



UNIVERSITAS AIRLANGGA

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5914042, 5914043, 5912546, 5912564 Fax (031) 5981841
Website : <http://www.unair.ac.id> ; e-mail : rektor@unair.ac.id

SALINAN

**KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOMOR 586/UN3/2017**

TENTANG

**PELAKSANAAN PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2017**

REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA,

- Menimbang :
- a. bahwa dalam rangka pelaksanaan penelitian sebagai salah satu wujud dari Tri Dharma Perguruan Tinggi, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian dimaksud;
 - b. bahwa sesuai hasil seleksi proposal Penelitian yang didanai melalui Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Tahun 2017, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian sebagaimana pada huruf a;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2017;

- Mengingat :
- 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
 - 2. Undang - Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Tahun 2012 Nomor 5336);
 - 3. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954.(Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);

4. Peraturan Pemerintah Nomor 37 Tahun 2009 tentang Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 76, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5007);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 26 Tahun 2015 tentang Bentuk dan Mekanisme Pendanaan Perguruan Tinggi Negeri Badan Hukum (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2015 Nomor 110, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5699);
8. Keputusan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 1032/UN3.MWA/K/2015 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Airlangga Periode 2015-2020;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 36 Tahun 2016 tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Rektor Nomor 23 Tahun 2015 tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga;
10. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1285/UN3/2015 tentang Pengangkatan Ketua pada Lembaga dan Kepala Perpustakaan di Lingkungan Universitas Airlangga.

Meperhatikan : Surat Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga Nomor 653/UN3.14/LT/2017, tanggal 8 Mei 2017, perihal Permohonan Surat Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2017.

MEMUTUSKAN :

MENETAPKAN : KEPUTUSAN REKTOR TENTANG PELAKSANAAN PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA TAHUN ANGGARAN 2017

PERTAMA : Menetapkan Hasil Seleksi Proposal Penelitian Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2017.

KEDUA : Penerima Penelitian Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2017 sebanyak 205 (dua ratus lima) judul, dengan susunan nama Tim Peneliti sebagaimana tercantum dalam Lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Rektor ini.

- KETIGA : Biaya untuk pelaksanaan kegiatan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA adalah sebesar Rp 25.470.202.000,00 (Dua Puluh Lima Milyar Empat Ratus Tujuh Puluh Juta Dua Ratus Dua Ribu Rupiah), terdiri dari dana kegiatan penelitian sebesar Rp. 24.045.202.000,00 dan biaya tambahan sebesar Rp. 1.425.000.000,00.
- KEEMPAT : Dalam melaksanakan tugasnya, penerima penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA, bekerja secara jujur dan transparan dengan berpedoman pada peraturan dan ketentuan-ketentuan yang berlaku, serta bertanggungjawab kepada Rektor melalui Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga.
- KELIMA : Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum PERTAMA adalah selama 8 (delapan) bulan terhitung mulai tanggal **1 April s.d 31 Oktober 2017**.
- KEENAM : Biaya pelaksanaan Keputusan ini dibebankan pada dana DIPA Direktorat Jnderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2017, tanggal 7 Desember 2016.
- KETUJUJUH : Apabila di kemudian hari ditemukan data yang tidak sesuai dengan fakta maka status penelitian yang bersangkutan dinyatakan gugur.
- KEDELAPAN : Keputusan Rektor ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan.

Salinan disampaikan Yth :

1. Pimpinan Unit Kerja di Lingkungan Unair
2. Yang bersangkutan

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 12 Mei 2017

REKTOR,

ttd

MOHAMMAD NASIH
NIP. 196508061992031002



Salinan sesuai dengan aslinya
Sekretaris Universitas,

Koko Srimulyo, Drs., M.Si.

**DAFTAR PENDANAAN PENELITIAN DRPM KEMENRISTEK DIKTI
UNIVERSITAS AIRLANGGA TAHUN 2017**

NO	SKIM	NIDN	TIM PENELITI	FAKULTAS	JUDUL PENELITIAN	DANA PENELITIAN (Rp)	DANA TAMBAHAN (Rp)	STATUS
179	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0004036705 0005058503 0029095603	1. Dr. Dra. Miratul Khasanah, M.Si. 2. Alfa Akustia Widati, S.Si., M.Si. 3. Dra. Usreg Sri Handajani, M.Si.	FST	Sensor Potensiometrik Kreatinin Berbasis Imprinting Zeolit untuk Deteksi Dini Kelainan Fungsi Ginjal	100.980.000	0	Baru
180	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0028125404 0006106303 9900986270	1. Dr. Dra. Rosmanida, M.Kes. 2. Dr. Dra. Hamidah, M.Kes. 3. Dr. Subagyo Yotopranoto, dr, DAP&E	FST	Karakterisasi dan Identifikasi Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Breeding Site Vektor Demam Berdarah Dengue dan Chikungunya	100.000.000	0	Baru
181	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0026066802 0009075803	1. Prof. Dr. Retna Apsari, M.Si. 2. Prof. Dr. Anita Yuliaty, drg. M.Kes.	FST	Laser Induced Breakdown Spectroscopy Dengan Kombinasi Eksogen Fotosensitizer Lokal Untuk Terapi Penyembuhan Karies Gigi Minimal Invasif	155.000.000	0	Baru
182	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0005077203 0025017002 0028096403 0025058010	1. Dr. Khusnul Ain, S.T, M.Si. 2. Dr. Ir. Soegianto Soelistiono, M.Si. 3. Drs. R. Arif Wibowo, M.Si. 4. Lailatul Muniroh, S.KM., M.Kes	FST	Rancang Bangun Penganalisis Impedansi Bioelektrik Multifrekuensi sebagai Perangkat Diagnostik Gizi Buruk pada Balita	100.000.000	0	Baru
183	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0014077104 0001056806 0031036604	1. Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes. 2. Dr. Dra. Ni'matuzahroh 3. Dr. Ir. Lilis Sulistyorini, M.Kes.	FST	Bioteknologi Produksi Senyawa Antibakteri dan Antifungi dari Kultur Kalus Sirih Hitam (Piper betle var Nigra) Spesies Asli Indonesia	125.000.000	0	Baru
184	Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT)	0006026502 0022046503	1. Dra. Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D. 2. Dr. Mulyadi Tanjung, Drs., M.S.	FST	Pengembangan Senyawa Baru Alkaloid Furokuinolin Terisoprenilasi Dari Melicope moluccana T.G. Hartley Sebagai Lead Compound Antimalaria dan Antikanker	100.000.000	0	Baru

**LAPORAN AKHIR TAHUN
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)**



**SENSOR POTENSIOMETRIK KREATININ BERBASIS *IMPRINTING*
ZEOLIT UNTUK DETEKSI DINI KELAINAN FUNGSI GINJAL**

TAHUN KE-1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dr. MIRATUL KHASANAH, M.Si	0004036705
ALFA AKUSTIA W., S.Si., M.Si	0005058503
Dra. USREG SRI HANDAJANI, M.Si	0029095603

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDRAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN KONTRAK PENELITIAN
NOMOR: 004/ADD/SP2H/LT/DRPM/VIII/2017**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2017**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Sensor Potensiometrik Kreatinin Berbasis Imprinting Zeolit untuk Deteksi Dini Kelainan Fungsi Ginjal

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Dra MIRATUL KHASANAH, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 0004036705
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 08123077233
Alamat surel (e-mail) : miratulhasanah@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : ALFA AKUSTIA WIDATI S.Si, M.Si
NIDN : 0005058503
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)

Nama Lengkap : Dra USREG SRI HANDAJANI M.Si
NIDN : 0029095603
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)


Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 91,589,000
Biaya Keseluruhan : Rp 197,729,000

Mengetahui,
Dekan FST Unair



(Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D)
NIP/NIK 19610616 198701 1001

Kota Surabaya, 9 - 11 - 2017
Ketua,



(Dr. Dra MIRATUL KHASANAH, M.Si)
NIP/NIK 196703041992032001

Menyetujui,
Sekretaris Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Dr. Ir. Sri Hidanah, M.S.)
NIP/NIK 196108031986012001

RINGKASAN

Tingginya konsentrasi kreatinin di dalam tubuh seringkali dikaitkan dengan kelainan fungsi ginjal sehingga diperlukan monitoring dan deteksi secara dini terhadap kadar kreatinin dalam tubuh. Metode yang umum digunakan dalam bidang kesehatan untuk mengukur kadar kreatinin adalah metode Jaffe secara spektrofotometri. Namun analisis kreatinin dengan metode ini memerlukan jumlah sampel yang banyak, memerlukan pereaksi kimia yang mahal, perlakuan sampel yang rumit, serta memiliki batas deteksi yang relatif tinggi. Tujuan penelitian yang dilakukan ini adalah mengembangkan metode deteksi kreatinin secara potensiometri melalui pengembangan sensor berbasis *imprinting* zeolit. *Imprinted* zeolit (IZ) dibuat dengan mencampurkan tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrabutyl ortotitanat (TBOT), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), dan akuades dengan rasio mol TEOS:TBOT:TPAOH:H₂O=1: 0,017 : 0,24 : 21,1. Kreatinin ditambahkan ke dalam campuran dan selanjutnya diekstraksi dari struktur zeolit sehingga terbentuk cetakan yang diharapkan spesifik untuk kreatinin. Hasil karakterisasi dengan XRD menunjukkan bahwa zeolit hasil sintesis merupakan zeolit jenis titanium silikalit 1 (TS-1) yang mempunyai struktur MFI (*Mobile Five I*). Elektroda karbon nanopori/IZ yang memiliki kinerja optimum terbuat dari karbon nanopori, IZ, dan parafin dengan perbandingan massa 45:20:35. Dari penelitian didapatkan pH kerja larutan kreatinin sebesar 6-7, faktor Nernst sebesar 31,1 mV/dekade, jangkauan pengukuran 10⁻³-10⁻⁷ M, dengan linieritas kurva kalibrasi sebesar 0,9993, dan batas deteksi metode 1,05x10⁻⁷ M. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya urea tidak mengganggu proses pengukuran larutan standar kreatinin. Elektroda ini memiliki akurasi pengukuran sebesar (93,1±6,6)%(n=5), sedangkan nilai presisi yang dinyatakan dengan koefisien variasi adalah 0,96-2,56%. Waktu respon untuk konsentrasi kreatinin 10⁻⁷-10⁻³ M adalah 135-170 detik. Elektroda masih memberikan kinerja yang bagus hingga pemakaian 165 kali (selama 4 minggu).

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga kami dapat melaksanakan Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) Universitas Airlangga tahun 2017. Penelitian yang berjudul “**Sensor Potensiometrik Kreatinin Berbasis *Imprinting* Zeolit untuk Deteksi Dini Kelainan Fungsi Ginjal**” ini diharapkan menghasilkan metode alternatif untuk penentuan kadar kreatinin dalam serum disamping metode spektrofotometri yang umum digunakan di bidang medis, sehingga dapat memperkaya riset di bidang analisis yang menunjang bidang medis.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada

1. Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kemenristek Dikti; Rektor dan Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga atas kesempatan dan pendanaan yang diberikan kepada kami 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, laboran dan analis di lingkungan Departemen Kimia FST 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, 09 November 2017
Tim peneliti

DAFTAR ISI

	hal
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Analisis Kreatinin	3
2.2 Sensor Pasta Karbon Nanopori Termodifikasi <i>Imprinting</i> Zeolit	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian	7
3.2 Manfaat Penelitian	7
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	9
4.2 Bahan dan Sampel Penelitian	9
4.3 Peralatan Penelitian	9
4.4 Prosedur Penelitian	9
4.5 Diagram Alir dan Luaran Penelitian.....	13
BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	
5.1 Hasil Penelitian dan Pembahasan	14
5.1.1 Sintesis zeolit, <i>non imprinted</i> zeolit (NIZ), dan <i>imprinted</i> zeolit (IZ)	14
5.1.2 Karakterisasi zeolit, <i>non imprinted</i> zeolit (NIZ), dan <i>imprinted</i> zeolit (IZ)	17
5.1.3 Optimasi komposisi elektroda	20
5.1.4 Optimasi pH larutan	24
5.1.5 Kurva standar, uji kinerja elektroda dan validitas metode analisis	25
5.1.6 Uji coba elektroda pada sampel serum	30
5.1.7 Waktu hidup elektroda	30
5.2 Luaran Yang Dicapai	31
BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	31
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	32
7.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No Tabel	Judul Tabel	hal
4.1	Komposisi karbon nanopori, IZ dan parafin pada pembuatan sensor pasta karbon nanopori	10
5.1	Data bilangan gelombang spektra FTIR zeolit, NIZ, dan IZ	18
5.2	Hasil perbandingan intensitas pada zeolit, NIZ, dan IZ	20
5.3	Data jangkauan pengukuran dan factor Nernst hasil pengukuran larutan kreatinin menggunakan elektroda pasta karbon nanopori/IZ berbagai komposisi	21
5.4	Data potensial kreatinin pada berbagai pH	24
5.5	Data hasil pengukuran potensial elektroda E6 pada larutan kreatinin	26
5.6	Waktu respon elektroda pasta karbon nanopori/IZ terhadap larutan kreatinin	27
5.7	Jangkauan pengukuran dari elektroda E1, E5, dan E6	27
5.8	Data hasil pengukuran potensial kreatinin dan harga koefisien variasi menggunakan elektroda pasta karbon nanopori/IZ pada pH 7	28
5.9	Data hasil pengukuran potensial dan harga akurasi masing-masing konsentrasi kreatinin	29
5.10	Nilai koefisien selektivitas elektroda pada pengukuran kreatinin di dalam matriks urea	30
5.11	Data konsentrasi kreatinin dalam sampel serum serta akurasi metode analisis terhadap metode spektrofotometri	30
5.12	Waktu hidup elektroda pasta karbon nanopori/IZ	31

DAFTAR GAMBAR

No. Gambar	Judul gambar	hal
2.1	Skema pembentukan imprinting zeolit	5
2.3	Skema teknik preparasi ZME (PDMS: polidimetilsiloksan); PS: polistiren; PEO: polietilen oksida	6
4.1	Konstruksi sensor pasta karbon nanopori-IZ	11
5.1	Prediksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara kreatinin dengan zeolit	16
5.2	Skema pembentukan <i>non-imprinted</i> zeolit dan <i>imprinted</i> zeolit	17
5.3	Pola difraksi sinar-X zeolit TS-1	17
5.4	Spektra FTIR kreatinin, zeolit, <i>non-imprinted</i> zeolit, dan <i>imprinted</i> zeolit	19
5.5	Kurva standar kreatinin hasil pengukuran menggunakan elektroda E2 - E7	23
5.6	Kurva hubungan log konsentrasi kreatinin dengan potensial elektroda menggunakan variasi jenis elektroda	23
5.7	Kurva pengaruh pH terhadap potensial larutan kreatinin 10^{-3} M menggunakan E6	25
5.8	Kurva standar kreatinin hasil pengukuran menggunakan elektroda E6 (pH 7)	26

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil karakterisasi dengan FTIR
- Lampiran 2. Paper yang telah disubmit ke seminar ICICS 2017, Universitas Sriwijaya, 17-18 Oktober 2017
- Lampiran 3. Sertifikat keikutsertaan dalam seminar ICICS 2017
- Lampiran 4. Manuscript yang telah disubmit ke jurnal internasional
- Lampiran 6. Bukti submit artikel ilmiah ke jurnal internasional

BAB I PENDAHULUAN

Kreatinin merupakan hasil penguraian kreatin yang difiltrasi oleh glomerulus dan diekskresikan melalui urin. Pada umumnya, konsentrasi normal kreatinin dalam serum sekitar 0,6-1,2 mg/dL (Guo and Guo, 2005). Kadar kreatinin yang rendah dalam serum dapat menunjukkan status nutrisi yang rendah, sedangkan kadar kreatinin yang tinggi dapat menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal, seperti nekrosis tubulus (penyebab gagal ginjal akut), glomerulonefritis (kerusakan pada glomerulus), dan sebagai petunjuk rendahnya kemampuan filtrasi glomerulus (Levey *et al.*, 1999).

Metode yang paling umum digunakan untuk penentuan kadar kreatinin dalam bidang kesehatan yaitu metode Jaffe. Metode ini memiliki selektivitas yang rendah dan kurang spesifik karena yang terukur bukan kadar kreatinin saja, tetapi juga keton, glukosa, asetoasetat, dan sefalosporin yang kemungkinan juga terdapat dalam sampel (Quon *et al.*, 2010).

Beberapa tahun terakhir telah dikembangkan metode untuk analisis kreatinin, diantaranya yaitu analisis kreatinin yang dilakukan secara *flow injection-potentiometric* (Hassan *et al.*, 2005, voltametri menggunakan modifikasi *hanging mercury drop electrode* (HMDE)-*molecularly imprinted polymer* (MIP) (Lakshmi *et al.*, 2006) dan potensiometri menggunakan elektroda selektif ion (Elmosallamy, 2006). Metode yang dikembangkan dari penelitian tersebut umumnya tidak selektif, membutuhkan sampel dengan jumlah yang relatif banyak, memerlukan perlakuan yang rumit serta memiliki limit deteksi pada level 10^{-4} mol/L.

Untuk mengurangi kelemahan tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan modifikasi elektroda pasta karbon dengan *imprinting* zeolit untuk analisis kreatinin secara potensiometri. Potensiometri merupakan salah satu metode elektrokimia yang didasarkan pada penentuan potensial sel antara elektroda kerja dengan elektroda pembanding pada arus nol (Pundir *et al.*, 2013). Pada dasarnya, tidak semua analit dapat menghasilkan respon sinyal yang tinggi karena komponen elektroda yang digunakan memiliki konduktivitas yang rendah, sehingga tidak dapat menyampaikan respon potensial ke potensiometer. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan *imprinted*/cetakan zeolit dan karbon nanopori dalam pembuatan elektroda yang berfungsi sebagai sensor pada potensiometri.

Pemilihan karbon nanopori sebagai material elektroda dikarenakan karbon merupakan material yang inert, memiliki luas permukaan yang besar, dan memiliki konduktivitas yang tinggi (Pyun dan Lee, 2007). (Yürüm *et al.*, 2009). Dengan demikian, karbon nanopori ini diharapkan dapat meningkatkan sensitivitas pengukuran. Zeolit merupakan senyawa anorganik dengan struktur kristal berpori yang memiliki kerangka tiga dimensi dimana dengan struktur tersebut menjadikan zeolit mudah untuk dimodifikasi (Lestari, 2010). *Imprinting* zeolit adalah zeolit yang di dalam porinya terdapat cetakan molekul yang akan dikenali/dianalisis. Cetakan tersebut hanya akan sesuai dengan analit yang dicetakkan karena ukuran, bentuk dan sisi ikatan yang ditinggalkannya saat pencetakan. Pemanfaatan *imprinting* zeolit (IZ) sebagai material pemodifikasi sensor potensiometri untuk analisis asam urat dalam serum telah dipelajari (Khasanah *et al.*, 2013; 2015). Sensor termodifikasi IZ ini menunjukkan kinerja yang bagus terhadap asam urat.

Pada penelitian ini *imprinted* zeolit disintesis dari tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), tetrabutyl ortotitanat (TBOT), air (Eimer *et al.*, 2008) dan analit kreatinin sebagai *template*. Selanjutnya kreatinin diekstraksi dari kerangka zeolit sehingga terbentuk cetakan yang spesifik untuk kreatinin. IZ dicampur dengan karbon nanopori dan parafin padat dengan bantuan pemanasan sehingga terbentuk pasta. Pada penelitian ini digunakan kawat Ag sebagai penghantar listrik.

Karakterisasi terhadap *imprinted zeolit* dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *fourier transform infrared* (FTIR), *x-ray diffraction* (XRD) dan *scanning electron microscope* (SEM). Optimasi komposisi elektroda dilakukan melalui pembuatan elektroda dari campuran IZ, karbon nanopori dan parafin padat dengan perbandingan massa bervariasi. Pada penelitian ini juga dipelajari pengaruh pH larutan pada analisis kreatinin menggunakan elektroda pasta karbon nanopori/IZ. Kinerja sensor dipelajari melalui nilai waktu respon elektroda, jangkauan pengukuran, faktor Nernst, batas deteksi, presisi, akurasi, selektivitas, dan waktu hidup elektroda pada pengukuran larutan standar kreatinin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Analisis Kreatinin

Kreatinin mendapatkan perhatian sangat luas di kalangan biomedis dan bioanalisis karena peranannya yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh. Kreatinin merupakan produk akhir metabolisme otot yang dilepaskan dari otot dan diekskresi dalam urin dengan kecepatan konstan. Kreatinin difiltrasi oleh glomerulus di dalam ginjal, sehingga kreatinin dapat digunakan sebagai penentu laju filtrasi glomerulus pada ginjal (Pandey and Mishra, 2004; Prasad *et al.*, 2008). Sering dijumpainya kasus abnormalitas kadar kreatinin dalam tubuh telah menyita perhatian peneliti dalam bidang biomedis dan biokimia analisis. Kadar kreatinin yang rendah dalam serum dapat menunjukkan status nutrisi yang rendah. Sedangkan kadar kreatinin yang tinggi dapat menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal, seperti nekrosis tubulus (penyebab gagal ginjal akut), glomerulonefritis (kerusakan pada glomerulus), dan sebagai petunjuk rendahnya kemampuan filtrasi glomerulus (Levey *et al.*, 1999). Jika terdapat gangguan dalam ginjal, maka kadar kreatinin dalam serum akan meningkat dan kenaikan ini dapat digunakan sebagai indikator gangguan fungsi ginjal.

Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar kreatinin dalam darah diantaranya adalah aktivitas fisik yang berlebihan, diet kaya daging, serta mengkonsumsi obat tertentu seperti aldacton, sefalosporin (sefalozin, sefalotin), aspirin, dan co-trimexazole (Sukandar, 1997). Jenis kelamin dan usia juga mempengaruhi kadar kreatinin dalam darah. Kadar kreatinin dalam tubuh wanita sedikit lebih rendah dibandingkan pria karena massa otot wanita lebih rendah daripada pria. Nilai normal kadar kreatinin pada wanita sebesar 0,5-0,9 mg/dL, sedangkan pada pria sebesar 0,6-1,1 mg/dL. Apabila kadar kreatinin mencapai 1,5 mg/dL, maka diperlukan tes lebih lanjut untuk penilaian fungsi ginjal dan apabila kadar kreatinin lebih dari 5,9 mg/dL, maka hal itu menunjukkan adanya kerusakan berat pada ginjal (Madaras and Buck, 1996)

Kadar kreatinin dalam darah merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal karena kadar kreatinin dalam plasma dan ekskresinya di urin dalam 24 jam relatif konstan. Metode yang digunakan untuk analisis kreatinin di bidang biomedis saat ini adalah metode Jaffe. Prinsip dasar metode ini adalah reaksi antara kreatinin dalam suasana alkalis dengan asam pikrat dan membentuk kompleks berwarna

kuning jingga. Kompleks yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 485 nm (Falcó *et al.*, 2001). Selain itu, ada juga metode enzimatik dan kinetik darah. Dasar metode enzimatik darah adalah adanya substrat dalam sampel akan bereaksi dengan enzim dan hasilnya dianalisis menggunakan fotometer. Sedangkan dasar metode kinetik relatif sama dengan metode Jaffe, hanya saja dalam pengukuran dibutuhkan sekali pembacaan dan alat yang digunakan pada metode ini dikenal dengan nama *autoanalyzer*.

