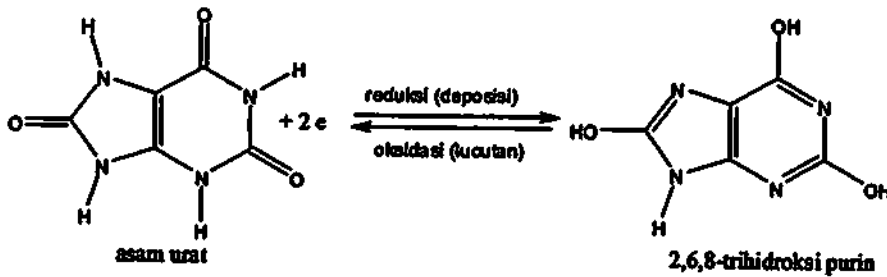
3.2 Pelapisan IZ pada permukaan elektroda GC

Pada penelitian ini tidak dilakukan pelapisan zeolit pada permukaan GC sebelum digunakan untuk analisis asam urat, karena zeolit membentuk suspensi pada media yang digunakan untuk analisis asam urat yaitu air. Pelapisan IZ dilakukan secara *in situ*. Dengan cara *in situ* tersebut, tidak perlu dilakukan optimasi potensial pelapisan IZ karena deposisi IZ dilakukan bersamaan dengan deposisi asam urat. Pada penelitian ini diperoleh potensial deposisi optimum $-0,6\text{ V}$ dan menghasilkan voltammogram dengan potensial puncak $-0,377\text{ V}$ (Gambar 1). Waktu optimum deposisi IZ dan asam urat adalah 150 detik.



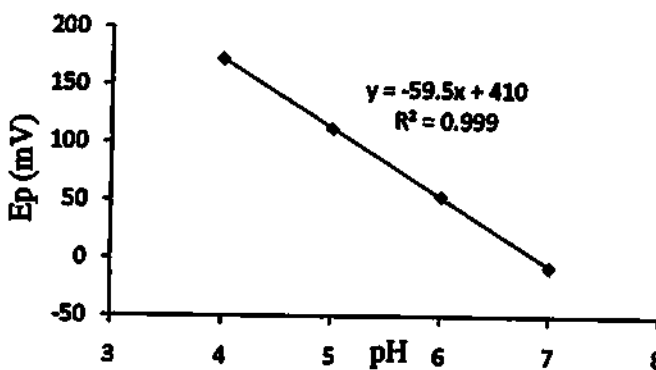
Gambar 1 Voltammogram asam urat menggunakan elektroda GC-IZ

Teknik voltametri untuk analisis asam urat dengan elektroda GC pada penelitian ini tergolong voltametri lucutan anodik. Potensial deposisi asam urat bernilai lebih negatif dibandingkan potensial puncak lucutannya, dengan demikian terjadi reaksi reduksi pada saat deposisi dan saat lucutan terjadi reaksi oksidasi. Reaksi redoks asam urat pada permukaan elektroda GC ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2 Reaksi deposisi dan lucutan asam urat pada permukaan elektroda

Pada optimasi pH, tidak didapatkan voltammogram asam urat yang bagus pada berbagai kondisi pH. Voltammogram yang dihasilkan tidak semulus voltammogram analisis asam urat sebelumnya yang tidak menggunakan larutan bufer. Hal ini menandakan bahwa asam urat telah terdeposisi dengan baik tanpa adanya bufer. Namun demikian untuk meminimalkan arus migrasi, pada penelitian ini ditambahkan larutan elektrolit pendukung berupa larutan KNO_3 1M. Data optimasi pH larutan asam urat ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3 Kurva hubungan antara pH dan potensial puncak lucutan (E_p) asam urat

Kurva hubungan antara pH larutan dan potensial puncak lucutan asam urat menghasilkan slope sebesar $-59,5$ mV. Hal ini menjelaskan bahwa reaksi redoks asam urat pada permukaan elektroda GC-IZ melibatkan 2 elektron dan 2H^+ , seperti yang telah dijelaskan pada reaksi Gambar 2.

3.3 Uji kinerja sensor

Hasil uji kinerja sensor menunjukkan bahwa analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ memiliki keterulangan yang bagus dibandingkan ketiga sensor lainnya. Analisis asam urat secara voltammetri larutan menggunakan elektroda GC-Z menghasilkan arus terendah dibandingkan elektroda lainnya. Hal ini dikarenakan permukaan elektroda GC terlapis oleh zeolit yang memiliki . Pori zeolit tersebut tidak sesuai dengan ukuran asam urat sehingga asam urat tidak dapat terdifusi melewati pori zeolit dan terdeposisi pada permukaan elektroda GC.

Tabel 1 Uji kinerja sensor secara voltammetri

Jenis sensor	Arus rata-rata (nA)	KV (%)
GC-IZ	619,9	1,891
GC	3082,0	4,281
GC-Z	489,6	13,443
GC-NIZ	3643,7	10,167

GC = *glassy carbon*

GC-IZ = *glassy carbon* termodifikasi *imprinting* zeolit

GC-Z = *glassy carbon* termodifikasi zeolit

GC-NIZ = *glassy carbon* termodifikasi *non imprinting* zeolit

Pada analisis asam urat ini, arus tertinggi dihasilkan dengan penggunaan elektroda GC-NIZ (Tabel 1). Pada NIZ, terdapat asam urat yang telah menempati pori zeolit. Selama proses analisis, terjadi proses reduksi oksidasi sehingga asam urat terlepas dari kerangka zeolit dan memberikan sinyal arus sehingga menambah sinyal arus asam urat dalam larutan. Analisis asam urat menggunakan elektroda GC tidak termodifikasi menghasilkan arus yang tinggi dibandingkan bila menggunakan elektroda GC-Z dan GC-IZ. Hal ini dikarenakan luas permukaan elektroda untuk kontak dengan asam urat lebih besar.

3.5 Uji validitas metode

Uji validitas metode dilakukan melalui pengukuran larutan baku asam urat dan dibuat regresi linier antara konsentrasi dan arus. Pengukuran terhadap larutan baku asam urat 0,95-4,76 ppb menghasilkan persamaan regresi $y = 136.7x - 4.728$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9834.

Nilai presisi (KV) yang diperoleh untuk rentang konsentrasi 0,95-4,76 ppb adalah 1,891%-7,649% (Tabel 2). Metode analisis asam urat menggunakan sensor termodifikasi pada penelitian ini memberikan presisi yang lebih kecil dari $2/3KV_{\text{Horwitz}}$ (30% untuk konsentrasi level ppb atau 10^{-9} M) (Harmita, 2004; Taverniers, *et al.*, 2004;

Workman dan Mark, 2006). Dengan demikian nilai presisi hasil penelitian ini memenuhi syarat keberterimaan secara statistik.

Tabel 2 Data arus larutan baku asam urat

Konsentrasi asam urat (ppb)	Arus rata-rata (nA)	% KV
0,95	138,3	7,649
1,90	216,2	5,162
2,85	397,4	5,662
3,81	556,3	3,850
4,76	619,9	1,891

Nilai sensitivitas metode analisis asam urat menggunakan sensor GC-IZ yang dikembangkan ini adalah $2,0 \mu\text{A/ppb/cm}^2$ ($0,33 \mu\text{A/nM/cm}^2$). Nilai sensitivitas ini cukup bagus, namun lebih rendah jika dibandingkan menggunakan elektroda GC dan GC-cetakan molekul yang telah dikembangkan sebelumnya (Khasanah, 2012).

Batas deteksi yang dihasilkan dari analisis asam urat menggunakan modifikasi elektroda GC-IZ pada penelitian ini sebesar 0,996 ppb ($5,9 \cdot 10^{-9} \text{ M}$). Nilai batas deteksi ini lebih rendah dari nilai batas deteksi yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yang menggunakan sensor berbasis GC (Zare *et al.*, 2005; Lin dan Jin, 2005; Zare *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2006; Lin dan Li, 2006; Wei *et al.*, 2006, Khasanah *et al.*, 2010^{a,b}); maupun elektroda pasta karbon termodifikasi zeolit terdoping Fe^{3+} yaitu $8,0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (Babaei *et al.*, 2008). Nilai batas deteksi yang diperoleh dari penelitian sekitar 10^4 kali lebih rendah jika dibandingkan menggunakan metode spektrofotometri ($1,2 \times 10^{-5} \text{ M}$). Dengan nilai batas deteksi yang rendah tersebut, maka dapat dilakukan deteksi asam urat di dalam tubuh secara dini dengan jumlah sampel yang sangat sedikit (skala μL).

Analisis sampel asam urat dengan metode voltametri lucutan menggunakan modifikasi elektroda GC-IZ memiliki akurasi sebesar 94,75% untuk konsentrasi 4,76 ppb. Nilai akurasi yang diperoleh dari penelitian ini sangat bagus dan memenuhi syarat keberterimaan (akurasi/recovery untuk konsentrasi ppb adalah 70-125%) (Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006).

3.6 Uji Selektivitas Sensor

Hasil uji selektivitas sensor pada larutan asam urat yang mengandung asam askorbat, kreatin dan kreatinin dengan konsentrasi sama dengan asam urat menjelaskan bahwa sensor GC-IZ yang dikembangkan ini memiliki selektivitas berturut-turut 5, 18 dan 2 kali lebih tinggi dibanding selektivitas elektroda GC (Tabel 3). Telah dilaporkan sebelumnya bahwa konsentrasi asam askorbat dan keratin/kreatinin dalam sampel

Tabel 3 Data hasil uji selektivitas sensor

[UA]:[matriks]	Penyimpangan yang disebabkan oleh matriks menggunakan elektroda					
	Asam askorbat		Kreatin		Kreatinin	
	GC	GC-IZ	GC	GC-IZ	GC	GC-IZ
1:1	14,20	3,49	6,87	0,38	5,42	2,76
1:2	-	4,44	16,60	4,14	12,62	4,52
1:3	-	6,59	30,60	17,28	18,95	5,00
1:4	-	7,06	95,29	19,63	25,79	6,81
1:5	16,10	9,14	97,57	19,77	28,46	6,38

[UA] = konsentrasi asam urat

GC = *glassy carbon*

GC-IZ = *glassy carbon* termodifikasi *imprinting zeolit*

Dari hasil yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan bahwa sensor berbasis IZ yang dikembangkan ini memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, batas deteksi yang rendah, presisi, akurasi dan selektivitas yang tinggi. Waktu hidup sensor GC-IZ seperti halnya waktu hidup GC, yaitu dapat digunakan untuk analisis berkali-kali namun harus dilakukan penambahan IZ untuk setiap kali analisis.