Dari ketiga metode tersebut, yang banyak digunakan dalam bidang medis adalah metode Jaffe dimana metode ini dapat diaplikasikan pada serum atau plasma yang telah dideproteinasi dan tanpa deproteinasi. Untuk deproteinasi cukup banyak memakan waktu yaitu sekitar 30 menit, sedangkan jika tanpa deproteinasi hanya memerlukan waktu antara 2-3 menit.

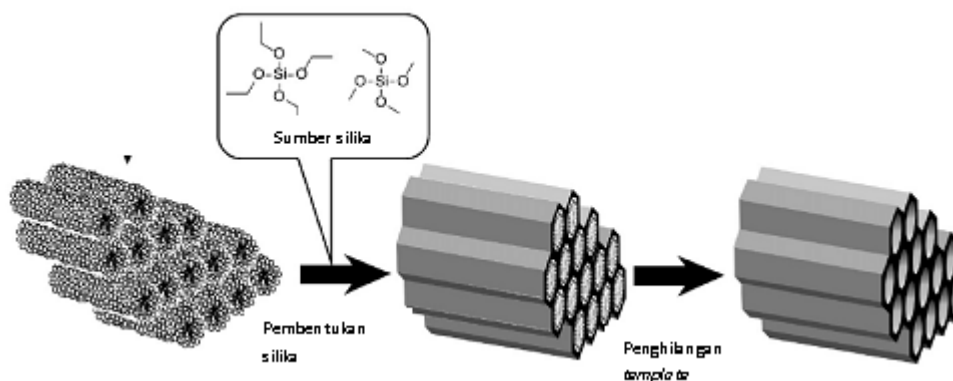
Beberapa tahun terakhir telah dikembangkan metode voltametri untuk analisis kreatinin. Salah satunya yaitu analisis kreatinin secara voltametri lucutan menggunakan elektroda *hanging mercury drop* (HMDE) termodifikasi MIP (Lakshmi *et al.*, 2006) dan *glassy carbon* (Nurhidayatin, 2012). Hasil penelitian menunjukkan limit deteksi sebesar 0,445 ppb. Selain itu, telah dilakukan pengembangan metode potensiometri menggunakan elektroda selektif ion (Elmosallamy, 2006).

2.2. Sensor Pasta Karbon Nanopori Termodifikasi *Imprinting* Zeolit

Elektroda kerja merupakan komponen terpenting dalam metode potensiometri karena sensitivitas dan selektivitas metode potensiometri salah satunya ditentukan oleh jenis elektroda kerja yang digunakan. Modifikasi terhadap elektroda seringkali dilakukan dengan tujuan untuk menambah selektivitas elektroda (mengurangi gangguan matriks dalam sampel yang dianalisis) dan meningkatkan sensitivitas pengukuran. Ada tiga macam cara modifikasi elektroda (El-Maali, 2004) yaitu melapisi elektroda dengan film melalui reaksi kimia secara *self-assembled monolayer* (SAM), melapisi elektroda dengan lapisan polimer dengan cara elektropolimerisasi dan memodifikasi keseluruhan elektroda. Modifikasi elektroda dengan cara yang ketiga memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan modifikasi permukaan elektroda. Di sini material *modifier* dicampur dengan material elektroda seperti pasta karbon. Permukaan elektroda dapat diperoleh dengan mudah dan cepat hanya dengan pemolesan atau pemotongan. Karbon yang dapat digunakan dapat bervariasi tergantung ukuran porinya. Karbon nanopori adalah karbon aktif yang memiliki ukuran pori kurang dari 100 nm. Karbon nanopori ini dapat digunakan sebagai material elektroda pada analisis secara elektrokimia (Petrova *et al.*, 2010).

Pemanfaatan karbon nanopori sebagai elektroda dalam bidang kimia dikarenakan karbon ini merupakan material yang inert, memiliki luas permukaan yang besar, dan memiliki konduktivitas yang tinggi (Pyun dan Lee, 2007).

Salah satu *modifier* yang dapat digunakan untuk modifikasi elektroda adalah sistem *imprinting zeolite* (IZ). 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 2.1.

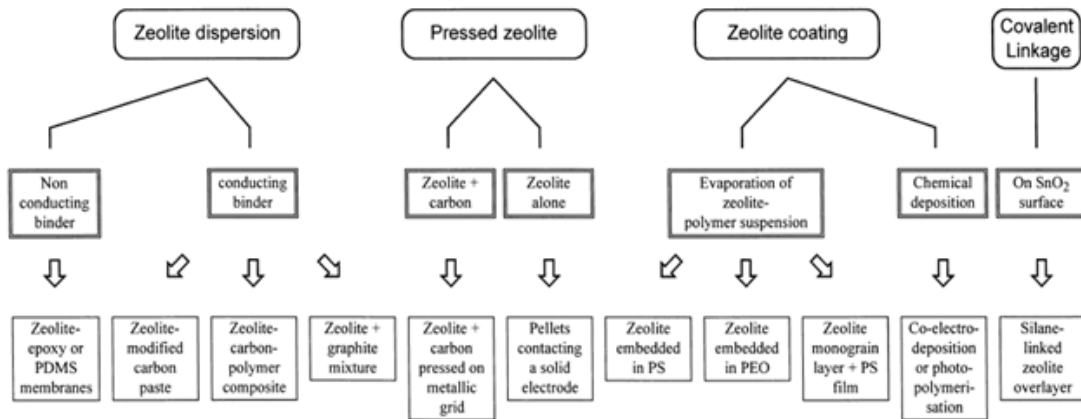


Gambar 2.1. Skema pembentukan *imprinting zeolite* (Vinu *et al.*, 2006)

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).

Sampai saat ini telah banyak dilakukan berbagai macam penelitian tentang ZME mulai dari teknik preparasi, jenis zeolit, modifikasi zeolit dengan senyawa atau logam lain, dan sebagainya. Skema teknik preparasi ZME dapat dilihat pada Gambar 2.2. Ardakani *et al.*, (2006) melakukan modifikasi elektroda grafit-ZME untuk analisis Cu(II). Modifikasi

elektroda pasta karbon 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 pasta karbon termodifikasi zeolit terdoping Fe^{3+} 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 2.2 Skema teknik preparasi ZME (PDMS : *polydimethylsiloxane*; PS : *polystyrene*; PEO : *polyethylene oxide*) (Walcarius, 1999)

BAB III

TUJUAN DAN MAFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah mengembangkan sensor berbasis IZ yang sensitif untuk penentuan kadar kreatinin di dalam serum secara potensiometri, sehingga diperoleh metode alternatif untuk deteksi dini kreatinin disamping metode spektrofotometri yang selama ini digunakan di bidang medis. Dengan demikian akan mengurangi ketergantungan terhadap instrumentasi tertentu..

Untuk mencapai tujuan tersebut dilakukan pengembangan sensor yang sensitif dan selektif terhadap kreatinin melalui modifikasi elektroda pasta karbon nanopori dengan zeolit ter-*imprint* molekul kreatinin. Karbon dan zeolit sebagai material yang memiliki konduktivitas yang baik akan mempercepat waktu respon dan meningkatkan sensitivitas pengukuran. Dengan sistem *imprinting* ini akan dibentuk cetakan yang spesifik untuk molekul kreatinin sehingga analisis terhadap kreatinin tidak diganggu oleh adanya matriks lain karena cetakan hanya akan sesuai terhadap spesi yang dianalisis yaitu kreatinin. Sensor yang dikembangkan ini diharapkan memiliki waktu hidup yang lama sehingga menguntungkan secara ekonomis.

Tujuan khusus penelitian **tahun pertama** ini adalah sebagai berikut.

- a. Melakukan sintesis *imprinting* zeolit (IZ) dan mengkarakterisasinya.
- b. Melakukan pembuatan sensor pasta karbon nanopori-IZ
- c. Melakukan uji kinerja sensor dan mempelajari validitas metode potensiometri
- d. Mempelajari selektivitas sensor melalui uji pengaruh penambahan urea yang merupakan komponen dengan konsentrasi cukup tinggi dalam sampel serum
- e. Melakukan uji coba sensor pasta karbon nanopori-IZ untuk analisis kreatinin dalam sampel serum

3.2 Manfaat Penelitian

Pengembangan sensor potensiometrik berbasis IZ ini diharapkan dapat menghasilkan metode baru yang sensitif, akurat dan selektif terhadap kreatinin. Dikembangkannya metode analisis kreatinin yang selektif dan akurat akan mengurangi resiko kesalahan diagnosis. Sensor yang sensitif dan mempunyai batas deteksi rendah (level nanogram) akan dapat digunakan untuk mendeteksi kreatinin dengan kadar yang sangat rendah (deteksi dini) secara akurat dan membutuhkan sampel dengan jumlah yang sangat kecil (kurang dari 0,5 mL darah). Penggunaan sensor komposit ini akan semakin

memperkecil biaya analisis (ekonomis) karena sensor dapat digunakan secara berulang-ulang dan dalam rentang waktu (*life time*) yang lama. Dengan menggunakan metode alternatif yang akurat dan ekonomis ini diharapkan dapat dilakukan diagnosis secara dini terhadap kadar kreatinin dalam tubuh pasien 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 dan glukosa (gula darah). Dengan demikian dapat memperkaya riset di bidang elektroanalisis dan biomedis. Selain itu, dengan dikembangkannya metode elektroanalisis untuk deteksi kreatinin ini akan mengurangi ketergantungan terhadap satu jenis instrumentasi tertentu dan dapat membantu peningkatan sistem monitor pasien. Disamping itu juga akan dihasilkan artikel ilmiah yang dipublikasikan pada jurnal nasional terakreditasi atau jurnal bereputasi internasional.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga mulai bulan April 2017. Karakterisasi zeolit dilakukan di Laboratorium Energi ITS dan Universitas Negeri Malang.

4.2 Bahan dan sampel penelitian

Bahan penelitian

Bahan kimia yang digunakan adalah kreatinin, tetraetil ortosilikat (TEOS), tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH), tetrabutyl ortotitanat (TBOT), 2-propanol, urea, natrium asetat, asam asetat, natrium hidrogen fosfat, natrium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida dan ammonia. Semua bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini berderajat kemurnian pro analisis. Air yang digunakan adalah akuabides.

Sampel penelitian

Sampel penelitian untuk uji coba aplikasi sensor berupa serum darah, diperoleh dari salah satu Laboratorium Klinik di wilayah Surabaya.

4.3 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat potensiometer *Cyberscan 510*, elektroda pembanding Ag/AgCl, pH-meter tipe 744, *x-ray diffraction* (XRD), *scanning electron microscope* (SEM), adsorpsi-desorpsi N₂ (BET-BJH), mikropipet, *hotplate-magnetic stirrer, tube*/tip mikropipet, serta peralatan pendukung lain.

4.4 Prosedur Penelitian

Langkah-langkah penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut.

1. Sintesis dan karakterisasi *imprinting zeolite*

Zeolit 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 TEOS : TiO₂ : TPAOH : H₂O = 1 : 0,017 :

0,24 : 21,2. Campuran yang terbentuk dipanaskan secara hidrotermal pada temperatur 80°C selama 4 hari. Sejumlah kreatinin ditambahkan ke dalam campuran hingga diperoleh rasio molar kreatinin/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 kreatinin) dan *non imprinting zeolite* (kreatinin tidak diekstraksi dari zeolit). Selanjutnya, padatan hasil sintesis (*zeolit*, *imprinting zeolite* dan *non-imprinting zeolite*) yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan FTIR, XRD, SEM dan adsorpsi desorpsi N₂. Keberhasilan ekstraksi kreatinin dari pori zeolit dibuktikan dengan metode HPLC (*high performance liquid chromatography*).

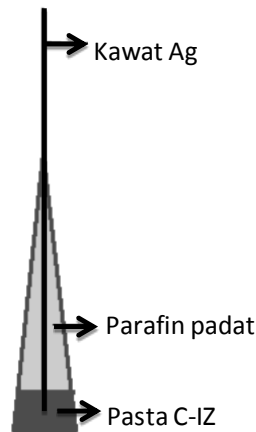
2. Pembuatan sensor pasta karbon nanopori-IZ

Pasta karbon nanopori dibuat dengan cara mencampurkan karbon nanopori, IZ dan parafin padat dengan bantuan pemanasan. Ke dalam *tube* mikropipet dimasukkan kawat Ag, selanjutnya diisi dengan parafin padat sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian dan sisanya diisi dengan pasta karbon nanopori-IZ yang terbuat dari campuran karbon nanopori, IZ dan paraffin dengan perbandingan massa bervariasi seperti yang ditampilkan pada Tabel 3.1.

Tabel 4.1 Komposisi karbon nanopori, IZ dan parafin pada pembuatan sensor pasta karbon nanopori

Kode sensor	Rasio karbon nanopori : IZ : paraffin (% berat)
E1	65:0:35
E2	60:5:35
E3	55:10:35
E4	50:15:35
E5	45:20:35
E6	40:25:35

Setelah pasta memadat, ujung permukaan sensor kemudian digosok dengan kertas. Konstruksi sensor pasta karbon nanopori-IZ dapat dilihat pada Gambar 4.1. Selanjutnya sensor yang dibuat tersebut digunakan untuk mengukur larutan baku kreatinin konsentrasi 10^{-10} - 10^{-1} M dengan pH yang bervariasi yaitu 4-8. Komposisi optimum menghasilkan sensor dengan jangkauan pengukuran terlebar dan kemiringan (*slope*) (kurva potensial vs log konsentrasi kreatinin) memenuhi persamaan Nernst. Komposisi optimum ini digunakan sebagai dasar untuk membuat sensor pasta karbon-Z dan pasta karbon-NIZ.



Gambar 4.1 Konstruksi sensor pasta karbon nanopori-IZ

3. Pembuatan kurva baku kreatinin dan uji validitas metode

Dibuat sederetan larutan baku kreatinin dengan konsentrasi $10^{-10} - 10^{-1}$ M dengan pH 5 kemudian dianalisis secara potensiometri menggunakan sensor pasta karbon nanopori – IZ dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi kreatinin dan besarnya potensial yang teramati untuk masing-masing konsentrasi kreatinin yang dianalisis. Selanjutnya data hasil pengukuran larutan baku tersebut digunakan untuk menguji waktu respon sensor dan validitas metode meliputi jangkauan pengukuran, linieritas kurva kalibrasi, faktor Nernst, akurasi, presisi dan batas deteksi.

Waktu respon sensor dipelajari dengan cara mengukur berapa waktu yang diperlukan oleh sensor untuk mengukur beda potensial masing-masing konsentrasi kreatinin sampai diperoleh nilai potensial yang konstan. Jangkauan pengukuran diartikan sebagai batas konsentrasi yang masih memberikan kurva linier yang memenuhi persamaan Nernst. Dalam potensiometri, faktor Nernst ditentukan dari nilai kemiringan (slope) pada kurva hubungan antara beda potensial (mV) dengan log konsentrasi kreatinin (M) (Cattrall, 1997). Titik potong ekstrapolasi regresi linier dan kurva non linier dihubungkan ke absis untuk menentukan batas deteksi. Presisi ditentukan dengan cara menghitung simpangan potensial hasil pengukuran berulang untuk masing-masing konsentrasi kreatinin, sedangkan akurasi merupakan ketepatan antara konsentrasi hasil pengukuran dengan konsentrasi yang sebenarnya (Taverniers *et al.*, 2004).

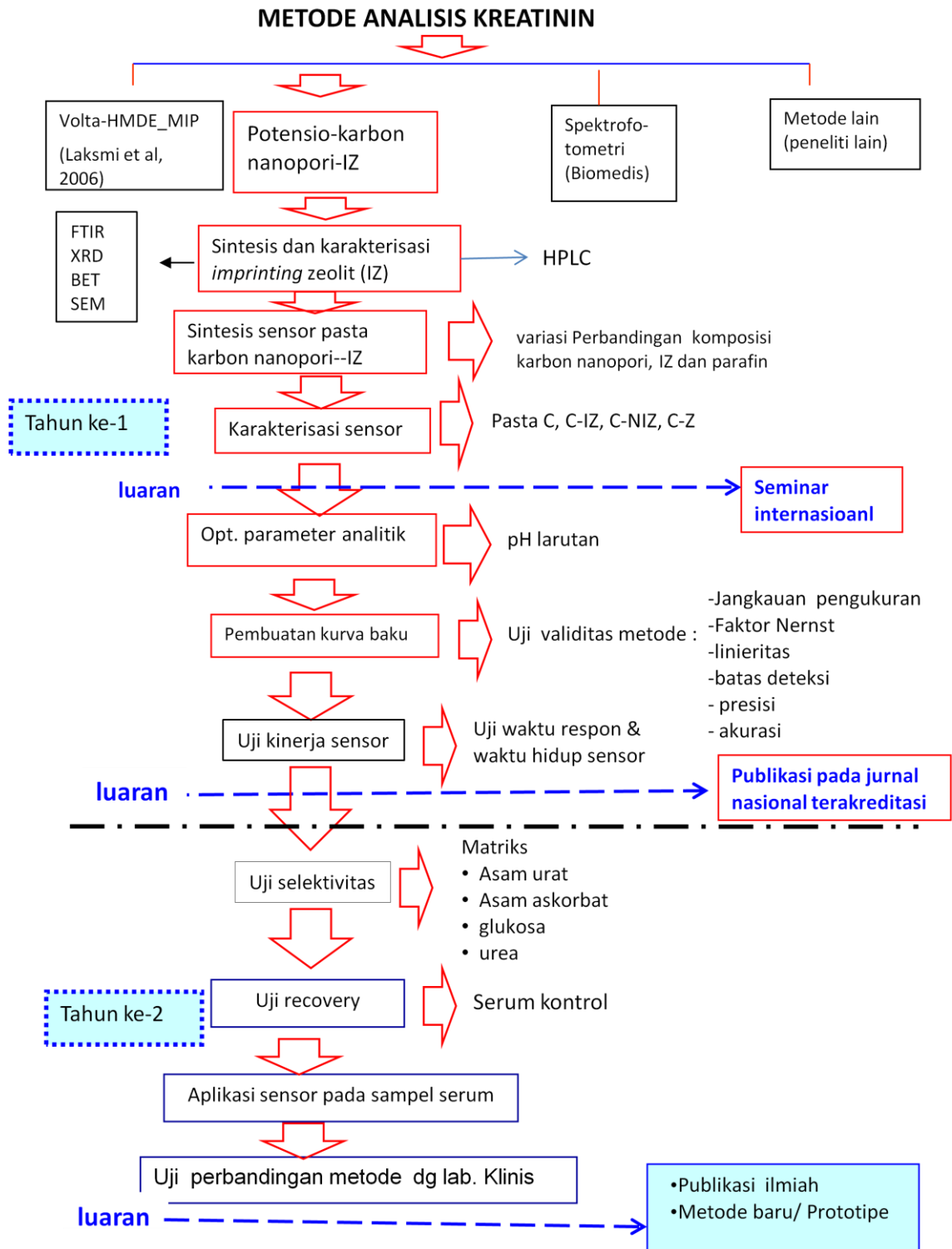
4. Uji selektivitas sensor

Untuk mengetahui selektivitas sensor dan melihat gangguan matriks pada analisis kreatinin, dilakukan uji pengaruh komponen yang umum terdapat dalam sampel serum dengan konsentrasi yang tinggi yaitu urea. Ke dalam larutan kreatinin 10^{-4} M, ditambahkan larutan urea dengan bervariasi yaitu 10^{-2} , 5×10^{-3} , dan 10^{-3} M. Kemudian respon potensial yang diperoleh dibandingkan dengan respon potensial hasil analisis kreatinin tanpa penambahan urea.

5. Uji coba sensor untuk analisis kadar kreatinin dalam serum

Untuk melihat keterpakaian sensor dan metode yang dikembangkan, maka dilakukan aplikasi sensor untuk analisis kreatinin dalam sampel serum. Sampel serum diambil dari penderita/pasien (dari salah satu Laboratorium Klinik di wilayah Surabaya). Sebanyak 100 μ L sampel serum dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambah dengan 2 mL buffer asetat pH 5, kemudian diencerkan dengan air sampai tanda batas. Selanjutnya sampel serum hasil preparasi tersebut dipindahkan ke dalam gelas beker dan dianalisis secara potensiometri menggunakan sensor pasta karbon nanopori-IZ. Dari data potensial yang diperoleh, selanjutnya dihitung konsentrasi asam urat dalam sampel serum. Konsentrasi yang diperoleh dari perhitungan selanjutnya dibandingkan dengan konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis menggunakan spektrofotometri (data dari laboratorium klinik) dan dihitung penyimpangannya.

3.5 Diagram Alir (mengikuti alur warna merah) dan Luaran Penelitian



BAB V HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil Penelitian dan Pembahasan

5.1.1 Sintesis zeolit (Z), non imprinting zeolit (IZ) dan imprinting zeolit (IZ)

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis zeolit menggunakan metode yang dikembangkan oleh Eimer *et al.*(2008). Sintesis ini bertujuan untuk mendapatkan zeolit yang selanjutnya digunakan untuk memodifikasi elektroda pasta karbon nanopori sehingga dapat menghasilkan sensor yang selektif dan sensitif untuk mengukur kadar kreatinin secara potensiometri. Zeolit berfungsi sebagai cetakan (*imprinter*) kreatinin, sedangkan kreatinin berfungsi sebagai pembentuk cetakan (*template*). Zeolit hasil sintesis ini merupakan zeolit jenis titanium silikalit (TS-1) yang diharapkan mempunyai struktur MFI (*Mobile Five I*) dimana pada struktur tersebut, unsur titanium akan tersubstitusi ke dalam sebagian kerangka silikat (SiO_4). Zeolit tipe TS-1 dipilih untuk bahan modifikasi elektroda karena pori-pori zeolit mudah diatur ukurannya, sehingga nantinya ukuran dari pori-pori zeolit akan sesuai dengan ukuran molekul analit.

Pada penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan sebagai sumber silika yaitu tetraetil ortosilikat (TEOS) dan sumber titanium adalah tetrabutyl ortotitanat (TBOT). Tetrapropilamonium hidroksida (TPAOH) berfungsi sebagai pengarah struktur MFI yang berbentuk cincin ganda lima (Chen *et al.*, 2011) dan dapat juga berfungsi sebagai pemberi suasana basa yang berperan dalam proses kristalisasi. Air berfungsi sebagai pelarut. Zeolit ini dibuat dengan rasio mol TEOS:TBOT:TPAOH:H₂O=1:0,017:0,24:21,1.

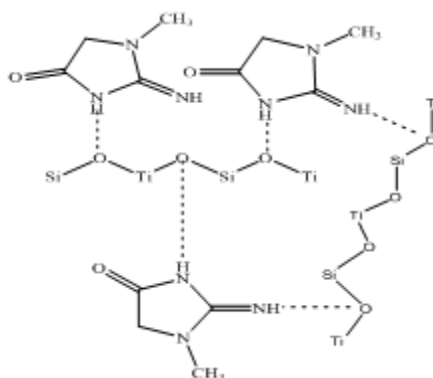
Tahap pertama yang dilakukan dalam pembuatan zeolit adalah memasukkan larutan TBOT ke dalam 2-propanol secara cepat dan ditutup karena larutan TBOT sifatnya mudah terhidrolisis. Apabila TBOT sudah terhidrolisis menjadi TiO₂ yang strukturnya stabil, maka ikatan Ti-O-Si yang merupakan struktur dari TS-1 tidak dapat terbentuk (Thangaraj *et al.*, 1991). Larutan yang awalnya tidak berwarna setelah ditambah dengan TBOT hasilnya tetap tidak berwarna. Hal itu menunjukkan bahwa TBOT tidak terhidrolisis menjadi TiO₂ karena apabila sudah terhidrolisis, maka larutan berubah menjadi putih keruh. Proses selanjutnya yaitu campuran antara TBOT dengan 2-propanol dimasukkan ke dalam larutan TEOS dan diaduk selama 30 menit untuk menghomogenkan larutan dan mempercepat reaksi.

Campuran larutan selanjutnya ditambah dengan larutan TPAOH sedikit demi sedikit agar larutan dapat bereaksi sempurna sambil tetap diaduk. Pada saat penambahan

TPAOH, larutan yang awalnya tidak berwarna mulai berubah warna menjadi gel berwarna putih. Larutan yang sudah ditambah dengan TPAOH diaduk selama 15 jam. Proses pengadukan selama 15 jam ini disebut proses *aging* yang merupakan proses pembentukan inti kristal zeolit (nukleasi). Selama *aging* berlangsung, terjadi proses nukleasi kristal dimana kristal akan tumbuh semakin besar dan banyak (Meliala, 2012). Setelah 15 jam, terbentuk gel yang berwarna putih keruh. Campuran kemudian ditambah dengan air setetes demi setetes sambil tetap diaduk hingga gel yang terbentuk larut. Proses selanjutnya yaitu proses hidrotermal dimana campuran yang sudah larut dimasukkan ke dalam botol polipropilena dan ditutup hingga rapat agar air yang sudah ditambahkan tidak menguap sehingga komposisi campuran di dalamnya tidak berubah. Botol polipropilena dipilih sebagai wadah dalam proses hidrotermal karena botol tersebut tahan terhadap panas hingga suhu 120°C. Campuran kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 80°C selama 4 hari. Suhu dijaga agar tetap konstan agar pada proses hidrotermal ini terjadi pertumbuhan kristal zeolit TS-1 secara sempurna. Di sini campuran larutan mengalami reaksi kondensasi dimana terjadi pemutusan dan penyusunan kembali ikatan Si, Ti-O-Si, dan Ti (Cundy and Cox, 2005). Setelah proses hidrotermal, terbentuk cairan berwarna putih susu. Larutan kemudian dibagi menjadi 3 bagian dimana 2/3 bagian dilakukan proses selanjutnya dan 1/3 bagian disentrifugasi. Hasil dari sentrifugasi yaitu terbentuk dua lapisan dimana lapisan atas berupa larutan tidak berwarna dan lapisan bawah berupa endapan berwarna putih. Endapan dinetralkan menggunakan air hingga pH 7. Fungsi dari penetralan yaitu untuk menghilangkan sisa-sisa bahan yang tidak ikut bereaksi dalam membentuk zeolit berstruktur MF1, misalnya sisa TPAOH. Endapan selanjutnya dipanaskan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam untuk menghilangkan air sehingga diperoleh padatan kering. Padatan ditumbuk hingga halus menggunakan mortar agat dan hasilnya berupa serbuk zeolit yang berwarna putih.

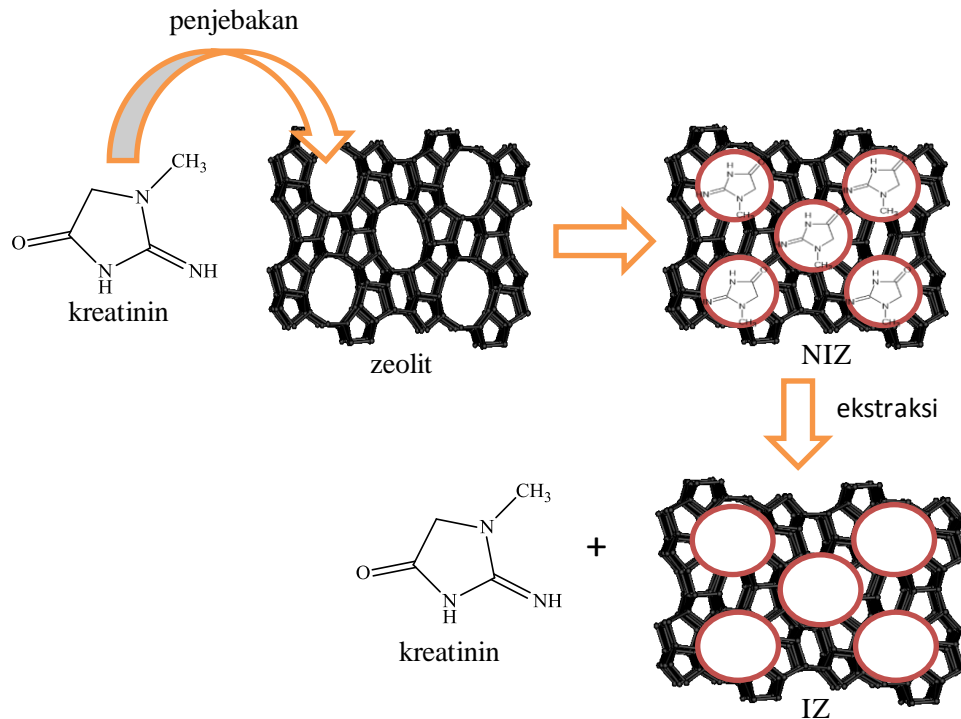
Non-imprinted zeolit merupakan zeolit yang di dalam pori-porinya mengandung *template* yaitu kreatinin. Larutan 2/3 bagian dari proses pembuatan zeolit ditambah sedikit demi sedikit larutan kreatinin dan diaduk. Pada saat penambahan kreatinin terbentuk larutan berwarna putih dengan rasio molar kreatinin/Si = 0,0306. Selanjutnya campuran didiamkan selama 3 jam dengan tujuan agar partikel-partikel kreatinin masuk ke dalam pori-pori zeolit dan menyesuaikan ukurannya dengan ukuran pori-pori zeolit. Pada tahap ini, terjadi ikatan hidrogen antara molekul kreatinin dengan zeolit melalui atom H yang terikat pada N dalam kreatinin dan atom O pada zeolit (Fessenden and Fessenden, 1982). Ikatan hidrogen yang

terbentuk dapat dilihat pada Gambar 5.1. Setelah pendiaman selama 3 jam, larutan dibagi menjadi 2 bagian dimana yang $\frac{1}{2}$ bagian dibiarkan dalam bentuk NIZ dan yang $\frac{1}{2}$ bagian lainnya diproses lebih lanjut menjadi IZ. Proses selanjutnya untuk larutan NIZ yaitu larutan disentrifugasi dan endapannya dioven selama 24 jam pada suhu 80°C sehingga didapatkan padatan berwarna putih. Padatan dihaluskan menggunakan mortar agat dan diperoleh serbuk NIZ berwarna putih.



Gambar 5.1 Prediksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara kreatinin dengan zeolit

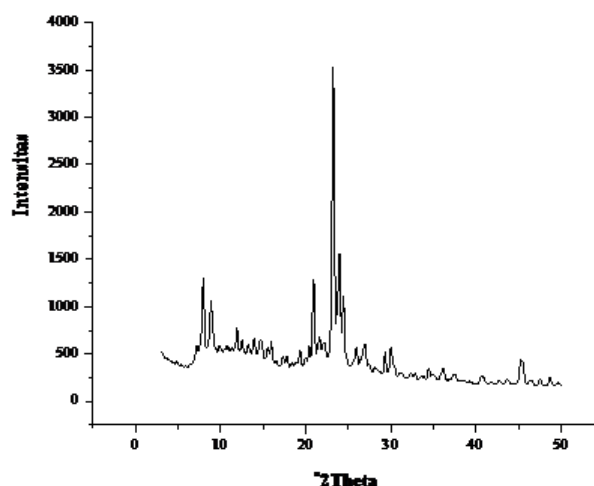
Imprinted zeolit (IZ) merupakan zeolit yang di dalamnya sudah tercetak molekul kreatinin pada pori-porinya dimana ukuran porinya sudah sesuai dengan ukuran kreatinin. IZ dibuat melalui ekstraksi kreatinin dari NIZ menggunakan air panas (perbandingan antara kreatinin dan air panas adalah 1:1) melalui proses sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 6000 rpm. Pada saat sentrifugasi, seharusnya terbentuk dua lapisan, namun pada penelitian ini tidak terbentuk dua lapisan. Hal itu dikarenakan pH campuran terlalu basa yaitu pH 14, sehingga dilakukan penambahan asam untuk sedikit menurunkan pH agar mengendap. Asam yang digunakan yaitu CH_3COOH 1 M. Setelah campuran ditambah dengan CH_3COOH 1 M, maka pada saat sentrifugasi terbentuk dua lapisan dimana lapisan atas berupa larutan tidak berwarna dan lapisan bawah berupa endapan berwarna putih. Endapan yang sudah dipisahkan dari filtratnya, diekstraksi lagi dengan air panas melalui proses sentrifugasi hingga filtratnya mencapai pH netral (pH 7). Pada saat pH netral diasumsikan bahwa kreatinin yang bersifat basa sudah terlepas dari pori-pori zeolit. Endapan yang sudah netral dipanaskan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam hingga diperoleh padatan kering berwarna putih yang disebut dengan IZ. Padatan tersebut kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Skema pembentukan NIZ dan IZ dijelaskan dengan Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Skema pembentukan *non-imprinted* zeolit dan *imprinted* zeolit

5.1.2 Karakterisasi zeolit, NIZ dan IZ

Zeolit yang diperoleh dari prosedur sebelumnya selanjutnya dikarakterisasi menggunakan XRD dan FTIR. Karakterisasi zeolit menggunakan XRD bertujuan untuk mengetahui jenis struktur kristal, ketidaksempurnaan kristal, ukuran dan kisi kristal. Karakterisasi ini dilakukan pada rentang $2\theta = 3-50^\circ$. Pola difraksi sinar-X yang diperoleh dari hasil karakterisasi zeolit dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 5.3 Pola difraksi sinar-X zeolit

Pada Gambar 5.3 dapat dilihat bahwa terdapat spektra dengan intensitas yang tinggi pada daerah 207,96, 8,88, 23,22, 23,98, dan 24,44. Spektra tinggi pada daerah

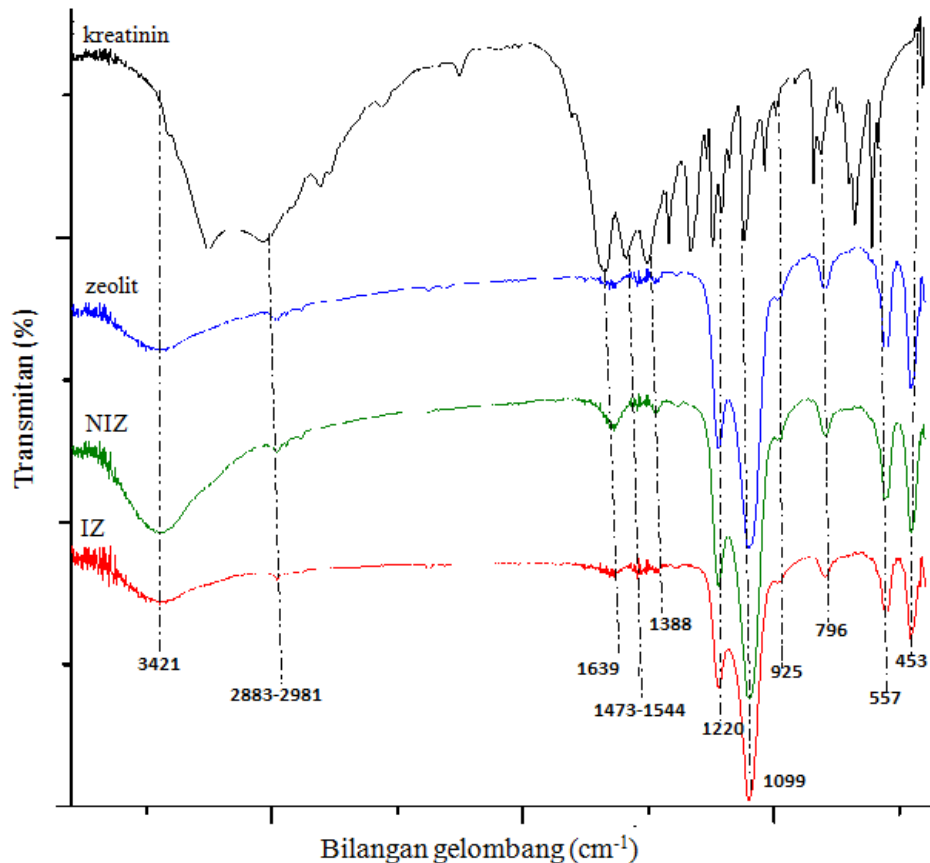
tersebut merupakan spektra yang khas dari zeolit TS-1 dengan struktur MFI (Qiu *et al.*, 2009). Pada daerah $2\theta = 24,44^\circ$, muncul satu spektra tinggi yang menunjukkan bahwa zeolit TS-1 berbentuk simetri ortorombik (Ke *et al.*, 2007). Spektra yang muncul dari karakterisasi XRD menunjukkan bahwa zeolit TS-1 telah berhasil disintesis.

Pada penelitian ini juga telah dilakukan karakterisasi terhadap zeolit, NIZ, dan IZ menggunakan FTIR untuk mengetahui dan membandingkan gugus fungsi antara zeolit, NIZ, dan IZ. Data bilangan gelombang dari hasil analisis FTIR dapat dilihat pada Tabel 5.1, sedangkan spektra FTIR kreatinin, zeolit, NIZ, dan IZ ditampilkan pada Gambar 5.4.

Tabel 5.1 Data bilangan gelombang spektra FTIR zeolit, NIZ, dan IZ

Bilangan gelombang (cm^{-1})			Gugus Fungsi
Zeolit	NIZ	IZ	
3421	3421	3431	-Vibrasi ulur –OH dari SiOH, TiOH, H ₂ O, dan TPAOH -Vibrasi ulur –NH dari kreatinin
2883-2981	2883-2979	2883-2981	Vibrasi ulurasimetri dan simetri –C-H dari TPAOH
1639	1629	1639	- Vibrasi tekuk –OH dari SiOH, TiOH, H ₂ O, dan TPAOH - Vibrasi ulur C=O dari kreatinin
1473-1544	1477	1481-1544	Vibrasi tekuk CH ₂ dari TPAOH
1388	1334-1382	-	Vibrasi tekuk CH ₃ dari TPAOH
1220-1099	1220-1099	1220-1099	Vibrasi ulur asimetri Si-O-Si
985	972	985	Vibrasi ulur Si-O-Ti
796	796	796	Vibrasi ulur simetri Si-O-Si
557	557	557	Vibrasi cincin ganda lima dari struktur MFI
453	453	457	Vibrasi tekuk Si-O-Si

Pada hasil analisis kreatinin, muncul dua spektra pada bilangan gelombang 3249 dan 3024 cm^{-1} yang merupakan spektra dari gugus fungsi N-H ulur amina primer. Sedangkan pada bilangan gelombang 1666 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C=O dari kreatinin yang merupakan gugus karbonil dari suatu amida kreatinin. Hasil karakterisasi zeolit menggunakan FTIR ini menunjukkan adanya spektra pada bilangan gelombang 453, 557, 796, 985 dan 1.099 cm^{-1} merupakan spektra khas dari zeolit TS-1 yang berstruktur MFI. Spektra pada bilangan gelombang 1099 cm^{-1} yang umumnya diikuti bilangan gelombang 1220 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetri Si-O-Si. Spektra pada 985 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur Si-O-Ti yang mengindikasikan bahwa titanium telah tersubstitusi ke dalam kerangka zeolit.



Gambar 5.4 Spektra FTIR kreatinin, zeolit, *non-imprinted* zeolit, dan *imprinted* zeolit

Spektra pada bilangan gelombang 796 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur simetri Si-O-Si (Qiu *et al.*, 2009). Bilangan gelombang 453 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk dari Si-O-Si (Qiu *et al.*, 2009), serta pada 557 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi asimetri cincin ganda lima dari struktur MFI tipe zeolit TS-1 (On *et al.*, 2001; Fang and Hu, 2007). Pada bilangan gelombang $2981\text{--}2883$, $1473\text{--}1544$, dan $1334\text{--}1388\text{ cm}^{-1}$ merupakan puncak khas dari TPAOH, sedangkan pada bilangan gelombang 3421 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur-OH.

Hasil analisis dengan FTIR dari *non-imprinted* zeolit (NIZ) menunjukkan bahwa spektra NIZ tidak jauh berbeda dengan zeolit maupun IZ. Namun, pada bilangan gelombang 3421 cm^{-1} , puncak spektranya lebih lebar dibandingkan pada zeolit. Hal itu dikarenakan selain adanya vibrasi ulur -OH dari NIZ, juga ada vibrasi ulur -NH dari kreatinin. Selain itu pada bilangan gelombang 1629 cm^{-1} terdapat vibrasi ulur C=O dari kreatinin. Hal ini menunjukkan bahwa kreatinin telah masuk ke dalam struktur zeolit. Pada bilangan gelombang $1334\text{--}1382\text{ cm}^{-1}$ dan 1629 cm^{-1} , puncaknya terlihat lebih tajam bila dibandingkan dengan zeolit. Hal itu dikarenakan adanya vibrasi gugus fungsi dari struktur kreatinin yang masuk ke dalam struktur zeolit.

Spektra FTIR dari IZ hampir sama dengan spektra zeolit. Hal ini dikarenakan adanya proses ekstraksi kreatinin yang telah dilakukan pada proses sintesis IZ, sehingga puncak serapan kreatinin sudah tidak muncul pada spektra IZ. Hilangnya gugus $-NH$ kreatinin ditunjukkan oleh puncak pada 3431 cm^{-1} yang sudah tidak melebar lagi. Selain itu pada daerah 1639 cm^{-1} dan $1481-1544\text{ cm}^{-1}$, puncaknya sudah tidak tajam lagi. Hal tersebut dapat menunjukkan bahwa kreatinin telah berhasil terekstrak. Spektra FTIR kreatinin, zeolit, NIZ dan IZ ditampilkan pada Lampiran 1.

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan perbandingan intensitas spektra FTIR pada bilangan gelombang 550 cm^{-1} dan 1100 cm^{-1} antarazeolit, NIZ, dan IZ untuk mengetahui apakah ada kerusakan pada struktur zeolit atau tidak. Bilangan gelombang 550 cm^{-1} dan 1100 cm^{-1} dipilih untuk mengetahui perbandingan intensitas dari zeolit, NIZ, dan IZ karena pada bilangan gelombang tersebut merupakan ciri khas dari spektra zeolit TS-1. Apabila terjadi penurunan hasil perbandingan intensitas pada bilangan gelombang $550\text{ cm}^{-1}:1100\text{ cm}^{-1}$, maka zeolit yang terbentuk mengalami kerusakan pada strukturnya. Hasil perbandingan intensitas dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil perbandingan intensitas pada zeolit, NIZ, dan IZ

Jenis Bahan	Perbandingan Intensitas (550 : 1100)
Zeolit	6,29
NIZ	4,01
IZ	2,81

Berdasarkan Tabel 5.2, perbandingan intensitas yang dihasilkan zeolit, NIZ, dan IZ semakin menurun. Hal itu dikarenakan adanya penambahan kreatinin yang terperangkap dalam struktur zeolit pada pembuatan NIZ, mengakibatkan terjadinya kerusakan pada struktur zeolit, sehingga perbandingan intensitas pada spektra FTIR dari NIZ lebih kecil bila dibandingkan intensitas zeolit. Kemudian pada saat kreatinin diekstraksi dari pori zeolit menggunakan air panas, maka hasil perbandingan intensitas pada spektra FTIR dari IZ semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan struktur zeolit semakin besar dan zeolit TS-1 yang terbentuk semakin sedikit.

5.1.3 Optimasi komposisi elektroda

Elektroda kerja pada penelitian ini merupakan elektroda yang dibuat dari campuran antara karbon nanopori, *imprinted* zeolit (IZ) kreatinin, dan parafin granul pada komposisi yang bervariasi. Karbon nanopori dipilih dalam campuran pembuatan elektroda kerja karena

karbon nanopori merupakan material yang memiliki sifat inert sehingga tidak bereaksi dengan analit. Selain itu, karbon nanopori juga memiliki luas permukaan yang besar, stabilitas kimia yang baik, dan konduktivitas yang tinggi (Yürüm *et al.*, 2009). Penambahan IZ bertujuan untuk meningkatkan selektivitas elektroda karena IZ memiliki sisi pengenalan yang selektif terhadap analit kreatinin, sehingga IZ hanya mampu mengenali kreatinin saja. Sedangkan parafin ditambahkan agar campuran antara karbon nanopori dengan IZ dapat saling merekat ketika dimasukkan ke dalam tip mikropipet. Dengan demikian, campuran tidak akan terlepas ketika digunakan saat pengukuran analit dalam larutan sampel.