SIMPULAN

Sensor berbasis *imprinting zeolit* yang dikembangkan ini memiliki sensitivitas yang tinggi yaitu sebesar $2,0 \mu\text{A/ppb/cm}^2$. Keberadaan asam askorbat, kreatin dan kreatinin relatif tidak mengganggu analisis asam urat. Perlu dilakukan uji pengaruh penambahan senyawa lain yang terdapat dalam sampel serum terutama senyawa yang memiliki ukuran lebih kecil dibanding ukuran molekul asam urat dan memiliki sifat elektroaktif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ditjen Dikti melalui LPPM Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan dana penelitian sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

RUSTAKA

Babaei, A., Zandehdei, M., Khalilzadeh, B., and Taheri, A., 2008, Simultaneous determination of triptofan, uric acid and ascorbic acid at iron (III) doped zeolite modified carbon paste electrode, *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*, 66, 226-232.

Bosman, H.J.M., 1995, Characterization on the acidity of $\text{SiO}_2\text{-ZrO}_2$ mixed oxides, *Master Thesis: TechnischeUniversiteit Eindhoven*

- 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, *Sens. Actuators B*, 110, 364.
- Chen, P., Vittal, R., Nien, P., Liou, G. and Ho, K., 2010, A novel molecularly imprinted polymer thin film as biosensor for uric acid, *Talanta*, 80, 1145-1151.
- Eimer, G.A., Diaz, I., Sastre, E., Casuscelli, G.S., Crivello, M.E., Herrero, E.R., and Perez-Pariente, J., 2008, Mesoporous titanosilicates synthesized from TS-1 precursors with enhanced catalytic activity in the α -pinene selective oxidation, *Applied Catalysis A: General*, 343, 77-86.
- Gourishkina, T.B., Kurs, B.A., and Dzyadevych, S.V., 2010, Application of Zeolites for Immobilization of glucose in amperometric biosensors, *Sens. Electron. and Microsystem Technologies*, 1, 36-42.
- Harmita, 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3), 117-135.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Handajani, U.S., Fitriana, M., and Asmaningrum, W., 2007, Analysis of uric acid in urine and serum with voltammetry stripping analysis using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of ICOWOBAS*, Universitas Airlangga, 307-311.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Mudasir, Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Roheni, I., 2009, The influence of ascorbic acid on uric acid determination in serum and urine with stripping voltammetry using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of The 2nd ICOWOBAS-RAFSS*, Universiti Teknologi Malaysia, 94-99.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Wafiroh, S., Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Mudasir, 2010^a, Enhancement of the sensitivity and selectivity of the voltammetric sensor for uric acid using molecularly imprinted polymer, *Indo. J. Chem.*, 10 (3), 295-300.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Tambunan, F.N., Mudasir, Kuncaka, A. and Sugiharto, E., 2010^b, Molecularly imprinted polymethacrylic acid modified glassy carbon as a voltammetric sensor of uric acid analysis, *Proceeding on the 2nd ICCS*, UGM, Yogyakarta, p. 457-460.
- Khasanah, M., 2012, Pengembangan metode voltametri Lucutan untuk analisis asam urat melalupelapisan elektroda menggunakan polimer cetakan molekul, *Disertasi*, FMIPA UGM, Yogyakarta, 69-70.
- Lakshmi, D., Prasad B.B., and Sharma, P.S., 2006, Creatinine sensor based on a molecularly imprinted polymer modified hanging mercury drop electrode, *Talanta*, 70, 272-280.
- Lakshmi, D., Sharma, P.S. and Prasad, B.B., 2007, Imprinted polymer modified HMDE for DPCSV analysis of creatine, *Biosens. Bioelectron.*, 22, 3302-3308.
- 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, *Electrochim. Acta*, 51, 5794-5801.
- Lin, X. and Jin, G., 2005, Monolayer modification on glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid, *Electrochim. Acta*, 50, 3210 - 3216.
- Mondal, P., and Deka, R. C., 2007, Structure and Stability of Titanium Atoms in TS-1 Zeolite Using Density Functional Theory, *Bulletin of The Catalysis Society of India*, 6, 151-159.
- 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, *Biosens. Bioelectron.*, 21, 1086-1092.

- Treacy, M. M. J., Higgins, J. B. and von Balloms, R., 2001, *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolite*, 4th edition, Amsterdam: Elsevier
- Traverniers, I., De Loose, M., and Van Bockstaele, E., 2004, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem.*, 23 (8), 535-552.
- Wei, Y., Li, M., Jiao, S., Huang, Q., Wang, G and Fang, B., 2006, Fabrication of CeO nanoparticles modified glassy carbon electrode and its application for electrochemical determination of uric acid and ascorbic acid simultaneously, *Electrochim. Acta*, 52, 766-772.
- Workman, J.Jr. and Mark, H., 2006, Limitation in analytical accuracy, part I: Horwitz's trumpet, *Spectroscopy*, 21 (9), 18-24.
- 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, *Electrochim. Acta*, 50, 3495-3502.
- Zare, H.R., Rajabzadeh, N., and 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, *Electroanal. Chem.*, 589, 60 – 69.
- Zen, J.M., and Hsu, C.T., 1998, A Selective voltammetric method for uric acid detection at nafion-coated carbon paste electrode, *Talanta*, 46, 1363-1369.