Pada penelitian ini dibuat 9 buah elektroda dengan variasi komposisi elektroda seperti pada Tabel 4.1. Komposisi karbon nanopori dan IZ dibuat bervariasi, sedangkan komposisi parafin dibuat tetap. Komposisi antara karbon nanopori yang dicampur dengan zeolit dan NIZ dibuat sama dengan komposisi elektroda IZ yang optimum. Elektroda yang sudah dibuat kemudian direndam dalam larutan kreatinin konsentrasi 10^{-1} M selama 24 jam untuk pengondisian. Setelah itu, masing-masing elektroda digunakan untuk mengukur potensial larutan kreatinin 10^{-1} - 10^{-10} M secara potensiometri. Hasil pengukuran potensial menggunakan kesembilan elektroda digunakan untuk membuat kurva hubungan log konsentrasi dengan potensial, selanjutnya ditentukan faktor Nernst, jangkauan pengukuran, dan linieritas garis regresinya. Hasil dari pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Data jangkauan pengukuran dan faktor Nernst hasil pengukuran larutan kreatinin menggunakan elektroda pasta karbon nanopori/IZ berbagai komposisi

Elektroda	Komposisi (% massa)			Faktor Nernst (mV/dekade)	Jangkauan pengukuran (M)	Koefisien korelasi (r)
	Karbon nanopori	IZ	Parafin			
E1	65	0	35	5,3	10^{-4} - 10^{-8}	0,9989
E2	60	5	35	10,5	10^{-5} - 10^{-7}	0,9423
E3	58	7	35	17	10^{-3} - 10^{-5}	0,9954
E4	55	10	35	15,9	10^{-6} - 10^{-9}	0,9979
E5	50	15	35	20,7	10^{-4} - 10^{-8}	0,9970
E6	45	20	35	31,1	10^{-3} - 10^{-7}	0,9993
E7	40	25	35	16,5	10^{-6} - 10^{-8}	0,9973
E8*)	45	20	35	21,9	10^{-6} - 10^{-9}	0,9989
E9**)	45	20	35	8,5	10^{-3} - 10^{-5}	0,9988

Keterangan: *) IZ diganti zeolit

**) IZ diganti NIZ

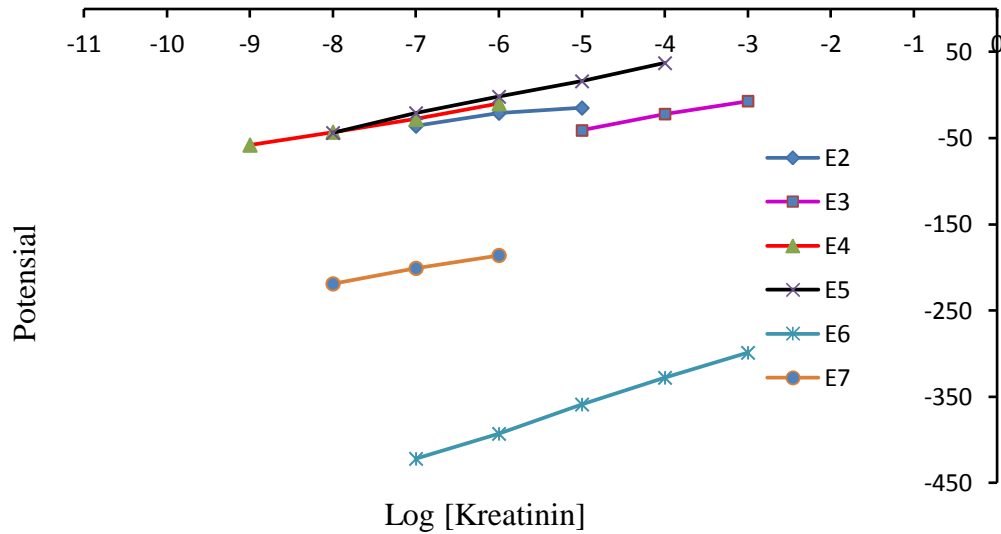
Kinerja elektroda dapat dikatakan bagus apabila memiliki faktor Nernst dan linieritas yang bagus, serta jangkauan pengukuran yang luas. Sebuah elektroda dapat dikatakan baik apabila memiliki faktor Nernst yang mendekati nilai teoritis. Kreatinin merupakan molekul monovalen (Hassan *et al.*, 2005), sehingga secara teoritis kreatinin mempunyai faktor Nernst sebesar 59,5 mV/dekade, namun pada penelitian ini kreatinin

menunjukkan kecenderungan sebagai molekul divalen. Dari hasil pengukuran menggunakan elektroda dengan komposisi yang bervariasi dapat diketahui bahwa elektroda E6 yang memiliki faktor Nernst paling mendekati faktor Nernst teoritis ($59,5/2$ mV/dekade), yaitu 31,1 mV/dekade.

Selain faktor Nernst, parameter lain yang dilihat untuk mengetahui kerja optimum sebuah elektroda adalah jangkauan pengukuran. Jangkauan pengukuran dapat dilihat dari kurva yang memberikan suatu garis lurus. Dari hasil optimasi komposisi elektroda, E1, E5, dan E6 memiliki jangkauan pengukuran yang sama yaitu ada 5 titik konsentrasi. Namun, dipilih E6 yang memiliki jangkauan pengukuran pada rentang 10^{-3} sampai 10^{-7} M karena E6 memiliki faktor Nernst dan linieritas yang paling baik diantara ketiga elektroda tersebut.

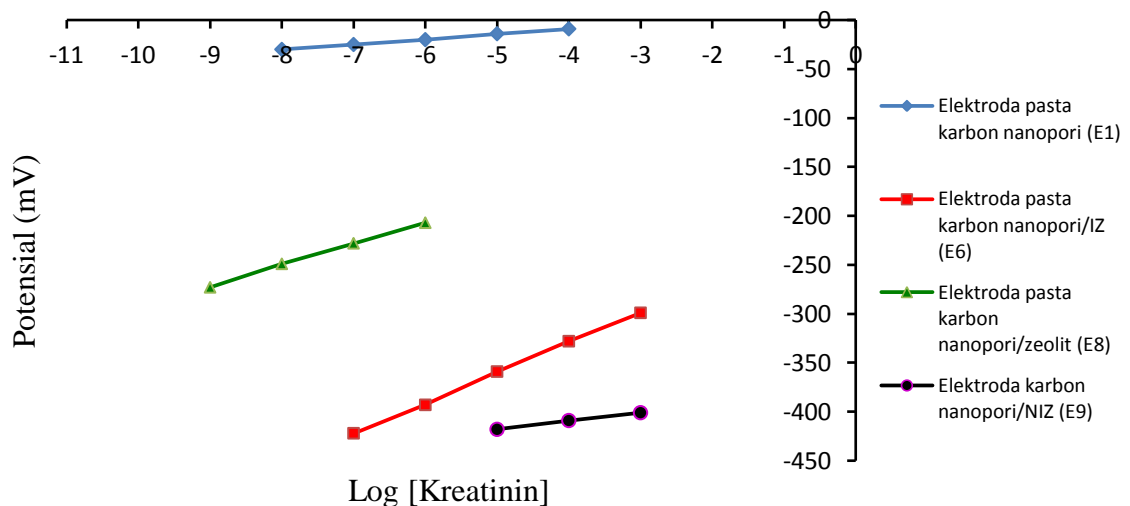
Parameter terakhir yang dapat digunakan untuk menilai kinerja elektroda adalah linieritas kurva kalibrasi yang dinyatakan dengan harga koefisien korelasi kurva kalibrasi. Linieritas kurva antara potensial dengan log konsentrasi pada pengukuran secara potensiometri dikatakan bagus apabila regresinya memiliki nilai r yang mendekati satu. Elektroda yang memiliki linieritas paling baik adalah elektroda E6 dengan nilai r sebesar 0,9993.

Dari ketiga parameter di atas, dapat dilihat bahwa elektroda yang bekerja secara optimum adalah elektroda E6 yang terbuat dari perbandingan massa antara karbon nanopori : IZ kreatinin : parafin sebesar 45%:20%:35%. Dalam optimasi komposisi elektroda, banyaknya karbon nanopori maupun IZ dapat mempengaruhi hasil pada pengukuran secara potensiometri. Pada saat pengukuran, IZ di sini berfungsi untuk menangkap analit secara selektif sesuai cetakannya, yaitu molekul kreatinin. Selanjutnya, karbon nanopori menyampaikan respon ke kawat perak (Ag) dan diteruskan ke potensiometer, sehingga dapat terbaca nilai potensial. Banyaknya IZ yang ditambahkan dalam pembuatan elektroda dapat mempengaruhi jumlah sisi pengenalan analit yang meningkatkan selektivitas elektroda (Lianget *al*, 2009). Secara teoritis, semakin banyak jumlah IZ yang ditambahkan maka semakin besar faktor Nernst dan linieritasnya. Namun pada penelitian ini, penambahan IZ lebih dari 20% menghasilkan faktor Nernst, linieritas, dan jangkauan pengukuran yang lebih rendah bila dibandingkan elektroda dengan jumlah IZ 20%. Hal itu mungkin dikarenakan membran yang terbentuk menjadi kaku, sehingga elektroda memberikan respon yang rendah. Kurva standar kreatinin yang dibuat dari hasil pengukuran menggunakan elektroda E2 sampai E7 dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Kurva standar kreatinin hasil pengukuran menggunakan elektroda E2 - E7

Elektroda pasta karbon nanopori yang dimodifikasi dengan IZ memberikan hasil yang lebih bagus bila dibandingkan elektroda tanpa IZ maupun dengan zeolit dan NIZ. Hal ini dikarenakan elektroda tanpa IZ hanya mengandung karbon nanopori yang tidak selektif dalam merespon analit, sedangkan elektroda yang mengandung zeolit hasilnya rendah karena zeolit tidak mempunyai cetakan yang spesifik terhadap analit, sehingga kemungkinan senyawa selain analit juga ikut terukur potensialnya.



Gambar 5.6 Kurva hubungan log konsentrasi kreatinin dengan potensial elektroda menggunakan variasi jenis elektroda termodifikasi

Elektroda yang mengandung NIZ memiliki faktor Nernst yang rendah bila dibandingkan elektroda yang mengandung zeolit karena dalam NIZ masih terdapat kreatinin yang berikatan hidrogen dengan zeolit TS-1, sehingga kreatinin tidak dapat mengalami perpindahan dari larutan ke elektroda dan hal tersebut mengakibatkan potensial

yang didapatkan rendah. Kurva perbandingan hasil pengukuran antara E1, E6, E8, dan E7 yang dapat dilihat pada Gambar 5.6.

5.1.4 Optimasi pH

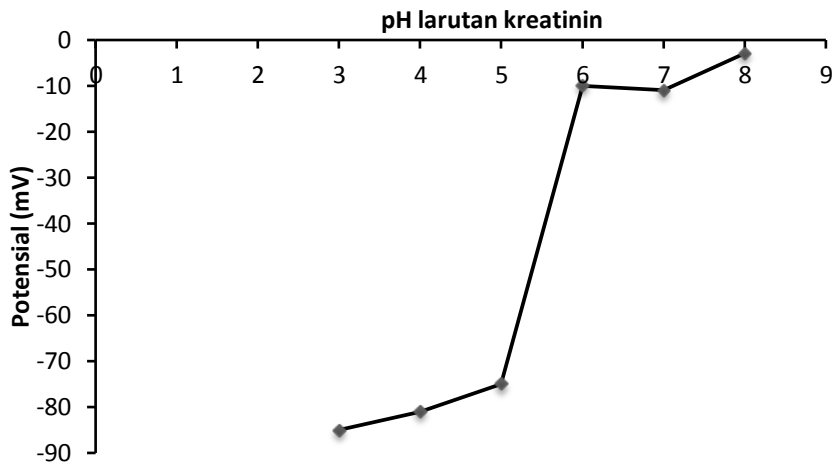
Pada saat mengukur potensial suatu analit, kondisi pH dari analit terkadang dapat mempengaruhi hasil pengukuran. Apabila pH pada setiap konsentrasi larutan berbeda-beda, hal tersebut dapat mengakibatkan perbedaan hasil pengukuran sehingga potensial yang terukur nantinya tidak stabil. Oleh karena itu, dibutuhkan optimasi pH untuk mengetahui rentang pH dari suatu analit yang ditunjukkan dengan terukurnya potensial yang stabil. Optimasi pH larutan dilakukan pada rentang pH 3-8 dengan tujuan untuk mengetahui respon elektroda yang dihasilkan pada kondisi asam, netral, maupun basa.

Pada penelitian ini, optimasi pH hanya dilakukan pada larutan kreatinin konsentrasi 10^{-3} M dengan asumsi bahwa pada konsentrasi yang lain juga dapat memberikan kecenderungan respon yang identik. Sebanyak 6 larutan kreatinin 10^{-3} M ditambah dengan masing-masing larutan bufer dari pH 3 sampai 8. Larutan kemudian diukur potensialnya menggunakan elektroda E6 dan elektroda pembanding Ag/AgCl. Kurva pengaruh pH terhadap potensial larutan kreatinin 10^{-3} M menggunakan E6 dapat dilihat pada Gambar 5.7, sedangkan data potensial kreatinin pada berbagai pH dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Data potensial kreatinin pada berbagai pH

pH	Potensial (mV)
3	-85
4	-81
5	-75
6	-10
7	-11
8	-3

Berdasarkan Gambar 5.7 terlihat bahwa terdapat perbedaan potensial seiring dengan berbedanya pH larutan. Hal ini menyatakan bahwa pada pH tersebut elektroda berfungsi sebagai sensor ion H^+ . Namun pada pH 6-7, potensial yang dihasilkan relatif konstan, sehingga pH tersebut merupakan pH optimum dari larutan kreatinin.



Gambar 5.7 Kurva pengaruh pH terhadap potensial larutan kreatinin 10^{-3} M menggunakan E6

Kreatinin merupakan suatu senyawa yang mempunyai pH 7-9 pada suhu 25°C . Pada penelitian ini, kreatinin konsentrasi 10^{-10} - 10^{-1} M mempunyai rentang pH 6-8. Pada Gambar 4.7 terlihat bahwa potensial kreatinin relatif stabil pada pH asam maupun basa. Hal itu dikarenakan kreatinin mempunyai 2 buah konstanta disosiasi yaitu $\text{pK}_{a1} = 4,8$ dan $\text{pK}_{a2} = 9,2$. Pada pH di bawah 4,8, kreatinin berada dalam bentuk kation, sedangkan pada pH sekitar 9,2, kreatinin berada dalam bentuk anion. Hal tersebut menunjukkan bahwa kreatinin dapat bersifat sebagai asam maupun basa atau netral (Gatti *et al.*, 1999). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kreatinin lebih stabil dalam bentuk netral yaitu pada pH 6-7. Pada penelitian ini dipilih pH 7 sebagai pH optimum menyesuaikan dengan pH riil sampel seperti urin karena pH normal urin adalah 7.

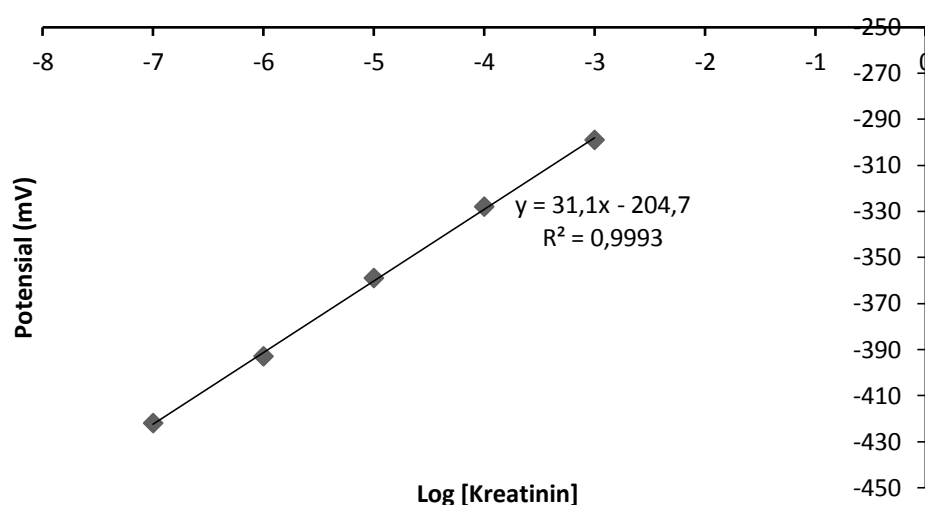
5.1.5 Kurva standar, uji kinerja esensor dan validitas metode analisis

5.1.5.1 Kurva standar kreatinin

Pada penelitian ini, kurva standar kreatinin dibuat dari hasil pengukuran potensial elektroda pada larutan kreatinin konsentrasi $10^{-1} - 10^{-10}$ M dengan pH 7 menggunakan elektroda E6 yang merupakan elektroda dari hasil optimasi komposisi elektroda. Data hasil pengukuran potensial larutan kreatinin dapat dilihat pada Tabel 5.5. Dari data tersebut kemudian dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi kreatinin dengan potensial yang terukur. Pada kurva hanya diambil titik-titik konsentrasi berurutan yang memberikan garis lurus dimana linieritasnya mendekati 1 dan memiliki faktor Nernst mendekati 59,5 mV/dekade. bKurva standar kreatinin dapat dilihat pada Gambar 5.8.

Tabel 5.5 Data hasil pengukuran potensial elektroda E6 pada larutan kreatinin

Konsentrasi Kreatinin (M)	Potensial (mV)
10^{-1}	-305
10^{-2}	-284
10^{-3}	-299
10^{-4}	-328
10^{-5}	-359
10^{-6}	-393
10^{-7}	-422
10^{-8}	-416
10^{-9}	-433
10^{-10}	-423



Gambar 5.8 Kurva standar kreatinin hasil pengukuran menggunakan elektroda E6 (pH 7)

5.1.5.2 Kinerja sensor dan validitas metode analisis

Kinerja elektroda dan validitas metode analisis dapat dinyatakan dengan nilai waktu respon dan waktu hidup elektroda, jangkauan pengukuran, faktor Nernst, limit deteksi, presisi, akurasi dan selektivitas. Waktu respon merupakan waktu yang diperlukan elektroda untuk merespon analit dalam larutan. Waktu respon dihitung saat elektroda kerja dimasukkan ke dalam larutan sampai dengan terbacanya respon potensial yang stabil (Atikah and Fardiyah, 2013). Waktu respon yang didapatkan dari hasil pengukuran kreatinin menggunakan elektroda karbon nanopori/IZ (E6) pada pH 7 dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Dalam penelitian ini, diperoleh data bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin cepat waktu respon elektroda karena konsentrasi yang semakin meningkat juga akan meningkatkan jumlah dan pergerakan molekul, sehingga molekul semakin cepat mengalami perpindahan dari larutan ke elektroda, begitu pula sebaliknya (Suwarno, 2008).

Tabel 5.6 Waktu respon elektroda pasta karbon nanopori/IZ terhadap larutan kreatinin

Konsentrasi (M)	Waktu (detik)
10^{-10}	290
10^{-9}	280
10^{-8}	243
10^{-7}	170
10^{-6}	159
10^{-5}	156
10^{-4}	140
10^{-3}	135
10^{-2}	114
10^{-1}	92

Jangkauan pengukuran adalah rentang konsentrasi yang masih memberikan garis lurus pada kurva hubungan log konsentrasi dengan potensial dan masih memenuhi persamaan Nernst (Bakker *et al.*, 1997). Suatu elektroda dapat dikatakan bagus apabila memiliki jangkauan pengukuran yang luas (Taylor *et al.*, 1994). Pada saat optimasi komposisi elektroda, didapatkan beberapa elektroda yang menghasilkan jangkauan pengukuran terluas. Elektroda tersebut adalah elektroda E1, E5, dan E6. Namun, jika dilihat dari faktor Nernst dan linieritasnya maka elektroda E6 jauh lebih baik bila dibandingkan elektroda yang lain. Elektroda E6 memiliki jangkauan pengukuran sebesar $10^{-3} - 10^{-7}$ M. Hasil perbandingan jangkauan pengukuran antara elektroda E1, E5, dan E6 dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Jangkauan pengukuran dari elektroda E1, E5, dan E6

Elektroda	Konsentrasi (M)	Regresi	Faktor Nernst	r
E1	$10^{-3} - 10^{-8}$	$y = 4,8286x + 9.0571$	4,8286	0,9867
	$10^{-4} - 10^{-8}$	$y = 5,3x + 12,2$	5,3	0,9989
E5	$10^{-4} - 10^{-9}$	$y = 19,114x + 113,74$	19,114	0,9889
	$10^{-4} - 10^{-8}$	$y = 20,7x + 122,2$	20,7	0,9970
E6	$10^{-2} - 10^{-7}$	$y = 28,657x + 218,54$	28,657	0,9899
	$10^{-3} - 10^{-7}$	$Y = 31,1x - 204,7$	31,1	0,9993

Berdasarkan hasil dari kurva standar, didapatkan faktor Nernst sebesar 31,1 mV/dekade. Faktor Nernst ditunjukkan dari kemiringan (*slope*) persamaan regresi linier dimana persamaan regresi linier dari kreatinin yaitu $y = 31,1x - 204,7$, sedangkan linieritas kreatinin didapat dari nilai r persamaan regresi linier yaitu 0,9993.

Batas deteksi umumnya menyatakan besarnya kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat diukur atau dideteksi dengan baik oleh suatu metode. Batas deteksi dapat ditentukan dengan menarik garis perpotongan antara garis linier dan garis nonlinier dari

kurva standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa batas deteksi yang dihasilkan sebesar $1,0491 \times 10^{-7}$ M. Hasil tersebut menunjukkan bahwa elektroda karbon nanopori/IZ baik untuk digunakan karena memiliki batas deteksi yang rendah. Apabila digunakan untuk mengukur sampel, maka sampel dengan konsentrasi kecil sudah bisa terukur sehingga bila diaplikasikan pada sampel riil maka tidak membutuhkan jumlah yang banyak. Batas deteksi yang dihasilkan dari elektroda pasta karbon nanopori/IZ ini lebih baik bila dibandingkan dengan pengukuran kreatinin secara potensiometri menggunakan elektroda selektif ion yang dibuat dari 2-nitrofenil oktil eter (NPOE) sebagai *plasticizer*, dibenzo-30-crown-10 (DB30C10) dan potassium tetrakis (p-klorofenil)borat (PTp-CIPB) sebagai ionofor dan *anionic site*. Pada penelitian tersebut menghasilkan batas deteksi sebesar $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L (Elmosallamy, 2006).

Validitas metode analisis secara umum juga dapat dinyatakan dengan nilai presisi dan akurasinya. Presisi merupakan keterulangan sinyal hasil analisis terhadap larutan yang konsentrasinya sama dan dilakukan pengulangan pengukuran dalam interval waktu yang pendek. Pada penelitian ini presisi dinyatakan dengan nilai *reproducibility* karena pengukuran ini dilakukan pada tiga larutan kreatinin yang berbeda, namun konsentrasi dari ketiga larutan sama. Presisi dilakukan pada konsentrasi yang rentangnya 10^{-3} – 10^{-7} M karena rentang tersebut merupakan jangkauan pengukuran dari elektroda E6. Nilai presisi pada penelitian ini dinyatakan dengan nilai koefisien variasi (KV).

Berdasarkan hasil pengukuran larutan kreatinin 10^{-7} - 10^{-3} M maka didapatkan KV sebedar 0,96% hingga 2,56%. Suatu metode analisis dikatakan bagus apabila untuk pengukuran konsentrasi 10^{-3} - 10^{-7} M menghasilkan nilai presisi 5,3% - 21% (Taverniers *et al.*, 2004). Semakin kecil nilai KV, maka semakin teliti elektroda yang digunakan untuk mengukur potensial kreatinin. Data pengukuran potensial kreatinin dan harga KV dapat dilihat pada Tabel 5.8.