Lampiran 7. Draft artikel luaran penelitian***Imprinting Zeolite-based Sensor for Detection of Uric Acid in Serum***

Miratul Khasanah, Muji Harsini, Alfa Akustia Widati

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya, 60115, Indonesia

corresponding author:miratulkhasanah@gmail.com

ABSTRACT

Development of the uric acid sensor through the coating of GC electrode with imprinting zeolite (IZ) was carried out. Zeolite was synthesized by mixing TEOS, TBOT, TPAOH, and water through hydrothermal process. Zeolite (Z) was molded by uric acid to produce imprinting zeolite (IZ). The deposition of IZ and uric acid were -0.6 V during 150 seconds with addition of KNO_3 0.02M as supporting electrolyte. The method validity obtained are linearity 0.9834 for concentration 0.95-4.76 ppb, precision 1.89-7.65%, sensitivity $2.0 \mu\text{A/nM/cm}^2$, limit of detection 0.996 ppb (5.9×10^{-9} M), and accuracy 94.75%. The developed sensor showed a high selectivity. Presence of ascorbic acid, creatine and creatinine with an equal concentration with uric acid did not interfere on the uric acid analysis. The developed GC-IZ sensor has a lifetime as long as the GC electrode.

Keywords: sensor, uric acid, stripping voltammetry, zeolite, glassy carbon

Uric acid is the end product of purine metabolism. The high concentration of uric acid in the body is symptoms of some diseases such as diabetes, high blood pressure, kidney and liver disease, and can increase risk of cardiovascular (Chen *et al.*, 2005). Determination of uric acid level that has been used in the biomedical field is by spectrophotometry. Analysis of uric acid using this method requires a relatively large number of samples (2-3 mL), has a low sensitivity and high detection limit (mM).

Voltammetry was used to the determination of the concentration and redox properties of a compound in the body fluids, such as uric acid. Uric acid analysis voltammetrically has been developed through the development of electrode for special-purpose lowering the limit of detection, increased sensitivity and selectivity because of uric acid coexist with other compounds whose structure is similar to that of uric acid in serum samples (Khasanah *et al.*, 2007; 2010^{a, b}).

In the recent study, the zeolite is used as an alternative material to modify the electrodes in order to obtain a selective sensor for detecting uric acid. Conformity with the pore size of zeolite, molecular size of uric acid could increase the adsorption capacity of zeolite that can provide high sensitivity in uric acid determination. The

form is rigid make zeolite is not prone to swelling in water so as to maintain the shape and size of the pore (selective) (Gourishkina *et al.*, 2010). Imprinting of zeolites (IZ) was synthesized by mixing of TEOS, TBOT and TPAH with uric acid. The sensor was synthesized by coating IZ on GC electrode at optimum potential and time. The performance, validity, and the lifetime of the sensor have been studied in this research.

EXPERIMENTAL SECTION

Materials

Chemicals used in this study were uric acid (Fluka), creatine, creatinine (Sigma-Aldrich), tetraethyl ortho silicate, tetrapropylammonium hidroksida, tetrabutyl ortotitanat, 2-propanol, ethanol, sodium acetate, acetic acid, sodium dihydrogen phosphate, sodium hydrogen phosphate and potassium nitrate (Merck). All chemicals were analytical grade (p.a). The stock solution of uric acid 1000 mg/L was prepared by dissolving 0.1000 g uric acid in about 10 mL sodium hydroxide 50% and diluted with ultra high pure (UHP) water until 100 mL in volumetric flask. Working uric acid solutions under 1 mg/L were prepared daily by diluting appropriate working solution. The water used in this research is ultra high pure (UHP) water and high purity N₂.

Instrumentation

The instrumentations used in this study were 797 Computrace Voltammetry (MVA system-1) equipped with a sample container, stirrer, processor units, PCs, glassy carbon (BAS MF-2012, d= 3mm), reference electrode Ag/AgCl (KCl 3M) and Pt auxiliary electrodes; FTIR (Shimadzu), BET (Quantachrome NovaWin version 2.1); pH meter; and other supporting equipments.

Procedure

Synthesis and characterization of zeolite

MFI zeolite synthesized by mixing as much as 35 g of TEOS into the 0.9 g TBOT, then stirred for 30 minutes at room temperature. A total of 20 g TPAH added to the mixture, then stirred for 15 hours, so that the mixture obtained has a mole ratio of 1 TEOS: 0.017 TiO₂: 0.24 TPAH: 21.2 H₂O. The mixture is formed hydrothermally at 80 °C during 4 days. Some uric acid is added to the mixture to obtain a molar ratio of uric acid / Si = 2.98x10⁻⁴. Subsequently, the mixture allowed ageing for 3 hours (Eimer *et al.*, 2008). For comparison, in the same way, do the synthesis of zeolites (not the addition of uric acid) and non-imprinting zeolite (uric acid is not extracted from the

zeolite). Furthermore, the synthesized solids (zeolites, zeolite imprinting and non-imprinting zeolite) characterized using FTIR, x-ray diffraction (XRD), and N₂ adsorption-desorption.

Synthesis and performance test of the sensor

The imprinting zeolite was in situ coated on GC electrode. A number of 20 mL of uric acid solution is inserted into the electrochemical cell and added with a certain amount of IZ. The coated potential is +1 V to -1 V (vs. Ag / AgCl). Coating time varied from 30-180 seconds, while the pH of the solution was conducted from pH 4-7. Further coating of zeolite and non-imprinting zeolite (NIZ) on GC electrode surface using potential and optimum time. Sensor of GC-IZ, GC, GC-zeolite (GC-Z) and GC-NIZ was applied to analyze uric acid with an optimum pH and observed the potential and current.

Method validity

A series of uric acid standard solution with concentration of 0.95; 1.90; 2.85; 3.80 and 4.76 ppb were analyzed by voltammetry using GC-IZ sensor. The data of standard solution current was used to test the linearity, limit of detection, sensitivity, and precision. Accuracy studied by analyzing the concentration of uric acid solution of 4.76 ppb. The selectivity of the sensor studied through the addition of other compounds (matrix) which is always coexist with uric acid in serum sample (ascorbic acid, creatine, and creatinine) on the uric acid analysis. Comparison of the concentration of uric acid and the matrix added is 1:1, 1:2; 1:3; 1:4 and 1:5. Then the current response is compared to the results of the current response of uric acid without the addition of a matrix.

Life time of the GC-IZ sensor

The lifetime of the sensor was tested by studying currents deviations generated after the sensor is used to analyze a series of specific concentrations of uric acid solution in the range of time of analysis.

RESULT AND DISCUSSION

Synthesis and characterization of zeolite

Type of zeolite used in this study is titanium silicalite-1 (TS-1). TS-1 consists of a series of Si-O-Ti were arranged in a tetrahedral which partially substituting Ti silicon in the framework. Precursors used are tetrabutyl ortotitanat (TBOT) and tetraethyl orthosilicate (TEOS) as a source of titanium and silica sources, and tetrapropil amoniumhidroksida (TPAH) as a structure steering agent and alkaline conditions. Uric acid is used as template and a directional pore size of TS-1. Trapping of uric acid during zeolite synthesis produces NIZ. A number of uric acid as a template is added to the mixture to obtain a molar ratio of uric acid / Si = 2.98×10^{-4} . The next stage is ageing mixture for 3 hours to trap the uric acid into the framework of TS-1 and produce non imprinted zeolite (NIZ). Uric acid was then extracted from the zeolite framework by repeatedly washing with hot water to form imprinting zeolite (IZ) and then separated between the sediment and the filtrate by centrifugation. NIZ and IZ generated in this study are the white solids.

XRD diffractogram data showed that the overall synthesized zeolite diffraction peaks appear at 2θ of 7.96; 8.85; 23.2; 23.9, and 24.4°. These peaks correspond to the characteristic of MFI that is typical TS-1 framework (Treacy *et al.*, 2001). At 2θ around 24.4° there is a single reflection peak. This shows that there has been change in the material structure of the monoclinic (silicalite) to orthorhombic (TS-1) (Mondal and Deka, 2007). Characterization using FTIR spectroscopy shows the peak at wavenumber 765 cm^{-1} , 970 cm^{-1} , and 1050 cm^{-1} which is the typical peak of the zeolite. Peak at 765 cm^{-1} indicates the symmetric stretching of Si-O-Si, at 970 cm^{-1} indicate the presence of titanium (Si-O-Ti) in the zeolite framework, and the 1050 cm^{-1} indicate the presence of stretching asymmetric Si-O-Si (Bosman, 1995). The NIZ spectra appear peaks that show characteristic spectra of zeolite, and at 840 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , and 3450 cm^{-1} are the characteristic peak of uric acid. In IZ spectra, there is a reduction in the intensity of peak at 1650 cm^{-1} which is the typical peak of the carbonyl group derived from uric acid. It can be concluded that uric acid was extracted from the zeolite framework, although not overall uric acid extracted successfully. The results of N_2 adsorption-desorption characterization was found that zeolite has a pore diameter of 3.836 nm, while the IZ has a pore diameter of 2.186 nm. The difference in pore size caused uric acid analysis using GC-Z gave the lower signal current than the GC-IZ.

Coating of GC electrode with imprinting zeolite

In this research not conducted zeolite coating on the surface of the GC before use for analysis of uric acid, because the zeolite to form a suspension in the water medium. IZ coating performed *in situ*, ie IZ incorporated into uric acid solution and deposited together with uric acid. Thus supporting electrode (GC) can be used many times of analysis, but must be added IZ for each sample analysis. The optimum deposition potential of uric acid and IZ is -0.6 V during 150 s and yield the peak potential -0.376 V. Potential deposition of uric acid was more negative than its stripping peak potential, thus the reduction reaction occurs at the time of deposition and oxidation reaction when the discharge occurs. Thus, uric acid analysis techniques with GC sensor in this study belong anodic stripping voltammetry. At pH optimization, the best voltammogram obtained in a solution with a pH 7 without buffer addition. To minimize the migration current, was added KNO_3 0.02 M as supporting electrolyte in the solution.