Tabel 5.8 Data hasil pengukuran potensial kreatinin dan harga koefisien variasi menggunakan elektroda pasta karbon nanopori/IZ pada pH 7

Konsentrasi (M)	Potensial (mV)			SD	KV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
10^{-7}	-340	-332	-323	8,50	2,56
10^{-6}	-313	-316	-310	3,00	0,96
10^{-5}	-285	-280	-278	3,61	1,28
10^{-4}	-254	-251	-245	4,58	1,83
10^{-3}	-224	-227	-220	3,51	1,57

Pada penelitian ini, nilai akurasi didapatkan dari mensubstitusikan harga potensial larutan standar ke persamaan kurva kalibrasi kemudian dilakukan penghitungan akurasi. Setelah didapatkan kurva kalibrasi, maka potensial dari larutan kreatinin konsentrasi 10^{-7} - 10^{-3} M yang merupakan jangkauan pengukuran elektroda E6 dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi tersebut untuk menghitung konsentrasi yang diperoleh. Konsentrasi dari hasil perhitungan kemudian dibandingkan dengan konsentrasi sesungguhnya, sehingga didapatkan nilai akurasinya. Berdasarkan hasil perhitungan, maka didapatkan nilai akurasi konsentrasi 10^{-7} - 10^{-3} M adalah 93-108%. Secara teoritis, nilai akurasi yang diijinkan untuk pengukuran konsentrasi 10^{-3} M berkisar antara 90-107%, untuk konsentrasi 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} M berada pada rentang 80-110% dan untuk konsentrasi 10^{-7} M sebesar 60-115% (Taverniers *et al.*, 2004). Hasil pengukuran potensial elektroda dan nilai akurasi untuk masing-masing konsentrasi kreatinin yang diukur dapat dilihat pada Tabel 5.9

Tabel 5.9 Data hasil pengukuran potensial dan harga akurasi masing-masing konsentrasi kreatinin

Konsentrasi (M)	Potensial (mV)	Akurasi (%)
10^{-7}	-422	103
10^{-6}	-393	88
10^{-5}	-359	109
10^{-4}	-328	108
10^{-3}	-299	93

Selektivitas elektroda juga dapat menggambarkan kinerja suatu elektroda. Selektivitas merupakan kemampuan elektroda/metode dalam mengukur analit secara cermat dengan adanya komponen lain. Pada penelitian ini, penentuan selektivitas elektroda dinyatakan dengan koefisien selektivitas yang dihitung dengan metode tercampur dimana pada larutan kreatinin konsentrasi tertentu ditambahkan larutan urea, kemudian diukur potensialnya. Di sini, konsentrasi kreatinin sebagai analit utama sebesar 10^{-4} M, sedangkan konsentrasi urea sebagai analit pengganggu sebesar 10^{-2} , 5×10^{-3} , dan 10^{-3} M. Ketiga konsentrasi larutan urea masing-masing dibuat dengan 3 kali replikasi. Pemilihan variasi konsentrasi urea diambil dari konsentrasi normal urea (5×10^{-3} M), di atas konsentrasi normal urea (10^{-2} M), dan di bawah konsentrasi normal urea (10^{-3} M). Dalam hal ini kadar normal urea dalam darah sebesar 6-20 mg/dL (Musa, 2012).

Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan nilai koefisien selektivitas ($K_{i,j}$) larutan yang ditunjukkan pada Tabel 5.10. Secara teoritis, apabila nilai $K_{i,j} = 0$, maka molekul pengganggu tidak mengganggu pengukuran. Apabila nilai $K_{i,j} < 1$, maka elektroda selektif

terhadap molekul utama daripada molekul pengganggu, sedangkan apabila nilai $K_{ij} > 1$ maka elektroda lebih selektif terhadap molekul pengganggu daripada molekul utama. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa elektroda karbon nanopori/IZ lebih selektif terhadap kreatinin daripada urea karena menghasilkan nilai $K_{ij} < 1$.

Tabel 5.10 Nilai koefisien selektivitas elektroda pada pengukuran kreatinin di dalam matriks urea

No.	Konsentrasi Kreatinin (M)	Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)				$K_{i,j}$
			1	2	3	Rata-rata	
1	10^{-4}	0	-180	-174	-177	-177	-
2	10^{-4}	10^{-3}	-213	-209	-214	-212	0,0925
3	10^{-4}	5×10^{-3}	-214	-217	-222	-217,67	0,0190
4	10^{-4}	10^{-2}	-219	-220	-225	-221,33	0,0096

5.1.6 Uji coba elektroda pada sampel serum

Uji coba elektroda dilakukan melalui aplikasi elektroda tersebut untuk analisis kreatinin dalam sampel serum. Hasil uji coba serta hasil uji perbandingan dengan metode spektrofotometri beserta nilai akurasi ditampilkan pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Data konsentrasi kreatinin dalam sampel serum serta akurasi metode analisis terhadap metode spektrofotometri

No sampel	Konsentrasi yang diperoleh (M)		Akurasi (%)
	Potensiometri	Spektrofotometri*)	
1	$3,84 \times 10^{-4}$	$4,51 \times 10^{-4}$	85,1
2	$4,92 \times 10^{-4}$	$5,23 \times 10^{-4}$	94,1
3	$7,10 \times 10^{-4}$	$7,02 \times 10^{-4}$	100,1
4	$3,96 \times 10^{-4}$	$4,51 \times 10^{-4}$	87,8
5	$4,61 \times 10^{-4}$	$4,87 \times 10^{-4}$	97,1

*) data dari laboratorium klinik

Hasil penelitian menunjukkan bahwa elektroda yang dikembangkan ini memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan elektroda yang dikembangkan sebelumnya (Khasanah *et al.*, 2016). Berdasarkan AOAC, nilai keberterimaan statistik akurasi metode analisis pada level konsentrasi 10^{-7} - 10^{-3} M sebesar 40-120%.

5.1.7. Waktu hidup elektroda

Waktu hidup elektroda dipelajari dengan cara mengaplikasikan elektroda untuk pengukuran larutan standar kreatinin dan diamati kinerja elektroda tersebut. Waktu hidup elektroda dihitung saat elektroda memberikan kinerja optimum hingga mengalami penurunan kinerja secara signifikan. Berdasarkan pengukuran potensial elektroda karbon

nanopori/IZ setiap minggunya, didapatkan faktor Nernst dan linieritas seperti pada Table 5.12.

Tabel 5.12 Waktu hidup elektroda pasta karbon nanopori/IZ

Minggu ke-	Jumlah pengukuran	Jangkauan pengukuran (M)	Faktor Nernst (mV/dekade)	Lineritas kurva(r)
1	40	10^{-7} - 10^{-3}	30,5	0,9604
2	85	10^{-7} - 10^{-3}	31,1	0,9930
3	128	10^{-7} - 10^{-3}	29,8	0,9851
4	165	10^{-7} - 10^{-3}	27,1	0,9944
5	177	10^{-7} - 10^{-3}	25,2	0,9769
6	183	10^{-7} - 10^{-3}	9,8	0,7826

Dari Tabel 5.12 dapat dilihat bahwa dari hasil pengukuran setiap minggu terdapat perubahan faktor Nernst dan linieritas. Pada minggu ke-6 terjadi penurunan faktor Nernst dan linieritas yang cukup drastis. Hal ini menunjukkan bahwa pengukuran potensial sudah tidak akurat lagi, sehingga dapat disimpulkan bahwa elektroda sudah tidak layak digunakan lagi. Pada dasarnya waktu hidup elektroda bergantung pada pH elektroda dan sifat mekanik membran elektroda dimana sifat mekanik tersebut dipengaruhi oleh kelenturan membran. Semakin sering digunakan, maka permukaan elektroda akan mengalami perubahan. Permukaan elektroda menjadi tidak rata dan membentuk lubang karena sejumlah komponen elektroda dapat larut. Semakin banyak yang larut, jumlah zat yang berfungsi sebagai *template* akan semakin sedikit, sehingga selektivitasnya berkurang dan menghasilkan faktor Nernst yang tidak sesuai dengan kurva standar.

5.2. Luaran yang Dicapai

Pada tahun pertama (2017) ditargetkan luaran berupa (1) draf artikel yang dipublikasikan pada jurnal internasional dan (2) mengikuti seminar internasional. Hingga laporan ini ditulis, luaran yang telah dicapai adalah sebagai berikut.

1. Artikel ilmiah yang diseminarkan pada 6th International Conference of The Indonesian Chemical Society (ICICS) 2017. Artikel dan sertifikat seminar terlampir (Lampiran 2 dan 3)
2. Artikel ilmiah yang disubmit ke jurnal internasional. Manuscript dan bukti submit terlampir (Lampiran 4 dan 5)

BAB VI

RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana tahap berikutnya adalah:

1. Menyempurnakan konstruksi sensor
2. Mempelajari pengaruh matriks dalam sampel serum melalui penambahan asam urat, asam askorbat, dan glukosa yang merupakan komponen penyusun serum
3. Melakukan aplikasi sensor pasta karbon nanopori-IZ untuk analisis kreatinin dalam sampel serum
4. Melakukan penulisan artikel ilmiah yang akan dipublikasikan pada jurnal internasional
5. Melakukan penulisan draft paten sederhana

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Zeolit hasil sintesis merupakan zeolit tipe titanium silikat 1 (TS-1) dengan struktur MFI
2. Elektroda pasta karbon nanopori/IZ yang terbuat dari campuran karbon nanopori, IZ dan paraffin dengan perbandingan massa 45:20:35 menunjukkan kinerja optimum untuk analisis larutan standar kreatinin yang ditunjukkan dengan jangkauan pengukuran 10^{-7} - 10^{-3} M, faktor Nernst 31,1 mV/dekade, batas deteksi $1,05 \times 10^{-7}$ M, waktu respon 135-170 detik, koefisien variasi (KV) 0,96%-2,56 %, akurasi 88-103%.
3. Elektroda pasta karbon nanopori/IZ yang telah dibuat menunjukkan selektivitas yang bagus terhadap kreatinin dalam larutan standar yang mengandung urea. Keberadaan urea dengan konsentrasi hingga 100 kali konsentrasi kreatinin tidak mengganggu analisis kreatinin.
4. Uji coba elektroda pasta karbon nanopori/IZ pada 5 sampel serum menghasilkan nilai akurasi sebesar $(93,1 \pm 6,6)\%$, dengan demikian elektroda termodifikasi yang dikembangkan ini dapat digunakan sebagai kandidat sensor untuk analisis kreatinin dalam sampel serum di bidang medis

7.2. Saran

Saran yang dapat disampaikan dari hasil penelitian ini adalah:

1. perlu dipelajari lebih lanjut tentang selektivitas sensor terutama pengaruh keberadaan komponen lain dalam sampel serum/urin, seperti asam urat, asam askorbat dan glukosa (gula).
2. perlu dilakukan aplikasi sensor dan metode untuk analisis kreatinin dalam sampel riil dengan berbagai komposisi matriks pengganggu dan dilakukan uji perbandingan terhadap hasil analisis menggunakan metode yang umum digunakan di bidang medis.

DAFTAR PUSTAKA

- 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
- Atikah, Wijanarko, A. and Fardiyah, Q., 2013, **Pengaruh Ion Asing Terhadap Kinerja Elektroda Selektif Ion (ESI) Cd (II) Tipe Kawat Terlapis Berbasis D2EHPA Serta Aplikasinya pada Penentuan Kadar Kadmium dalam Air Sungai**, *Kimia Student Journal*, 2:546-552
- Bakker, E., Bühlmann, P., and Pretsch, E., 1997, **Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes, 1 General Characteristic**, *Chemical Reviews*, 97: 3083-3132
- 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.
- Cattrall, R.W., 1997, *Chemical Sensors*, Oxford University Press, New York
- Chen, L.H., Li, X.Y., Tian, G., Li, Y., Rooke, J.C., Zhu, G.S., Qiu, S.L., Yang, X.Y., and Su, B.L., 2011, **Highly Stable and Reusable Multimodal Zeolite TS-1 Based Catalysts with Hierarchically Interconnected Three-Level Micro-Meso-Macroporous Structure**, *Angewandte Chemie*, 123: 11352-11357
- 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**, *Biochemistry*, 64, 99-107.
- Elmosallamy, M.A.F., 2006, **New Potentiometric Sensors for Creatinine**, *Analytica Chimica Acta*, 564: 253-257
- Falcó, P.C., Genaro, L.A.T., Lloret, S.M., Gomez, F.B., Cabeza, A.S., and Legua, C.M., 2001, **Creatinine Determination in Urine Samples by Batchwise Kinetic Procedure and Flow Injection Analysis Using the Jaffé Reaction: Chemometric Study**, *Talanta*, 55: 1079-1089
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 1982, *Kimia Organik Jilid 1 Edisi Ketiga* (Penerjemah Aloysius Hadyana Pudjaatmaka Ph.D.), Erlangga, Jakarta
- Guo, M.D. and Guo H.X., 2005, **Voltammetric Behaviour Study of Creatinine at Phosphomolybdic-Polypyrrole Film Modified Electrode**, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 585: 28-34
- Hassan, S.S.M., Elnemma, E.M., and Mohamed, A.H.K., 2005, **Novel Biomedical Sensors for Flow Injection Potentiometric Determination of Creatinine in Human Serum**, *Electroanalysis*, 17: 2246-2253
- Lakshmi, D., Prasad, B.B., and Sharma, P.S., 2006, **Creatinine Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer-Modified Hanging Mercury Drop Electrode**, *Talanta*, 70: 272-280
- Lestari, D.Y., 2010, **Kajian Modifikasi dan Karakterisasi Zeolit Alam dari Berbagai Negara**, *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia 2010*, 978: 1-6

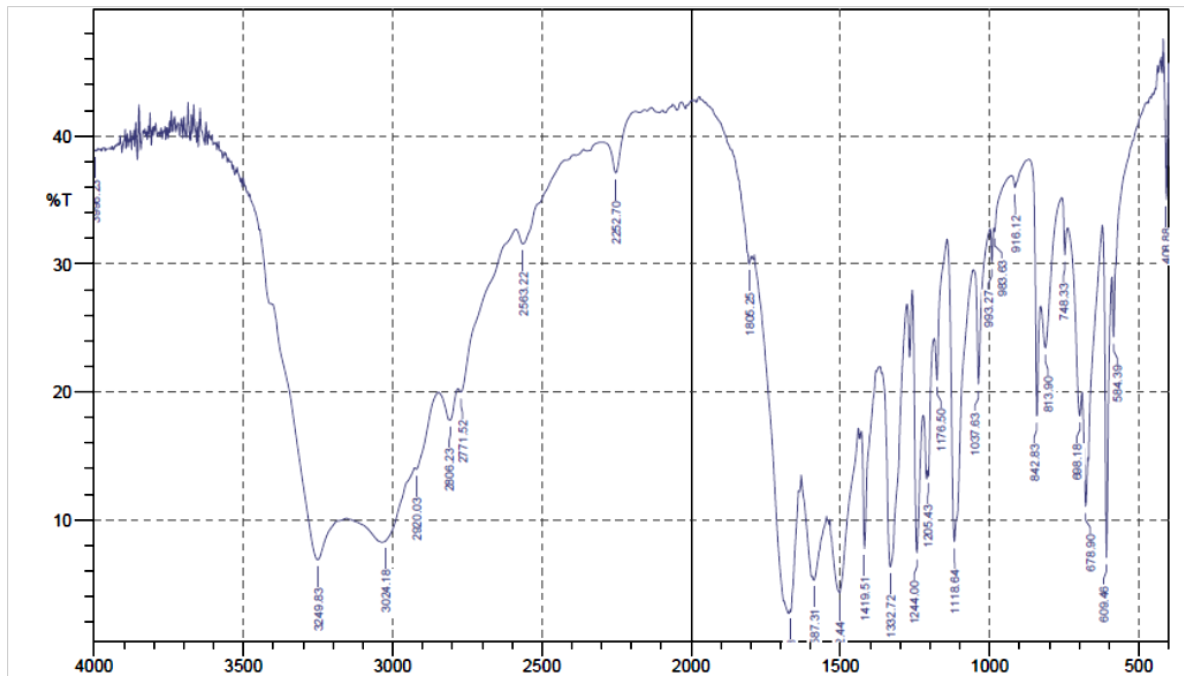
- Levey, A.S., Boshch, J.P., Lewis, J.B., Greene, T., Rogers, N., and Roth, D., 1999, **A More Accurate Method to Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: a New Prediction Equation**, *Annals of Internal Medicine*, 130:461-470
- Khasanah, M., Harsini, M., and Widati, A.A., 2013, **Imprinting zeolite modified glassy carbon as a voltammetric sensor for uric acid**, *Indo. J. Chem*, 13 (2), 108-113.
- Khasanah, M., Widati., A.A., and Fitri, S.A., 2016, **Imprinted Zeolite Modified Carbon Paste Electrode as a Potentiometric Sensor for Uric Acid**, *American Institute of Physic Conference Proceedings*, Vol 1718, no.070003
- Ke, X., Xu, L., Zeng, C., Zhang, L., and Xu, N., 2007, **Synthesis of Mesoporous TS-1 by Hydrothermal and Steam-Assisted Dry Gel Conversion Techniques with The Aid of Triethanolamine**, *Microporous and Mesoporous Materials*, 106: 68-75
- Madaras, M.B. and Buck, R.P., 1996, **Miniaturized Biosensors Employing Electropolymerized Permselective Films and Their Use for Creatinine Assays in Human Serum**, *Analytical Chemistry*, 68: 3832-3839
- Meliala, P., 2012, **Pengaruh Rasio Mol Si/Al untuk Mengakselerasi Proses Gel Aging Menggunakan Jet Bubble Column pada Rute Pembuatan Zeolit ZSM-5**, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Depok
- Musa, A.B., 2012, **Hubungan Antara UACR dengan EGFR sebagai Penanda Gangguan Fungsi Ginjal pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo**, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Depok
- Nurhidayatin, L., 2012, **Analisis Kreatinin secara Voltammetri Lucutan Menggunakan Elektroda Lapisan Merkuri pada elektroda Glassy Carbon**, *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya
- On, D.T., Lutić, D., and Kaliaguine, S., 2001, **An Example of Mesostructured Zeolitic Material: UL-TS-1**, *Microporous and Mesoporous Materials*, 44-45: 435-444
- Pandey, P.C. and Mishra, A.P., 2004, **Novel Potentiometric Sensing of Creatinine**, *Sensors and Actuators B*, 99: 230-235
- Prasad, B.B., Patel, A.K., and Sharma, P.S., 2008, **Development of a Creatinine Sensor Based on a Molecularly Imprinted Polymer-Modified Sol-Gel Film on Graphite Electrode**, *Electroanalysis*, 20: 2102-2112.
- Petrova, B., Tsyntsarski, B., Budinova, T., Petrov, N., Ania, C.O., Parra, J. B., Mladenov, M., and Tzvetkov, P., 2010, **Synthesis of Nanoporous Carbons from Mixtures of Coal Tar Pitch and Furfural and Their Application as Electrode Materials**, *Fuel Processing Technology* 91 : 1710–1716
- Pundir, C.S., Yadav, S., and Kumar, A., 2013, **Creatinine Sensors-Review**, *Trends in Analytical Chemistry*, 50: 42-52
- Pyun, S. and Lee, G., 2007, **Synthesis and Characterization of Nanoporous Carbon and Its Electrochemical Application to Electrode Material for Supercapacitors**, *Modern Aspect of Electrochemistry*, No 41, Springer, New York
- Qiu, F., Wang, X., Zhang, X., Liu, H., Liu, S., and Yeung, K.L., 2009, **Preparation and Properties of TS-1 Zeolite and Film Using Sil-1 Nanoparticles as Seeds**, *Chemical Engineering Journal*, 147: 316-322
- Quon, H., Grossman, C.E., King, R.L., Putt, M., Donaldson, K., Kricka, L., Finlay, J., Zhu, T., Dimofte, A., Malloy, K., Cengel, K.A., and Busch, T.M., 2010, **Interference with the Jaffé Method for Creatinine Following 5-aminolevulinic acid Administration**, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7: 268-274
- Sukandar E., 1997, *Tinjauan Umum Nefropati Diabetik in Nefropati Klinik*, Edisi Kedua, ITB, Bandung

- Suwarno, I.N., 2008, **PembuatandanPencirianElektrodeSelektif Ion Magnesium TipeKawatTerlapis**, *Skripsi*, InstitutPertanian Bogor, Bogor
- Taverniers, I., Loose, M.D., and Bockstaele, E.V., 2004, **Trends in Quality in The Analytical Laboratory. II. Analytical Method Validation and Quality Assurance**, *Trends in Analytical Chemistry*, 23: 535-552
- Taylor, L.R., Papp, R.B., and Pollard, B.D., 1994, *Instrumental Methods for Determining Elements, Selection, and Application*, VCH Publishers, Inc, New York
- Thangaraj, A., Kumar, R., Mirajkar, P., and Ratnasamy, P., 1991, **Catalytic Properties of Crystalline Titanium Silicates: I. Synthesis and Characterization of Titanium-Rich Zeolite with MFI Structure**, *Journal of Catalysis*, 130: 1-8
- Walcarius, A., 1999, **Zeolite-Modified Electrodes in Electroanalytical Chemistry-Review**, *Analytica Chimica Acta*, 384: 1-16
- Vinu, A., Mori, T., Ariga, K., 2006, **New Families of Mesoporous Materials**, *Science and Technology of Advanced Materials*, 7, 753-771.
- Wang, J. and Walcarius, A., 1996, **Zeolite-Modified Carbon Paste Electrode for Selective Monitoring of Dopamine**, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 407: 183-187
- Yürüm, Y., Taralp, A., and Veziroglu, T.N., 2009, **Storage of Hydrogen in Nanostructured Carbon Materials-Review**, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34: 3784-3798

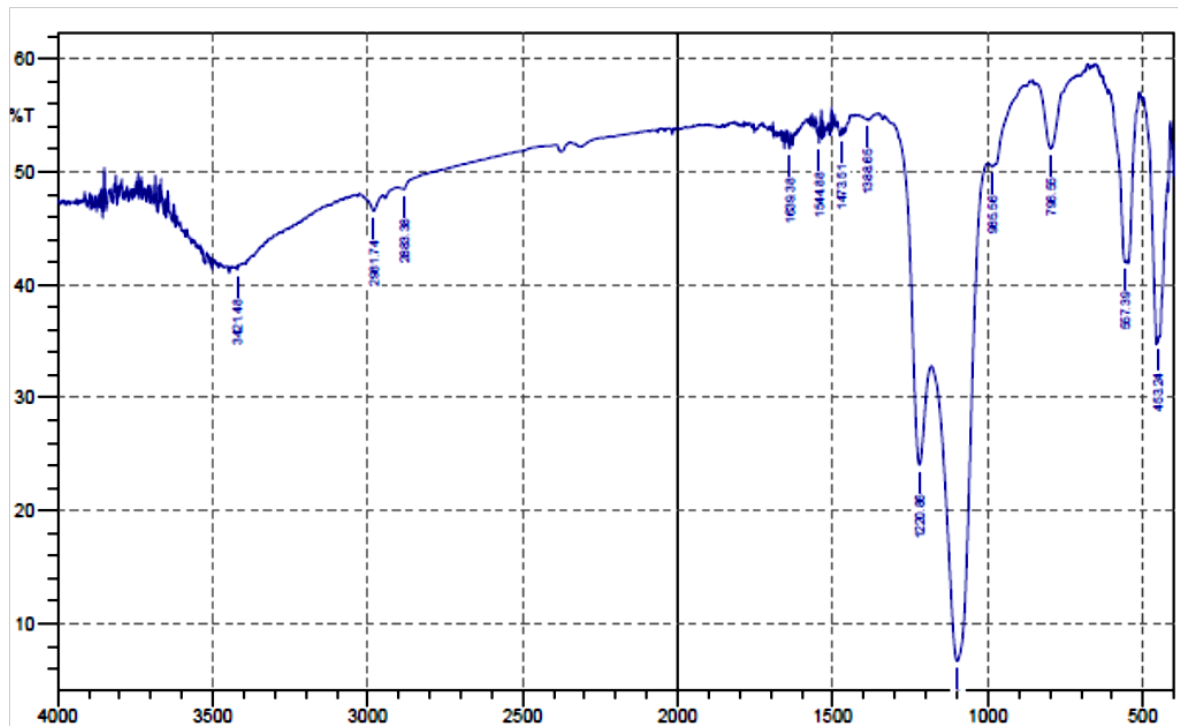
LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil karakterisasi dengan FTIR