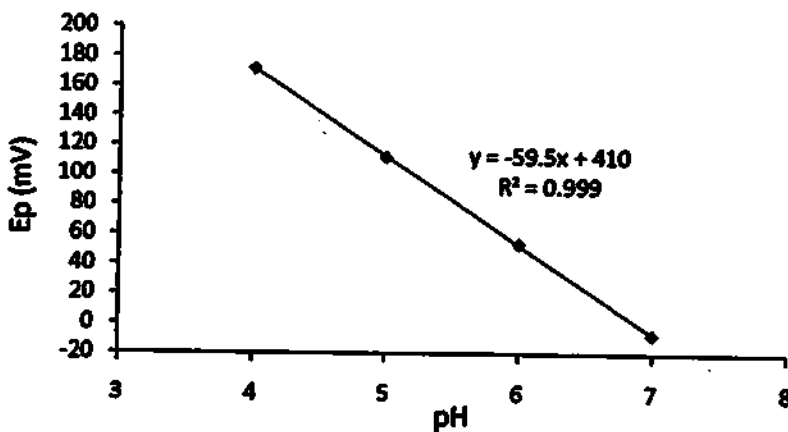


Fig 1. Stripping potential versus pH of uric acid solution

The pH vs E_p curve shows relationship between the pH of the solution and the stripping potential produced slope of -59.5 mV. It is clear that the redox reaction of uric acid on the GC-IZ surface involves two electrons and two protons (H^+).

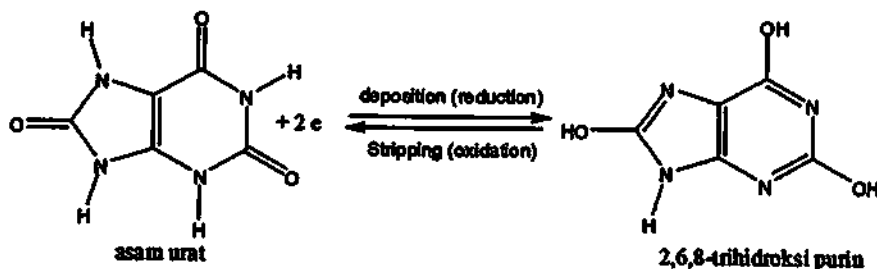


Fig 2. Redox reaction of uric acid

Performance of the GC-IZ sensor

The sensor performance test showed that GC-IZ has good repeatability compared to the three other electrodes. Analysis of uric acid using GC-IZ sensor produces a low current, but not as low as when using GC-Z, because the IZ layer has pores that have been printed by uric acid so that uric acid molecules can diffuse through the IZ porous toward GC surface. The highest currents generated using GC-NIZ sensor, then successively smaller the GC, GC-IZ and GC-Z.

Table 1. The uric acid current measured using GC-IZ, GC, GC-Z, and GC-NIZ sensor

Sensor	Current(nA)	RSD (%) (n=3)
GC-IZ	619.9	1.891
GC	3082.0	4.281
GC-Z	489.6	13.443
GC-NIZ	3643.7	10.167

Method validity

Measurement of uric acid standard solution 0.95 to 4.76 ppb generate the regression equation of $y = 136.7x - 4728$ with a correlation coefficient (r) = 0.9834. The t-test on r obtained t_{count} (6.3846) greater than the t_{table} (2.920), showed a linear relationship between the concentration of uric acid to the current. Precision (RSD) value obtained was 1.891% -7.649%. Uric acid analysis method using developed sensor in this study provide a smaller precision than $2/3RSD_{Horwitz}$ (30% to ppb level or 10^{-9} M) (Harmita, 2004; Taverniers, *et al.*, 2004; Workman and Mark, 2006). Thus, the value of precision statistically qualified acceptance. Sensitivity of the developed method is $2.0 \mu A/ppb/cm^2$ ($0.33 \mu A/nM/cm^2$). Sensitivity value is good enough, but lower than uses GC and GC-imprinting polymer that have been developed previously (Khasanah, 2012). Detection limits resulted from this study of 0.996 ppb (5.9×10^{-9} M). Detection limit values was obtained using developed sensor in this study was much smaller when compared to the results obtained from previous studies (Zare *et al.*, 2005; Lin and Jin, 2005; Zare *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2006; Lin and Li, 2006; Wei *et al.*, 2006; Babaei *et al.*, 2008). The detection limit is about 10^4 times lower than using spectrophotometric method (1.2×10^{-5} M). With a low detection limit, the detection of uric acid in the body at an early stage with a very small amount of sample (mL) can be done. The accuracy of 4.76 ppb uric acid was 94.75%. The accuracy obtained from this study is very good and qualified acceptance (accuracy/recovery for ppb concentration is 70-125%) (Taverniers, *et al.*, 2004; Workman and Mark, 2006).

Selectivity

Analysis of uric acid using the sensor on the solution containing ascorbic acid, creatine and creatinine with similar concentration to uric acid, showed the selectivity 5, 18 and 2 times higher respectively than using GC electrode. The normal concentration of ascorbic acid and creatine/creatinine in the serum sample reported was one tenth and one fourth of uric acid concentration, respectively (Chen *et al.*, 2010; Lakshmi *et al.*, 2006; 2007).

Table 2. Deviation of the uric acid current caused by adding ascorbic acid, creatine and creatinine

[UA]:[matrix]	Deviation of the current response					
	Ascorbic acid		Creatine		Creatinine	
	GC	GC-IZ	GC	GC-IZ	GC	GC-IZ
1:1	14.20	3.49	6.87	0.38	5.42	2.76
1:2	-	4.44	16.60	4.14	12.62	4.52
1:3	-	6.59	30.60	17.28	18.95	5.00
1:4	-	7.06	95.29	19.63	25.79	6.81
1:5	16,10	9.14	97.57	19.77	28.46	6.38

[UA] = uric acid concentration; [matrix] = ascorbic acid, creatine or creatinine concentration, - = not observed

CONCLUSIONS

It can be concluded that the IZ-based sensor developed has high enough sensitivity, precision, accuracy, selectivity and low detection limit. GC-IZ sensor has life time as well as the GC electrode, which can be used for many times analysis, but the analysis must be added IZ for each sample analysis.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to acknowledge to DIKTI for financial support of this research through the Universitas Airlangga. The present research was financially supported by the DIPA of Universitas Airlangga under the Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi LPPM, 2010, based on Surat Keputusan Rektor, No: 2613/H3/KR/2012, March, 9th 2012.

REFERENCES

- Babaei, A., Zandehdel, M., Khalilzadeh, B., and Taheri, A., 2008, Simultaneous determination of triptofan, uric acid and ascorbic acid at iron (III) doped zeolite modified carbon paste electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 66, 226-232.

- Bosman, H.J.M., 1995, Characterization on the acidity of $\text{SiO}_2\text{-ZrO}_2$ mixed oxides, *Master Thesis: TechnischeUniversiteit Eindhoven*
- 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, *Sens. Actuators B*, 110, 364.
- Chen, P., Vittal, R., Nien, P., Liou, G. and Ho, K., 2010, A novel molecularly imprinted polymer thin film as biosensor for uric acid, *Talanta*, 80, 1145-1151.
- Eimer, G.A., Diaz, I., Sastre, E., Casuscelli, G.S., Crivello, M.E., Herrero, E.R., and Perez-Pariente, J., 2008, Mesoporous titanosilicates synthesized from TS-1 precursors with enhanced catalytic activity in the α -pinene selective oxidation, *Applied Catalysis A: General*, 343, 77-86.
- Gourishkina, T.B., Kurs, B.A., and Dzyadevych, S.V., 2010, Application of Zeolites for Immobilization of glucose in amperometric biosensors, *Sens. Electron. and Microsystem Technologies*, 1, 36-42.
- Harmita, 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3), 117-135.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Handajani, U.S., Fitriana, M., and Asmaningrum, W., 2007, Analysis of uric acid in urine and serum with voltammetry stripping analysis using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of ICOWOBAS, Universitas Airlangga*, 307-311.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Mudasir, Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Roheni, I., 2009, The influence of ascorbic acid on uric acid determination in serum and urine with stripping voltammetry using hanging mercury drop electrode, *Proceeding of The 2nd ICOWOBAS-RAFSS, Universiti Teknologi Malaysia*, 94-99.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Wafiroh, S., Kuncaka, A., Sugiharto, E., and Mudasir, 2010^a, Enhancement of the sensitivity and selectivity of the voltammetric sensor for uric acid using molecularly imprinted polymer, *Indo. J. Chem.*, 10 (3), 295-300.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Tambunan, F.N., Mudasir, Kuncaka, A. and Sugiharto, E., 2010^b, Molecularly imprinted polymethacrylic acid modified glassy carbon as a voltammetric sensor of uric acid analysis, *Proceeding on the 2nd ICCS, UGM, Yogyakarta*, p. 457-460.
- Khasanah, M., 2012, Pengembangan metode voltammetri Lucutan untuk analisis asam urat melaluipelapisan elektroda menggunakan polimer cetakan molekul, *Disertasi, FMIPA UGM, Yogyakarta*, 69-70.
- Lakshmi, D., Prasad B.B., and Sharma, P.S., 2006, Creatinine sensor based on a molecularly imprinted polymer modified hanging mercury drop electrode, *Talanta*, 70, 272-280.
- Lakshmi, D., Sharma, P.S. and Prasad, B.B., 2007, Imprinted polymer modified HMDE for DPCSV analysis of creatine, *Biosens. Bioelectron.*, 22, 3302-3308.
- 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, *Electrochim. Acta*, 51, 5794-5801.
- Lin, X. and Jin, G., 2005, Monolayer modification on glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid, *Electrochim. Acta*, 50, 3210 - 3216.

- Mondal, P., and Deka, R. C., 2007, Structure and Stability of Titanium Atoms in TS-1 Zeolite Using Density Functional Theory, *Bulletin of The Catalysis Society of India*, 6, 151-159.
- 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, *Biosens. Bioelectron.*, 21, 1086-1092.
- Treacy, M. M. J., Higgins, J. B. and von Ballom, R., 2001, *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolite*, 4th edition, Amsterdam: Elsevier
- Travemiers, I., De Loose, M., and Van Bockstaele, E., 2004, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem.*, 23 (8), 535-552.
- Wei, Y., Li, M., Jiao, S., Huang, Q, Wang, G and Fang, B., 2006, Fabrication of CeO nanoparticles modified glassy carbon electrode and its application for electrochemical determination of uric acid and ascorbic acid simultaneously, *Electrochim. Acta*, 52, 766-772.
- Workman, J.Jr. and Mark, H., 2006, Limitation in analytical accuracy, part I: Horwitz's trumpet, *Spectroscopy*, 21 (9), 18-24.
- 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, *Electrochim. Acta*, 50, 3495-3502.
- Zare, H.R., Rajabzadeh, N., and 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, *Electroanal. Chem.*, 589, 60 – 69.