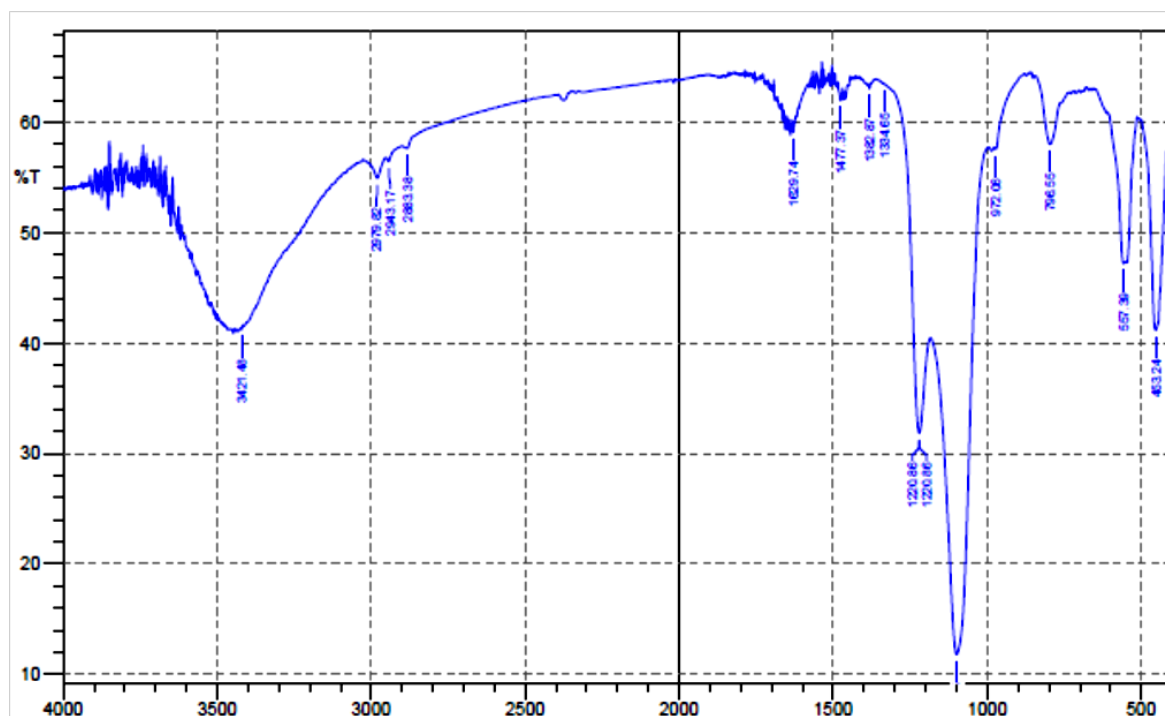
Spektra kreatinin



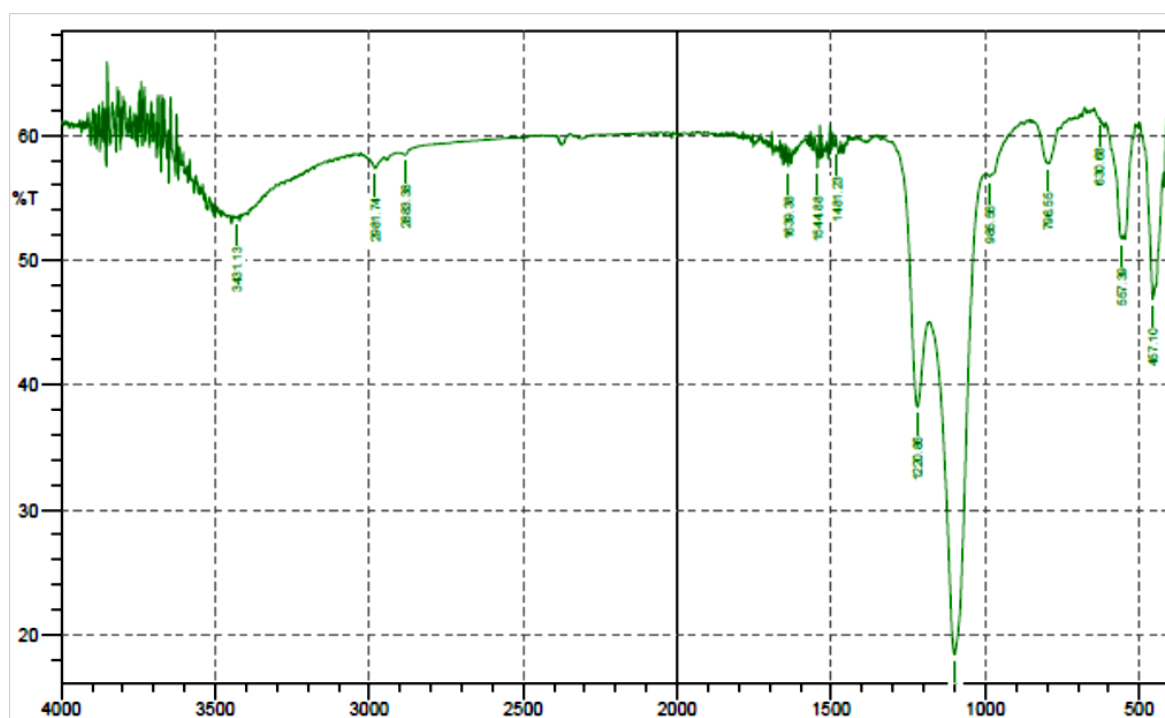
Spektra zeolit



Spektra *non-imprinted* zeolit (NIZ)



Spektra *imprinted* zeolit (IZ)



Lampiran 2. Paper yang telah disubmit ke seminar ICICS 2017, Universitas Sriwijaya, 17-18 Oktober 2017

Development of Nanoporous Carbon Paste/Imprinted Zeolite Electrode as Potentiometric Sensor for Creatinine

Miratul Khasanah, Muji Harsini, Usreg Sri Handajani, Alfa Akustia Widati, Putri Agnes Nyla Chandra

*Chemistry Department, Science and Technologi Faculty, Universitas Airlangga
Kampus C, Jl. Ir. Soekarno, Surabaya 60115*

Corresponding author:miratul-k@fst.unair.ac.id

ABSTRACT

Nanoporous carbon paste electrode modified imprinted zeolite has been developed as a sensor to analyze creatinine by potentiometry. Imprinted zeolite (IZ) was synthesized by mixing tetraethyl orthosilicate (TEOS), tetrabutyl orthotitanate (TBOT), tetrapropylammonium hydroxide (TPAH), and water with a mole ratio of 1:0.017:0.24:21.1. Amount of creatinine was added to the mixture up to the mole ratio of creatinine/Si was 0.0306. Then creatinine was extracted from zeolite structure to form a specific imprinted for creatinine. Characterization of the synthesized zeolite by using X-ray diffraction (XRD) indicated formation of TS-1 zeolite belonging MFI structure. Nanoporous carbon paste/IZ electrode was prepared by mixing nanoporous carbon, IZ, and paraffin with ratio of 45:20:35 by mass. The research showed the optimum pH of creatinine was 6–7, the measurement range was 10^{-7} – 10^{-3} M and the Nernst factor was 31.1 mV per decade. Limit of detection of the potentiometry method using the developed electrode was 1.05×10^{-7} M. The presence of urea in the solution did not interfere to analysis of creatinine. The accuracy and precision level of the method were $(93.1 \pm 6.6)\%$ ($n=5$) and 97.44–99.04%, respectively. The developed electrode showed response time of 135–170 s and the life time of 4 weeks (165 times usage).

Keyword : *creatinine, imprinted zeolite, potentiometry, nanoporous carbon electrode*

INTRODUCTION

Creatine is one of the main compounds in the muscular energetic metabolism leading to phosphocreatine to maintain high ATP levels. Creatinine is the result of the decomposition of creatine that is filtered by the glomerulus and excreted through the urine at a relatively constant rate. In general, the normal concentration of creatinine in serum is about 0.6-1.2 mg/dL [1]. The measurement of creatinine level in human blood and urine is clinically essential, because it partially reflects the renal, muscular and thyroid functions. Low serum creatinine levels may indicate a low nutritional status, muscular dystrophy and myastheni, whereas high creatinine levels indicative of diabetic nephropathy, eclampsia, glomerulonephritis, muscular dystrophy, preeclampsia, pyelonephritis reduced renal blood flow, renal failure, and urinary tract obstruction [2].

The commonly used methods for the determining of creatinine are based on colorimetry using the Jaffé's reaction method. However, colorimetric methods are adversely affected by numerous metabolites and drugs found in biological samples. Highly selective and relatively fast creatinine determination in biofluids is possible with some

chromatographic methods, but instruments required for these methods are expensive and require time-consuming for sample preparation, so these are not suitable for routine analysis [3].

Recent years have developed methods for creatinine analysis, such as flow injection-potentiometric [4], voltammetry using a hanging mercury drop electrode modified molecularly imprinted polymer (MIP) [5-6] and potentiometry using ion selective electrodes [7]. The developed method is generally not selective, requires a relatively large sample and complex sample pretreatment.

To reduce the weakness, then in this research was studied modification of carbon paste electrode by imprinting zeolite as a sensor for potentiometric creatinine analysis. Sensors methods have many advantages over other techniques used to analyze creatinine in clinical laboratory. Several studies have developed potentiometric sensors for creatinine analysis [8-9]. Basically, not all analytes can produce high signal response because the electrode component used has low conductivity, so it can not convey the potential response to potentiometer well. Therefore, in this research used imprinted / zeolite mold and nanopore carbon in fabricating electrode which functions as a sensor on potentiometry. Potentiometric devices measure the charge potential at the working electrode compared to the reference electrode in an electrochemical cell when zero or no significant current flows between them. In other words, potentiometry provides information about the ion activity in an electrochemical reaction.

Nanopore carbon is an inert material, has a large surface area, and a high conductivity [10-11]. Thus, carbon nanopore is expected to increase the sensitivity of measurement by electrometry. Zeolite is an inorganic compound with a porous crystal structure that has a three-dimensional framework where the structure makes zeolites easy to be modified. Imprinting zeolite is a zeolite in which there is a molecular mold to be recognized. Conformity between the pore size of synthesized zeolite and molecular size of uric acid could increase the adsorption capacity of zeolite, which can provide high sensitivity for uric acid determination. Zeolite has rigid structure, so that in the aqueous media can maintain the shape and size of its pore (selective) [12]. The utilization of imprinting zeolite (IZ) as an electrometric sensor modifying material for uric acid analysis in serum has been studied [13-14]. This IZ modified sensor shows good performance to uric acid analysis.

EXPERIMENTAL

Materials and Instruments

Chemical used were creatinine monohydrate (Sigma-Aldrich), urea, acetic acid, sodium acetate, sodium dihydrogen phosphate dihydrate, disodium hydrogen phosphate dihydrate, sodium hydroxide trihydrate, nanoporous carbon powder, solid paraffin, tetraethyl orthosilicate (TEOS), tetrabutyl orthotitanate (TBOT), tetrapropyl ammonium hydroxide (TPAH) (Merck). All chemicals were analytical grade. The solvent used was distilled water. The stock solution of creatinine 10^{-1} M was prepared by dissolving 1.3112 g creatinine monohydrate in water and diluted until 100 mL in volumetric flask. Standard solution of 10^{-10} to 10^{-2} M were prepared by diluting appropriate creatinine working solutions, and their pH were adjusted with the addition of acetate or phosphate buffer.

The instruments used in this study were potentiometer *Cyberscan 510*, reference electrode Ag/AgCl (KCl 3M), pH meter Metrohm type 744, FTIR (Shimadzu), N_2 adsorption-desorption/BET (Quantachrome NovaWin version 2.1); X-ray diffractometer (Shimadzu), *hotplate-magnetic stirrer*, and other supporting equipments.

Synthesis and characterization of imprinting zeolite

Zeolite was synthesized by mixing TEOS into TBOT and stirred for 30 minutes at room temperature. TPAH was then added dropwise to the mixture, and stirred for 15 hours, so that the mixture obtained has a mole ratio of TEOS:TiO₂:TPAH:H₂O = 1:0.017:0.24:21.2. The mixture was further heated hydrothermally at 80 °C during 4 days. Non imprinting zeolite (NIZ) was synthesized by adding creatinine to the mixture with a molar ratio of creatinine/Si = 0.0306. Subsequently, the mixture allowed aging for 3 hours [15]. The creatinine was then extracted from the zeolite framework using warm water to produce IZ. The synthesized zeolite (Z), NIZ and IZ were characterized using FTIR and XRD,

Fabrication of carbon paste – IZ electrode

Carbon paste electrode was manufactured by mixing nanoporous carbon powder, imprinting zeolite and paraffin in varied mass ratio. The process was assisted by heating. The investigated electrodes were prepared by inserting a silver (Ag) wire in a micropipette tube filled to its 3/4 by solid paraffin. Furthermore, the remaining part of the tube was filled by a paste made previously.

Optimization of sensor composition and pH of solution

The resulting sensor was used to measure the creatinine standard solution of 10⁻⁸-10⁻¹ M with a varying pH of 4-8. The optimum composition produces sensor is the sensor that produce the widest measurements range and nernstian calibration curve. This optimum composition is used as a basis for making sensor modified zeolite (Z) and non imprinting zeolite (NIZ)

Determination of the measurement range and the Nernst factor

Measurement range was determined by measuring the electrode potential in creatinine solution of a concentration ranging from 10⁻¹⁰ M to 10⁻² M, subsequently made curve relationship between log concentration of creatinine (log [creatinine]) and electrode potential (E). The measurement range referred to the concentration interval where the relation pointed above was linear, while the slope of that line was equal to the Nernst factor value.

Determination of the response time and life time of the electrode

The response time of electrode was determined by the time required to obtain a potential value referring to creatinine presence. The response time of sensor is determined by analyzing concentration of creatinine within the range of measurement. The life time of sensor was studied by analyzing creatinine within the range of measurement by potentiometry using carbon paste –IZ sensor in every week to know the performance of measurement range and the value of the slope of the calibration curve beyond the limits allowed Nernst factor.

Selectivity of the electrode

The selectivity of the electrode, expressed by selectivity coefficient (K_{ij}), was studied through the addition of urea, compound which is always coexist with creatinine in urine or serum sample, on the creatinine solution. Creatinine used was 10⁻⁴ M, while urea was added with concentrations of 10⁻³ M, 5x10⁻³ M, 10⁻² M. The K_{ij} value was calculated by mixed solution method.

RESULT AND DISCUSSION

Synthesis and characterization of zeolite

Precursors used to synthesize zeolite were TBOT and TEOS as titanium and silica sources, respectively, whereas TPAH served as a structure directing agent and alkaline condition. The addition of creatinine the synthesis of IZ and NIZ served as template and a directional pore size of zeolite. Zeolite, NIZ, and IZ were obtained as white powder.

X-ray diffractogram (Fig. 1) showed that diffraction peaks of the synthesized zeolite appear at 2θ of 7.96, 8.88, 23.22, 23.98, and 24.44°. These peaks correspond to the characteristic of zeolite framework [16]. High-spectral intensity in the area is a typical spectra of TS-1 zeolite with MFI structure [17]. A single reflection 2θ around 24.44° indicated a transformation of monoclinic silicalite into orthorhombic zeolite [18-19]. Both Z and IZ exhibited a similar peaks and no reflection peaks of creatinine occurred. These data indicated that creatinine which associated to the zeolite (NIZ) framework has been successfully extracted.

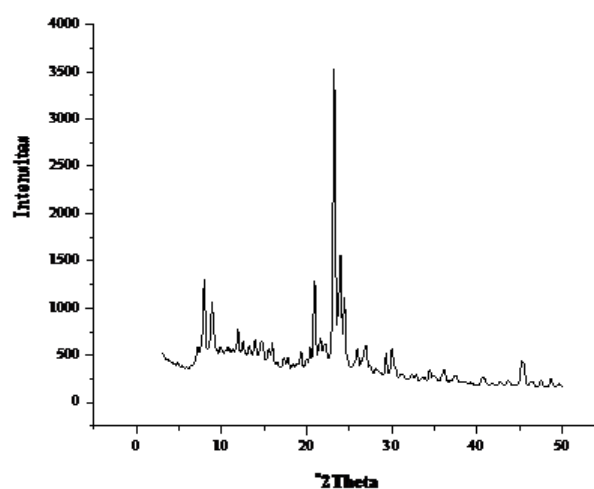


Figure 1. Diffractogram of zeolite

Characterization of zeolite using FTIR spectroscopy (Fig. 2) showed the peak at wave number of 453 cm^{-1} is the bending vibration of Si-O-Si [17], and at 557 cm^{-1} indicates the presence of a five-ring asymmetry of MFI structure of the TS-1 zeolite [20-21].

Peak at 796 , 985 dan 1.099 cm^{-1} which is the typical peak of the zeolite [21]. Peak at 796 cm^{-1} indicates the symmetric stretching of Si-O-Si (17, Qiu *et al.*, 2009), at 985 cm^{-1} indicates the presence of titanium in the zeolite framework (vibrasi ulur Si-O-Ti), whereas peak at 1099 cm^{-1} indicates the presence of stretching asymmetric Si-O-Si. The FTIR spectra of NIZ show both characteristic peaks of zeolite, and characteristic peaks of creatinine at 840 , 1650 , and 3450 cm^{-1} . Two spectra on the 3249 and 3024 cm^{-1} are the spectra of the primary amine-N-H functional group, whereas in the 1666 cm^{-1} indicates the presence of C = O vibrations of creatinine which is a carbonyl group of an amide.

FTIR spectra of non-imprinted zeolite (NIZ) (Fig 1) show that NIZ spectra are not much different from zeolite and IZ. However, at the wave number 3421 cm^{-1} , the peak of the spectra is wider than that of the zeolite. That is because in addition to the OH stretch vibration of NIZ, there is also a NH stretch vibration of creatinine. In addition to the wave number 1629 cm^{-1} show C = O stretch vibration from creatinine. This shows that creatinine has entered the zeolite structure. At the wave numbers 1334 - 1382 cm^{-1} and 1629 cm^{-1} , the peaks appear sharper than zeolites. This is due to the vibration of the functional group of creatinine structure that enters the zeolite structure.

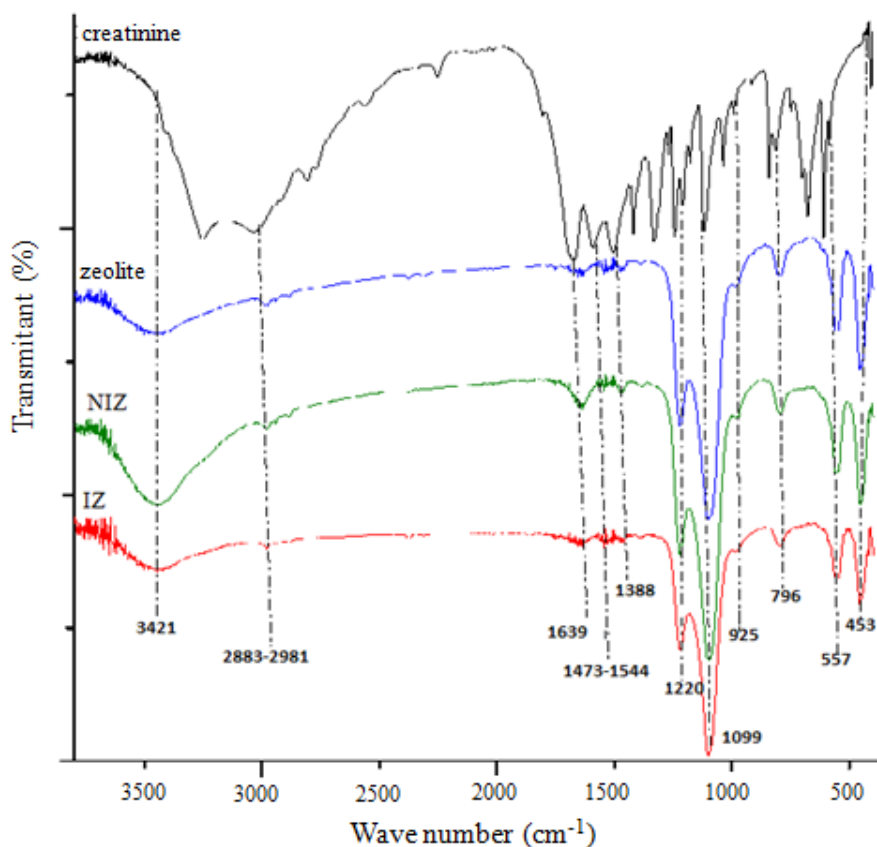


Figure 2. FTIR spectra of creatinine, zeolite, NIZ and IZ

The FTIR spectra of IZ are almost identical to the zeolite spectra. This is due to the creatinine extraction process that has been succeeded in the process of synthesis IZ, so that the peak creatinine has not appeared on IZ spectra. The loss of the creatinine -NH group is indicated by a peak at 3431 cm^{-1} that has not widened yet. In addition to the area of range 1639 cm^{-1} and $1481\text{--}1544\text{ cm}^{-1}$, the peak is not sharp anymore. It can show that creatinine has been successfully extracted. Based on the physisorption analysis employing N_2 adsorption-desorption methods, the synthesized zeolite (Z) possessed a pore diameter of 3.836 nm , while IZ has a pore diameter of 2.186 nm [13].

Optimization of electrode composition

The working electrode of this study was made from a mixture of carbon nanopore, imprinted zeolite (IZ), and paraffin pellets on various compositions. Carbon nanopore is an inert material so it does not react with the analyte. Carbon nanopore also has large surface area, good chemical stability, and high conductivity [11]. The addition of IZ aims to increase the electrode selectivity because IZ has a selective recognition side of the creatinine. The prepared electrodes are then immersed in a 10^{-1} M creatinine solution for 24 hours for conditioning. Thereafter, each electrode was used to measure $10^{-1}\text{--}10^{-10}\text{ M}$ creatinine standard solutions. The electrode potential data is then used to make curve of the log concentration of creatinine with potential. Nernst factor data, measurement range, and linearity of calibration curve can be seen in Table 1.

Table 1 Measurement range, Nernst factor and linearity of calibration curve

Electrode	Carbon:IZ:paraffin (% wt)	Nernst factor (mV/decade)	Measurement range (M)	Linearity (r)
E1	65:0:35	5.3	10^{-4} - 10^{-8}	0.9989
E2	60:5:35	10.5	10^{-5} - 10^{-7}	0.9423
E3	58:7:35	17.0	10^{-3} - 10^{-5}	0.9954
E4	55:10:35	18.9	10^{-6} - 10^{-9}	0.9979
E5	50:15:35	20.7	10^{-4} - 10^{-8}	0.9970
E6	45:20:35	31.1	10^{-3} - 10^{-7}	0.9993
E7	40:25:35	16.5	10^{-6} - 10^{-8}	0.9973
E8	45:20:35(Zeolite)	21.9	10^{-6} - 10^{-9}	0.9989
E9	45:20:35(NIZ)	8.5	10^{-3} - 10^{-5}	0.9988

The good performance of the electrode can be indicated by good linearity and Nernstian factor of calibration curve, as well as a wide range of measurements. Creatinine has two pKa [4,22], so creatinine is a divalent molecule and theoretically has a Nernst factor of 29.5 mV per decade. From the measurement results of some electrode compositions, it can be seen that E6 electrode that has Nernst factor most closely approximates the theoretical Nernst factor, i.e. 31.1 mV/decade, measuring range 10^{-7} - 10^{-3} M with linearity (r) of 0.9993. From the above three parameters, it can be seen that the electrode that works optimum is E6 electrode made from the mass ratio of carbon nanopore: IZ creatinine: paraffin of 45%: 20%: 35%.