Lampiran 8 Sinopsis penelitian lanjutan

Topik penelitian : Pengembangan metode pemonitor pasien dengan fokus pada penentuan kadar asam urat dalam serum pasien menggunakan sensor yang sensitif, selektif dan berbahan baku murah serta memiliki waktu hidup yang tinggi

Obyek penelitian : Pengembangan metode penentuan kadar asam urat secara voltammetri menggunakan sensor berbasis *imprinting* zeolit yang dapat digunakan untuk mendeteksi kadar asam urat dalam serum secara sensitif (skala nanomolar/nM), selektif (tidak diganggu analit lain), dan efisien (sensor dapat digunakan berkali-kali/waktu hidup lama)

Fermasalahan:

1. Bagaimana pembuatan dan uji kinerja sensor GC-IZ untuk analisis asam urat secara voltammetri?
2. Bagaimanakah validitas sensor GC-IZ meliputi batas deteksi, sensitivitas, presisi dan akurasi, *recovery* dan selektivitas?
3. Berapakah waktu hidup sensor GC-IZ?
4. Bagaimanakah *recovery* dan keterpakaian sensor GC-IZ untuk analisis asam urat dalam sampel serum?
5. Bagaimanakah validitas metode yang dikembangkan dibandingkan metode spektrofotometri yang dianggap sebagai metode baku dan telah digunakan secara luas untuk analisis asam urat dalam bidang kesehatan?

Hasil penelitian sebelumnya (tahun ke-1)

Hasil uji kinerja sensor menunjukkan bahwa analisis menggunakan sensor GC-IZ memiliki keterulangan yang bagus. Pengukuran terhadap larutan baku asam urat 0,95-4,76 ppb menghasilkan koefisien korelasi (r) regresi sebesar 0,9834. Dari uji-t terhadap nilai r ini menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi larutan baku asam urat terhadap arus yang dihasilkan. Nilai presisi yang diperoleh untuk rentang konsentrasi 0,95-4,76 ppb adalah 1,891%-7,649%. Nilai presisi tersebut memenuhi syarat keberterimaan secara statistik. Nilai sensitivitas yang diperoleh

cukup bagus, namun lebih rendah jika dibandingkan menggunakan elektroda GC dan GC-cetakan molekul yang telah dikembangkan sebelumnya (Khasanah, 2012).

Batas deteksi yang dihasilkan dari penelitian ini sebesar 0,996 ppb ($5,9 \cdot 10^{-9}$ M), yaitu sekitar 10^4 kali lebih rendah jika dibandingkan menggunakan metode spektrofotometri ($1,2 \cdot 10^{-5}$ M). Dengan nilai batas deteksi yang rendah tersebut, maka dapat dilakukan deteksi asam urat di dalam tubuh secara dini dengan jumlah sampel yang sangat sedikit (level μ L). Analisis sampel asam urat dengan metode voltametri lucutan menggunakan sensor GC-IZ memiliki akurasi sebesar 94,75% untuk konsentrasi 4,76 ppb. Nilai akurasi yang diperoleh dari penelitian ini sangat bagus dan memenuhi syarat keberterimaan (akurasi/recovery untuk konsentrasi ppb adalah 70-125%) (Taverniers, *et al.*, 2004; Workman dan Mark, 2006).

Hasil uji selektivitas sensor pada larutan asam urat yang mengandung asam askorbat, keratin dan kreatinin dengan konsentrasi sama dengan asam urat, sensor GC-IZ yang dikembangkan ini memiliki selektivitas berturut-turut 5, 18 dan 2 kali lebih tinggi dibanding selektivitas elektroda GC. Dari hasil yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan bahwa sensor berbasis IZ yang dikembangkan ini memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, batas deteksi yang rendah, presisi, akurasi dan selektivitas yang tinggi. Waktu hidup sensor GC-IZ seperti halnya waktu hidup GC, yaitu dapat digunakan untuk analisis berkali-kali namun harus dilakukan penambahan IZ untuk setiap kali analisis.

Dengan demikian perlu dilakukan penelitian lanjutan (tahun ke-2) mengenai

1. Optimasi ukuran pori zeolit agar sensitivitas dan selektivitas sensor dapat ditingkatkan
2. Uji *recovery* dalam matriks serum
3. Uji keterpakaian sensor untuk analisis asam urat dalam sampel serum
4. Uji perbandingan metode yang dikembangkan dengan metode yang sudah dianggap baku di bidang medis (uji perbandingan dengan laboratorium klinis)

Hasil penelitian (luaran) yang diharapkan

1. Artikel yang dipublikasikan dalam jurnal nasional terakreditasi/jurnal internasional
2. Prototipe/metode alternatif untuk analisis asam urat dalam sampel serum