In the optimization of the electrode composition, the amount of nanopore and IZ carbon can affect the results on potentiometric measurements. Imprinting zeolite (IZ) serves to selectively recognize the analyte according to the mold. The amount of IZ added in the electrode making can affect the number of analytical recognition sites that increase the electrode selectivity [23]. In this study, the addition of more than 20% of IZ resulted in lower Nernst factor, linearity, and range of measurements. This is probably because the membrane formed becomes most rigid, so the electrode provides a low response.

The carbon paste nanopore modified IZ (E6) electrodes provide better results when compared to bare carbon paste electrodes (E1) or carbon paste modified zeolite (E8) or NIZ (E9) electrode. This is because the electrodes without IZ only contain non-selective carbon nanopore in response to the analyte, while the zeolite-containing electrodes showed unreproducible data due to zeolite does not have a specific mold for the analyte, so another compound is also potentially measurable.

The NIZ modified carbon paste electrodes and zeolite were prepared with the same composition as E6. NIZ-containing electrodes have a low Nernst factor when compared to zeolite-containing electrodes because in NIZ there is still hydrogen-bond creatinine with zeolite, so creatinine in solution can not transfer and equilibrate from solution to the electrode surface. The potential (E) versus log concentration curve of the measurement using E1, E6, E8, and E9 can be seen in Figure 3.

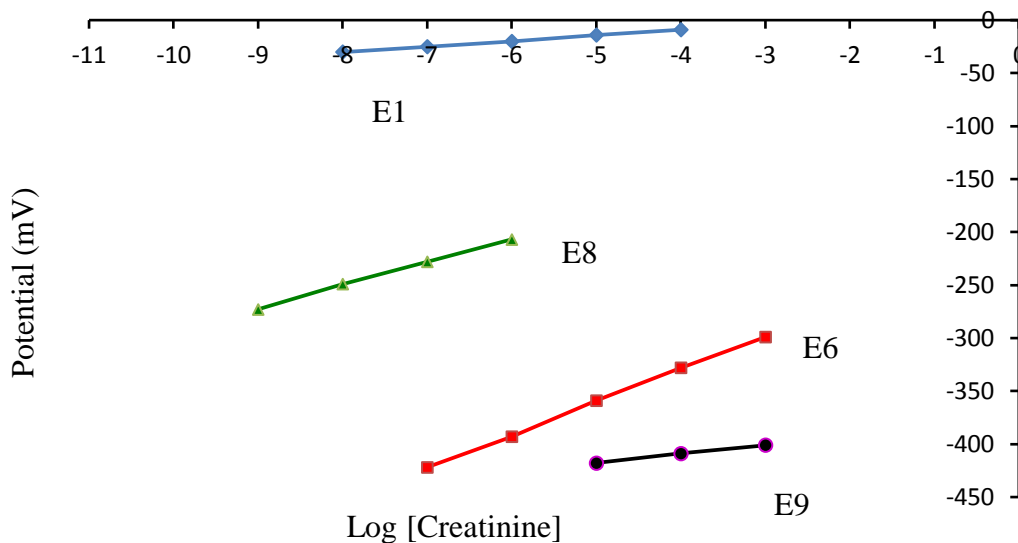


Figure 3 Plot of log [creatinine] versus potential of the electrode

pH optimization

The pH of the analyte solution may affect the measurement results. Optimization of the pH of the solution was carried out in the pH range of 3-8 in order to find out the response of the resulting electrode at acidic, neutral, and alkaline conditions. Based on Figure 4, it can be seen that there is a potential difference as the pH of the solution differs. At pH 5-6, a sharp increase in potential value obtained with a potential difference of 60 mV per decade. This illustrates that at the pH range the electrode serves as a hydrogen ion sensor.

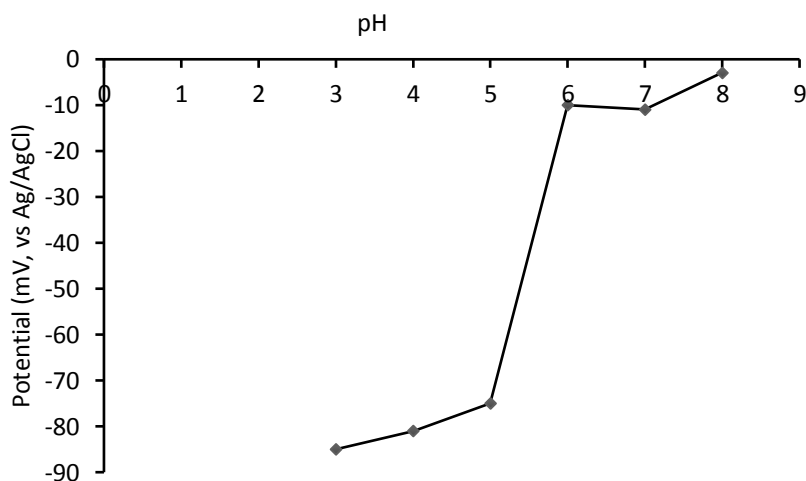


Figure 4 Plot of pH solution and electrode potential

In this study, creatinine concentrations of 10^{-10} - 10^{-1} M had a pH range of 6-8. In Fig 4, it is seen that the electrode potential is relatively stable at both acid and base pH of solution. That's due creatinine has two dissociation constants, $pK_{a1} = 4.8$ and $pK_{a2} = 9.2$. At pH lower than 4.8, creatinine is in cation form, whereas at a pH of about 9.2, creatinine is in the form of anions [22]. This study showed that creatinine is more stable in neutral form that is at pH 6-7, approaching the pH of urine and serum samples

Calibration curve, performance of the electrode and method validity

In this study, the creatinine standard curve was made from the measurement of the electrode potential in 10^{-10} - 10^{-1} M creatinine solution with pH 7 using E6. The creatinine standard curve can be seen in Figure 5. The electrode performance and the validity of the method can be expressed by the response time and the life time of the electrode, the measurement range, Nernst factor, detection limit, precision, accuracy value and the selectivity.

The response time is the time required for the electrode to respond to the analyte in the solution. The response time is measured when the working electrode is inserted into the solution until it reads a stable potential response. The response time obtained from the creatinine measurements using nanopore carbon paste/IZ (E6) electrodes at pH 7 can be seen in Table 2.

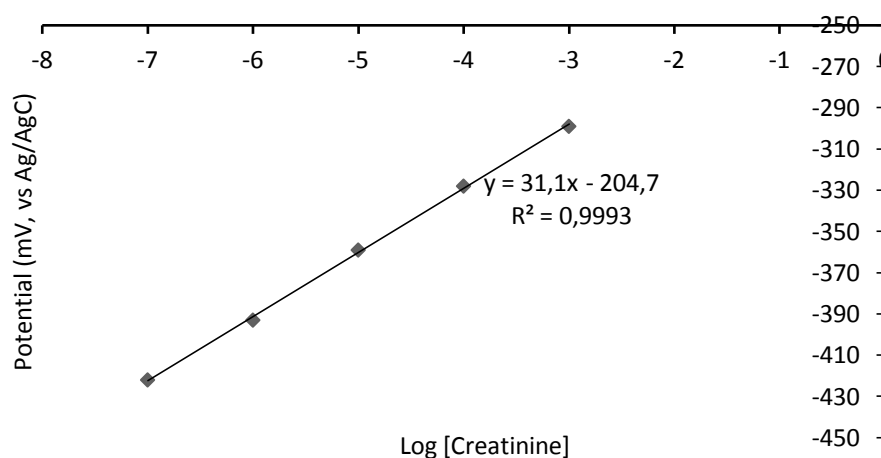


Figure 5 Calibration curve of creatinine

The higher concentration, the shorter time of creatinine to achieve equilibrium on the electrode surface because of the mobility of molecule becomes faster. In this study, the higher the concentration the faster the electrode response time due to the increasing concentration will also increase the number and movement of molecules, so that the molecules more quickly transfer from the solution to the electrode.

Table 2 Response time of the electrode in the creatinine solution

Concentration (M)	Time (sec)
10^{-7}	170
10^{-6}	159
10^{-5}	156
10^{-4}	140
10^{-3}	135

The E6 electrode has a measurement range of 10^{-7} - 10^{-3} M, with a Nernst factor of 31.1 mV / decade and a linearity of 0.9993. The results show that the developed nanopore carbon paste/ IZ electrode has very low detection limits. The results showed that the resulting detection limit of 1.05×10^{-7} M. This value is about 100 times lower than using spectrophotometry method (10^{-5} M) [3] and other previous study [6,7,9,24] With a low detection limit, the analysis of uric acid in a very small amount of serum sample (μ L) can be done.

The validity of the method of analysis in general can also be expressed by its precision value and its accuracy. In this study the precision is expressed by the value of

coefficient of variation (CV). Based on the measuring of creatinine 10^{-7} - 10^{-3} M ($n = 3$) obtained CV range of 0.96% to 2.56%. According to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), an analytical method is said to be good when measuring the concentrations of 10^{-7} - 10^{-3} M yields a coefficient of variation of 5.3% - 21% [25]. The smaller the value of CV, the more reproducible the method used.

One of the major problems on the determination of creatinine is the presence of other compounds which are usually found together with creatinine in serum sample. Selectivity is the ability of electrodes to measure an analyte selectively wherein the analyte coexist with other components in a sample. The electrode selectivity can also be used to describe the performance of an electrode. The selectivity of the electrode can be expressed by the value of the selectivity coefficient (K_{ij}). The estimation of the K_{ij} is required due to the presence of creatinine in the body together with other molecules of functional groups similar to those of creatinine such as urea. In this study, K_{ij} was calculated by the mixed method wherein the creatinine solution (i) of a certain concentration is added to the urea solution (j), electrode potential is then measured. Here, the concentration of creatinine as the main analytes is 10^{-4} M, whereas the concentration of urea as an interfering analyte is 10^{-3} , 5×10^{-3} , and 10^{-2} M. Meanwhile, normal levels of urea in the blood of 6-20 mg/dL (10^{-3} M level) [2].

Theoretically, if the value $K_{ij} = 0$, other molecules do not interfere with the measurement, if the value of $K_{ij} < 1$, the electrode is selective to the main molecule rather than the interfering molecule, whereas if the value of $K_{ij} > 1$ then the electrode is more selective against the interfering molecule than the main molecule [26]. The result of measurement shows that nanopore carbon paste/IZ electrode is more selective to creatinine than urea because it yields K_{ij} value less than 1. Based on the measurement results, the selectivity coefficient (K_{ij}) was shown in Table 3.

Table 3 Selectivity coefficient (K_{ij}) value in the presence of urea

No.	Creatinine concentration (M)	Urea concentration (M)	$K_{i,j}$
1	10^{-4}	1×10^{-3}	0.0925
2	10^{-4}	5×10^{-3}	0.0190
3	10^{-4}	1×10^{-2}	0.0096

Life time of the sensor stated the time of the electrode is still has good performance as a sensor in potentiometric measurement which in study by a good Nernst factor for the measurement range. The result showed that the sensor had a good Nernst factor for 4 weeks with 165 times of measurement. The life time of the electrode depends on the mechanical properties of an electrode material, such as the flexibility of the material, pH, and the solubility of the material. Flexibility of the material causing the analyte is easier to diffuse into the mold. The use of carbon paste-IZ sensor in more acidic and alkaline solution will affect the life time of the sensor, because the zeolite material used is resistant to acidic solution, while carbon is a material that soluble in alkaline. The surface of the electrode becomes uneven and forms a hole due to a number of soluble electrode components [7]. The more soluble, the number of substances that serve as the template will be less, so the selectivity decreases and produces Nernst factor that is not in accordance with the standard curve. Based on the measurement of nanopore carbon paste/ IZ electrode potential each week, the Nernst and linearity factors are shown in Table 4.

Table 4 Life time of the nanoporous carbon paste/IZ electrode

Week	Number of measurement	Measurement range (M)	Nernst factor (mV/decade)	Linearity (r)
1	40	10^{-7} - 10^{-3}	30.5	0.9604
2	85	10^{-7} - 10^{-3}	31.1	0.9930
3	128	10^{-7} - 10^{-3}	29.8	0.9851
4	165	10^{-7} - 10^{-3}	27.1	0.9944
5	177	10^{-7} - 10^{-3}	25.2	0.9769
6	183	10^{-7} - 10^{-3}	9.8	0.7826

Table 4 show that in the 6th week there was a significant decrease in Nernst factor and linearity. This indicates that the potential measurement is inaccurate, so it can be concluded that the electrode is no longer suitable for use.

Electrode discharges were studied by applying electrode for analysis of creatinine in serum samples. Electrode applications for creatinine analysis in serum samples as well as comparison test results with spectrophotometric method along with accuracy values are shown in Table 5.

Table 5 The accuracy of potentiometry toward spectrophotometry method in the measurement of creatinine in serum sample

Number of sample	Concentration (M)		Accuracy (%)
	Potentiometry	Spectrophotometry*)	
1	3.84×10^{-4}	4.51×10^{-4}	85.1
2	4.92×10^{-4}	5.23×10^{-4}	94.1
3	7.10×10^{-4}	7.02×10^{-4}	100.1
4	3.96×10^{-4}	4.51×10^{-4}	87.8
5	4.61×10^{-4}	4.87×10^{-4}	97.1

*) data from clinical laboratory

In this study, accuracy of (93.1±6.6) % was obtained for 5 samples serum, the value better than previous study [27]. According to AOAC, the allowable accuracy values in the measuring 10^{-3} M ranged from 90-107%, to concentrations of 10^{-6} - 10^{-4} M are in the range 80-110% and for concentrations of 10^{-7} M of 60-115% [25].

CONCLUSION

The developed nanoporous carbon paste electrode modified imprinted zeolite showed the wide measurement range, low detection limit and high selectivity to creatinine analysis in the presence of urea. The detection limit indicated that the electrode can be used to early determine kidney disfunction. The developed electrode showed response time of 135–170 s and the life time of 4 weeks (165 times usage) and can be used for the analysis of creatinine in serum sample accurately.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the Ministry of Research, Technology and Higher Education, Indonesia for the financial support of this investigation through Universitas Airlangga RUPU Grant No. **586/UN3/2017** and Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga for the laboratory facilities provided.

REFERENCES

- [1] Guo, M.D. and Guo H.X., 2005. **Voltammetric Behaviour Study of Creatinine at Phosphomolybdic-Polypyrrole Film Modified Electrode**, *J. Electroanal Chem.*, 585: 28-34
- [2] Levey, A.S., Boshch, J.P., Lewis, J.B., Greene, T., Rogers, N., and Roth, D., 1999, **A More Accurate Method to Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: a New Prediction Equation**, *Annals of Internal Medicine*, 130: 461-470
- [3] Quon, H., Grossman, C.E., King, R.L., Putt, M., Donaldson, K., Kricka, L., Finlay, J., Zhu, T., Dimofte, A., Malloy, K., Cengel, K.A., and Busch, T.M., 2010, **Interference with the Jaffé Method for Creatinine Following 5-aminolevulinic acid Administration**, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7: 268-274
- [4] Hassan, S.S.M., Elnemma, E.M., and Mohamed, A.H.K., 2005, **Novel Biomedical Sensors for Flow Injection Potentiometric Determination of Creatinine in Human Serum**, *Electroanalysis*, 17: 2246-2253
- [5] Lakshmi, D., Prasad, B.B., and Sharma, P.S., 2006, **Creatinine Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer-Modified Hanging Mercury Drop Electrode**, *Talanta*, 70: 272-280
- [6] Patel, A.K. Sharma, P.S., Prasad, B.B., 2008, **Development of a Creatinine Sensor Based on a Molecularly Imprinted Polymer-Modified Sol-Gel Film on Graphite Electrode**, *Electroanalysis*, 20 (19): 2102 – 2112
- [7] Elmosallamy, M.A.F., 2006, **New Potentiometric Sensors for Creatinine**, *Anal. Chim. Acta*, 564: 253-257
- [8] Pandey, P.C. and Mishra, A.P., 2004, **Novel Potentiometric Sensing of Creatinine**, *Sens. Actuators B*, 99: 230-235
- [9] Pundir, C.S., Yadav, S., and Kumar, A., 2013, **Creatinine Sensors-Review**, *Trends in Anal. Chem.*, 50: 42-52
- [10] Pyun, S. and Lee, G., 2007, **Synthesis and Characterization of Nanoporous Carbon and Its Electrochemical Application to Electrode Material for Supercapacitors**, *Modern Aspect of Electrochemistry*, No 41, Springer, New York
- [11] Yürüm, Y., Taralp, A., and Veziroglu, T.N., 2009, **Storage of Hydrogen in Nanostructured Carbon Materials-Review**, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34: 3784-3798.
- [12] 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.
- [13] Khasanah, M., Harsini, M., and Widati, A.A., 2013, **Imprinting Zeolite Modified Glassy Carbon as a Voltammetric Sensor for Uric Acid**, *Indo. J. Chem.*, 13 (2): 108-113.
- [14] Khasanah, M., Widati., A.A., and Fitri, S.A., 2016, **Imprinted Zeolite Modified Carbon Paste Electrode as a Potentiometric Sensor for Uric Acid**, *American Institute of Physic Conference Proceedings*, Vol 1718, no.070003
- [15] 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
- [16] Treacy, M. M. J., Higgins, J. B. and von Ballom, R., 2001, *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolite*, 4th edition, Elsevier, Amsterdam.

- [17] Qiu, F., Wang, X., Zhang, X., Liu, H., Liu, S., and Yeung, K.L., 2009, **Preparation and Properties of TS-1 Zeolite and Film Using Sil-1 Nanoparticles as Seeds**, *Chemical Engineering Journal*, 147: 316-322
- [18] P. Mondal, K.K. Hazarika, A. Deka and R. C. Deka, 2008, **Density functional studies on Lewis acidity of alkaline earth metal exchanged Faujasit zeolite**, *Molecular Simulation*, 34, issue 10-15: 1121-1128
- [19] Ke, X., Xu, L., Zeng, C., Zhang, L., and Xu, N., 2007, **Synthesis of Mesoporous TS-1 by Hydrothermal and Steam-Assisted Dry Gel Conversion Techniques with The Aid of Triethanolamine**, *Microporous and Mesoporous Materials*, 106: 68-75
- [20] On, D.T., Lutic, D., and Kaliaguine, S., 2001, **An Example of Mesostructured Zeolitic Material: UL-TS-1**, *Microporous and Mesoporous Materials*, 44-45: 435-444
- [21] Fang, Y. and Hu, H., 2007, **Mesoporous TS-1: Nanocasting Synthesis with CMK-3 as Template and Its Performance in Catalytic Oxidation of Aromatic Thiophene**. *Catal. Commun.*, 8 (5): 817–820
- [22] Gatti, R., Lazzarotto, V., Palo, C.B.D., Cappellin, E., Spinella, P., and Palo, E.F.D., 1999, **A Rapid Urine Creatinine Assay by Capillary Zone Electrophoresis**, *Electrophoresis*: 20: 2917-2921
- [23] Liang, R., Zhang, R., and Qin, W., 2009, **Potentiometric Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer for Determination of Melamine in Milk**, *Sens. Actuators B: Chemical*, 141: 544-550
- [24] Falcó, P.C., Genaro, L.A.T., Lloret, S.M., Gomez, F.B., Cabeza, A.S., and Legua, C.M., 2001, **Creatinine Determination in Urine Samples by Batchwise Kinetic Procedure and Flow Injection Analysis Using the Jaffé Reaction: Chemometric Study**, *Talanta*, 55: 1079-1089
- [25] Taverniers, I., Loose, M.D., and Bockstaele, E.V., 2004, **Trends in Quality in The Analytical Laboratory. II. Analytical Method Validation and Quality Assurance**, *Trends in Analytical Chemistry*, 23: 535-552
- [26] K. Tohda, D. Drago, M. Shibata, Y. Umezawa, 2001, **Studies on Matched Potential Method for Determining Selectivity Coefficients of Ion-Selective Electrode Based on Neutral Ionophores: Experimental and Theoretical Verification**, *Anal. Sci.*, 17: 733-743.
- [27] Khasanah, M., Harsini, M., Widati, A.A., Ibrani, P.M., 2017, **The Influence Of Ascorbic Acid, Creatine, and Creatinine on The Uric Acid Analysis by Potentiometry using A Carbon Paste Modified Imprinting Zeolite Electrode**, *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 52 (6): 1039-1044.

Lampiran 3. Sertifikat keikutsertaan dalam seminar ICICS 2017

Certificate of Participant

This is to Certify That
Miratul Khasanah

Has Successfully Completed the
PRESENTER

at
6th ICICS 2017
South Sumatera

The 6th International Conference of the Indonesian
Chemical Society.
Palembang, October 17-18, 2017

Indonesian Chemical Society
Himpunan Kimia Indonesia
Muhamad N. Martoprawiro, Ph.D
President

Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Prof. Dr. Iskhag Iskandar M.Sc
Dean

Organizing Committee
Hermaryah, Ph.D
Chairman



Lampiran 4. Manuscript yang telah disubmit ke jurnal internasional

Construction and Performance of Creatinine Selective Electrode Based on Carbon Paste-Imprinting Zeolite

Miratul Khasanah^{1*}, Usreg Sri Handajani¹, Alfa Akustia Widati¹, Abdulloh Abdulloh¹, Ria Risty Rindarti¹

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Mulyorejo Kampus C Universitas Airlangga, Surabaya 60115, Indonesia

[*] Corresponding author, miratul-k@fst.unair.ac.id

Abstract

Potentiometric electrodes of creatinine were fabricated using paste carbon-imprinting zeolite electrode. The optimum composition of carbon, imprinting zeolite, and paraffin were found about 45:15:40. The sensitivity of the electrode was found to be 52 mV/decade and the regression coefficient about 0.987. The developed electrode shown fast response time of less than 50 seconds, wide range of measurements (10^{-7} - 10^{-5} M), and low limit detection of 7.9×10^{-8} M. The proposed creatinine selective sensor exposed good reproducibility, accuracy, and long life time. The creatinine selective electrode based carbon paste-imprinting zeolite has potential for analyzing creatinine in clinical analysis.

Key words: creatinine, paste carbon electrode, imprinted zeolite, selective

1. Introduction

Creatinine is a byproduct of muscle metabolism which was excreted through urine. The normal levels of creatinine in blood about 0.6-1.2 mg/dL. A lower than normal concentration of creatinine may indicate the low nutrition of body [1]. A high level of creatinine can be a warning the malfunction of kidney such as glomerulonephritis, tubular necrosis, and low filtration of glomerulus [2].

In the clinical analysis, the concentration of creatinine is commonly determined using Jaffe method through reaction between creatinine and picric acid [3]. This method is not specific because not only creatinine that was detected, but also ketone, glucose, bilirubin, acetoacetic, and cephalosporin [4]. Chromatography was also used to analyze creatinine, but this method requires long time [5]. The other methods such as flow injection-potentiometric [6], modification voltammetry using hanging mercury drop electrode (HMDE)-molecularly imprinted polymer (MIP) [7-8] have been developed. Analysis using voltammetry based on poly(melamine-co-chloranil) modified HMDE exposed high selectivity of creatinine [7]. Unfortunately, this electrode had short life time (can be used only for one times). That preparation process depends on polymer solubility. When the polymer had low solubility, the electrode was difficult to fabricate. Aniline and ammonium peroxodisulphate were used as monomer to modify HMDE-voltammetry. This research resulted high accuracy and sensitivity, but this method resulted low precision.

Potentiometry is one of electrochemical analysis that was determined by different of cell potential of cell between working and reference electrode under zero current. Some researchers have developed potentiometric sensor to analyze creatinine [9-10]. Not all of analytes resulted high signal response because the used electrode had low conductivity.

This research proposed high response and selectivity electrode to analyze creatinine. Imprinted zeolite and activated carbon were modified to construct the potentiometric electrode. Zeolite and carbon were used to increase the conductivity therefore high signal response was obtained.

Zeolite is a crystalline TO_4 (T is tetrahedral unit such as Al, Si, Ti) with channels and framework dimensions. The unique properties of zeolite as a porous material have been employed to be selective pore. The conformity of zeolite pore and target molecule created the specific shape and pore size of zeolite. Our previous research have produced the imprinting zeolite that have selective pore toward uric acid. Titanium silicalite-1 and LTA zeolite have proposed as selective material to modify carbon paste and glassy carbon electrode which generated high selectivity in potentiometric and voltammetry [11-12].

In this work, we studied the optimum composition of carbon and imprinting zeolite in the preparation of electrode. The properties of electrodes were discussed with respect to response time, Nernst factor, limit of detection, range of measurement, selectivity, precision, and accuracy.

2. Experimental

2.1 Materials

Creatinine anhydrous (Sigma Aldrich, 98%), SiO_2 (Ludox, 40%), sodium aluminate (Sigma Aldrich, 50%), glacial acetic acid (Merck, 100%), sodium acetate (Merck, 99%), sodium dihydrogen phosphate dihydrate (Merck, 97%), urea (Merck, 98%), silver nitrate (Merck, 100%), hydrogen phosphate (Merck, 99%), silver wires with 100% of purity, solid paraffin, carbon, and distilled water. All chemicals were used as received without any further purification.

2.2 Instruments

The potentiometric was performed on Cyberscan 510 using reference electrode Ag/AgCl. The spectrum of Fourier transform infrared (FTIR) was recorded on the Shimadzu UV-1800. X-ray diffractogram was obtained from JEOL JDX-3530. The curve of N_2 adsorption-desorption was resulted by Quantachrome Instruments version 2.0.

2.3 Preparation of carbon paste electrode-imprinted zeolite

Firstly, we synthesized zeolite using composition ratio about $4 Na_2O : 1 Al_2O_3 : 1.8 SiO_2 : 270 H_2O$ [13]. Sodium aluminate as alumina source was mixed with water and SiO_2 . The mixture was stirred and annealed at $100^\circ C$. After 45 hours, the obtained mixture was added creatinine with ratio creatinine: Si = 0.0306. The mixture was aged for 3 hours to trap the creatinine into zeolite pores. Moreover, the mixture was filtered using centrifugation with hot water till neutral. The purpose of this step was creatinine leave prints in the zeolite framework. The residue was dried at $80^\circ C$. The resulted powder was called imprinting zeolite.

Carbon paste electrode-imprinted zeolite was prepared using Ag wires as connector between electrode and potentiometry. A $\frac{3}{4}$ part of micropipette tube was filled using melted paraffin. After that, we mixed activated carbon-paraffin-imprinted zeolite, and heated at $50^\circ C$ to result the paste texture. The formed paste was filled into $\frac{1}{4}$ part of tube micropipette.

2.4 Optimization of electrode

To obtain the optimum condition of electrode, we investigated the composition of electrode and pH of creatinine sample. The used composition of electrodes were displayed

in Table 1. The prepared electrodes were used to measure potential of electrode in the 10^{-2} – 10^{-8} M of creatinine solution. The optimum electrode was determined by Nernst factor, linearity and range of concentration which able to analyze by this method. The pH of creatinine solution was measured to study the influence of acidity/basicity towards electrode potential. The pH was varied using buffer solution to observe pH of 4, 5, 6, 7, and 8. The pH that performed constant potential twas determined as optimum pH.

Table 1. The composition of activated carbon, imprinting zeolite, and solid paraffin in the preparation of carbon paste electrode-imprinted zeolite

Electrode	Composition (% weight)		
	Activated Carbon	Imprinted Zeolite	Solid
E1	60	0	40
E2	55	5	40
E3	50	10	40
E4	45	15	40
E5	40	20	40

3. Results and Discussions

3.1 Influence of Electrode Composition and pH on the Potentiometric Response of the Creatinine Selective Electrode

To clarify the structure of zeolite, we characterized the obtained sample using XRD. All the XRD patterns confirmed the structure of zeolite LTA. The diffractogram showed peaks at 2θ 7.14; 10.10; 12.40; 16.04; 21.58; 23.90; 27.02; 29.84; and 34.07° . Peak at 12.40° was the peak was associated cubic structure of zeolite LTA [14].

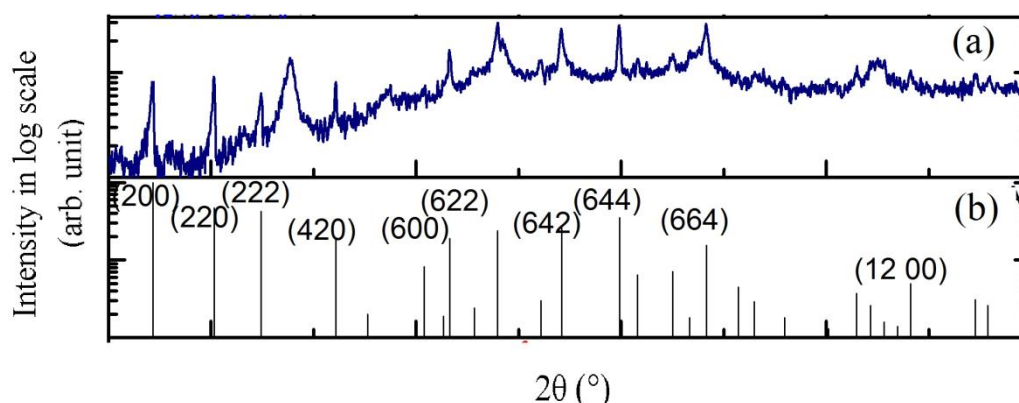


Fig. 1. XRD pattern of (a) prepared and (b) JCPDS of zeolite LTA (01-073-2340)

The working electrodes was prepared from activated carbon, imprinted zeolite, and paraffin. Activated carbon was prepared by activation method using 10^{-1} M of H_3PO_4 . It well known that activated carbon exposed high chemical stability and conductivity. It also had large surface area and pore diameter about $877.463 \text{ m}^2/\text{g}$ and 3.835 nm . Imprinting zeolites was used to increase the selectivity of electrode because they presented selective sites toward creatinine molecules. Paraffin was added to bind the composite of carbon and imprinting zeolite.

The good performance of electrode was determined by linearity, range of concentration, and Nernst factor. Theoretically, creatinine as monovalent molecule has Nernst factor about 59 mv/decade . The electrodes resulted Nernst factor was lower than theoretical value, were $4.6\text{-}8.5 \text{ mv/decade}$. The obtained linearity also exposed lower than 1, were about $0.49\text{-}0.71$.

To increase the sensitivity of method, KCl was added in the solution. KCl is ionic compound could be ionized in water and improve the conductivity of solution. After this addition, the Nernst factor and linearity were increased that can be seen in Figure 2. Based on the obtained results, E4 displayed highest Nernst factor and linearity. For the further study, E4 was used as electrode.

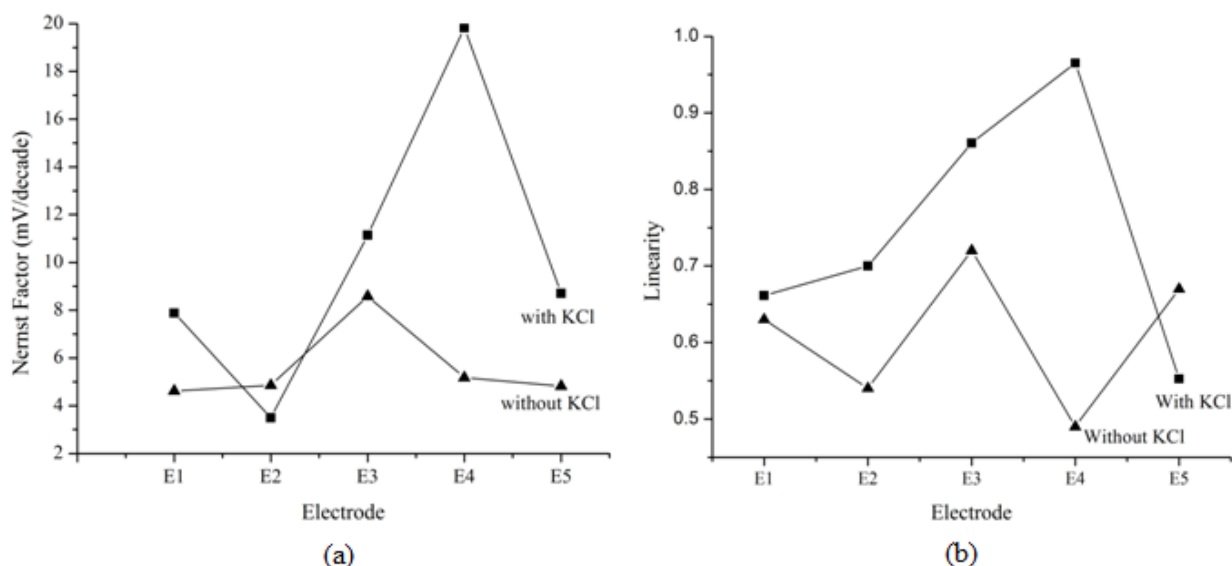


Fig 2. The function of (a) Nernst factor and (b) linearity toward composition variation of electrode

The concentration of imprinting zeolite influenced the amount of active site of electrode. E4 with the composition of carbon : imprinting zeolite : paraffin = 45 : 15 : 40 was optimum electrode to analyze creatinine by potentiometry method. While E5 that contained higher of imprinting zeolite was used as electrode, resulted the low Nernst factor and linearity. It probably might due to the forming of rigid membrane therefore electrode shown low response toward analyte.

To evaluate the influence of creatinine template toward performances of electrode, we compared the working performance between E1 (without imprinting zeolite), E4, carbon paste-zeolite (EZ), and carbon paste-non imprinting zeolite electrodes (E-NIZ). E4 exhibited good linearity and Nernst factor than EZ and non E-NIZ. It due to EZ did not have selective template toward creatinine. E-NIZ also presented low performance because creatinine still trapped into zeolite framework, therefore the electrons did not effectively move from solution to electrode. The comparison performances of those electrodes was displayed in Figure 3.

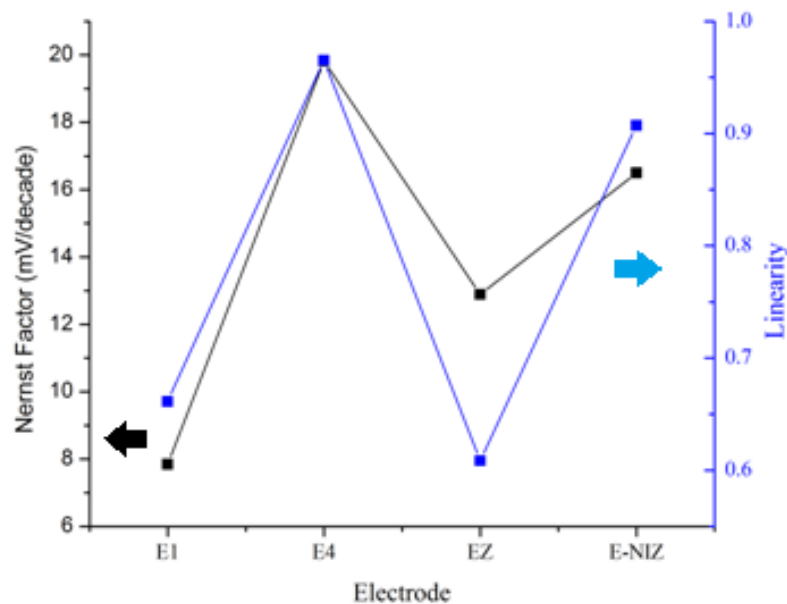


Fig 3. The Nernst factor and linearity of E1, E4, EZ, and E-NIZ electrodes

The behavior electrode to sense H^+ was also investigated. The optimum electrode was measured in solution with variation of pH (4,5,6,7, and 8). In this measurements, only pH of 7 that resulted Nernst factor about 58. It can be conclude that the measured form of uric acid was neutral molecule. Based on value of electrode potential, pH of 7 also exposed constant potential than others. Creatinine have two dissociation constant ($pK_{a1} = 4.8$ and $pK_{a2} = 9.2$). The structure of creatinine is cationic at pH below 4.8, and anionic at pH above 9.

3.2 Calibration graph of creatinine

Standard curve of creatinine was prepared from the potential measurement of $10^{-8} - 10^{-4}$ M in pH 7 using E4 electrode. From the data, we created the correlation curve of creatinine concentration and potential. Linier line of curve was determined as calibration graph. The calibration graph and correlation curve of concentration and potential was shown in Figure 5. The log creatinine concentration -5 to -7 displayed regression $y = 52x + 752.3$, with $R^2 = 0.987$. From this equation, the obtained Nernst factor was 52 which closed with theoretical Nernst factor. In other words, a linier concentration range of prepared electrode was $10^{-7} - 10^{-5}$ M, with low detection limit of 7.9×10^{-8} M. While the detection limit of the commonly used method to analyze creatinine in the medical field (spectrophotometric method) is in the level 10^{-5} M [15].

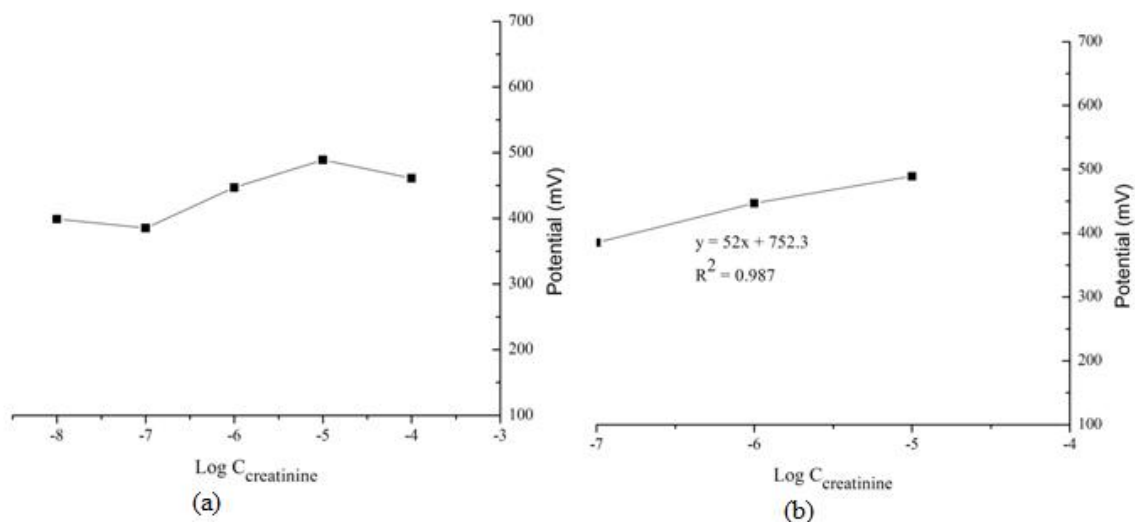


Fig 4. (a) The correlation of Log $C_{\text{creatinine}}$ toward potential (b) the calibration graph of creatinine selective electrode from 10^{-7} - 10^{-5} M of creatinine solution

3.3. Performances of creatinine selective electrode based on carbon paste electrode-imprinting zeolite.

In this research, response time, reproducibility, accuracy, selectivity, and life time of electrode were investigated. The response time of electrode described as the time that was needed electrode to detect the analyte. It counted from the immersion electrode into solution till observed the stable potential [16]. The time of response was faster with increasing of creatinine concentration. In the higher concentration, molecule move faster from solution to electrode. Table 2 was displayed the response time of electrode in variation of creatinine concentration.

Table 2. The response time of electrode for 10^{-7} - 10^{-5} M creatinine concentrations

Concentration (M)	Response Time (seconds)
10^{-7}	47
10^{-6}	38
10^{-5}	29

The reproducibility was conducted by measurement of three creatinine solution under same conditions. The concentration of creatinine solution was 10^{-7} - 10^{-5} M. It was observed that the proposed electrode demonstrated high responsibility with less than 2.56%. Based on the Association of Official Analytical Chemists, the proposed electrode have completed the statistical acceptable for the concentration 10^{-7} till 10^{-5} M is 7.3-15 %. The comparative test of potentiometry using the developed electrode with spectrophotometric methods for determining of five serum samples produces accuracy as shown in Table 3.

Tabel 3 Accuracy of the potentiometry compared by spectrophotometry method

Number of sample	Concentration (M)		Accuracy (%)
	Potentiometry	Spectrophotometry*)	
1	3.74×10^{-4}	4.66×10^{-4}	80.3
2	4.77×10^{-4}	5.05×10^{-4}	94.5
3	7.07×10^{-4}	7.04×10^{-4}	100.4
4	3.91×10^{-4}	4.55×10^{-4}	85.9
5	4.52×10^{-4}	4.97×10^{-4}	90.9

*) data from clinical laboratory

The developed electrode showed accuracy of 80.3-100.4%, while accuracy value that statistically acceptable for the level 10^{-7} – 10^{-5} M is 80-120% [17]. According to the method validity, the developed carbon paste modified imprinting zeolite electrode can be used as an alternative sensor on the creatinine analysis in the medical field.

Selectivity is the main parameter to examine the performance of prepared electrode. The coefficient of selectivity was investigated to study the selectivity of electrode in creatinine solution which also consisted urea. The calculated selectivity coefficient values were given in the Table 4. It can be seen that carbon paste-imprinting zeolite electrode exposed highly selective toward creatinine than urea because the $K_{ij} < 1$. The electrode lifetime was tested to investigate the stability of electrode after used in several times. The electrodes demonstrated long lifetime about 160 times of usage.

Table 3. The selectivity coefficient of creatinine selective electrode

Matrix	Concentration (M)	K _{ij}
Urea	10 ⁻⁶	0.085
	10 ⁻⁵	0.126
	10 ⁻⁴	0.106

The life time of the electrode is investigated since the electrode is used and performs well until showed a significant decrease in performance. The parameter used to see the decline in electrode performance is the Nernst factor value and the measurement range.

Table 4. Value of Nernt factor and measurement range generated on the electrode usage

Electrode usage (times)	Measurement range (M)	Nernst factor (mV/decade)
16	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	5.18
40	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	9.82
110	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	8.03
124	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	25.32
138	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	27.68
150	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	52.81
160	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	60.50
180	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	30.75

4. Conclusions

Selective creatinine electrodes demonstrated high repeatability in the range of 10⁻⁷ – 10⁻⁵ M. The lifetime of 160 times usage indicated the electrodes adequate for routine analysis in the medical sample. The developed electrode had detection limit much lower than the spectrophotometric method, so potentiometric method using the developed electrode was potentially used to control of creatinine levels. The proposed electrode showed an accuracy of 80.3%-100.4% (n=5). It can be concluded that the method can be applied to determine uric acid in urine or a serum sample.

Acknowledgements

The authors thank the Ministry of Research, Technology and Higher Education, Indonesia for the financial support of this investigation through Universitas Airlangga RUPT Grant No. 597/UN3.14/LT/2017 and Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga for the laboratory facilities provided.

References

- [1] Tietze, K.J, (2003). *Clinical skills for pharmacists a patient-focused approach*, Missouri: Mosby, Inc.
- [2] Stevens, L.A . & Levey, S.A. (2004). Clinical Implications of Estimating Equations for Glomerular Filtration Rate . *Ann. Intern. Med.*, 141, 12, 959-961.
- [3] Quon, H., Grossman, C.E., King, R.L., Putt, M., Donaldson, K., Kricka, L., Finlay, J., Zhu, A.D., Malloy, K., Cengel, K.A., and & Busch, T.M. (2010). Interference with the Jaffé method for creatinine following 5-aminolevulinic acid administration. *Photodiagnosis Photodyn. Ther*, 7, 268-274.

- [4] Gencheva, I.I., & Ruseva, A.L. (2015). Effects Of Glucose And Bilirubin On The Kinetic Jaffe's And The Enzymatic Methods For Serum Creatinine Assay. *J. Biomed. Clin. Res.*, 8, 1, 35-39.
- [5] Sewell, A.C., Murphy, H.C., & Iies, R.A. (2002), Use of Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Detection and Study of Organic Acidurias. *Clin. Chem.*, 48, 357-359.
- [6] Hassan, S.S.M., Elnemma, E.M., & Mohamed, A.H.K. (2005). Novel Biomedical Sensors for Flow Injection Potentiometric Determination of Creatinine in Human Serum, *Electroanal.*, 17, 2246-2253.
- [7] Lakshmi, D., Prasad, B.B., & Sharma, P.S., Creatinine Sensor Based On Molecularly Imprinted Polymer-Modified Hanging Mercury Drop Electrode, *Talanta*, **2006**, 70, 272-280.
- [8] Prasad, B.B., Tiwari, K., Singh, M., Sharma, P.S., Patel, A.K., & Srivastava, S., (2008). Molecularly imprinted polymer-based solid-phase microextraction fiber coupled with molecularly imprinted polymer-based sensor for ultratrace analysis of ascorbic acid, *J. Chromatogr. A.*, 1198-1199
- [9] Pandey, P.C., & Novel, A.P. (2004), Novel potentiometric sensing of creatinine, *Sensors Actuat. B-Chem.*, 99, 2-3, 230-235.
- [10] Pundir, C.S., Yadav, S., & Kumar, A. (2013), Creatinine Sensors, *Trends Anal. Chem.*, 50, 42-52.
- [11] Khasanah, M., Harsini, M., & Widati, A.A. (2013), Imprinting Zeolite Modified Glassy Carbon as A Voltammetric Sensor For Uric Acid, *Indones. J. Chem.*, **2013**, 13, 2, 108-113.
- [12] Khasanah, M., Widati, A.A., & Fitri, S.A. (2016), Imprinted zeolite modified carbon paste electrode as a potentiometric sensor for uric acid, *AIP Conf. Proceed.*, 1718, 1, 07003.
- [13] Malldotti, A., Andrenalli, L., Mollinari, A., Varani, G., Cerichelli, G., & Chiarini, M., (2000), Photocatalytic properties of Iron-Phorpyrin revisited in aqueous micellar environment, *Green. Chem.*, 3, 42-46.
- [14] Treacy, M.M.J., & Higgins, J.B., (2001) *Collection of Simulated XRD Powder Pattern for Zeolites*, Published on behalf of the Structure Commission of the International Zeolite Association.
- [15] Walsh, D.A. & Dempsey, E., (2002), Comparison of electrochemical, electrophoretic and spectrophotometric methods for creatinine determination in biological fluids, *Anal. Chim. Acta*, 459, 2, 187-198.
- [16] Elmosallamy, M.A.F., (2006). New potentiometric sensors for creatinine, *Anal. Chim. Acta*, 564, 253-257 .
- [17] Taverniers, I., Loose, M.D., & Bockstaele, E.V., (2004), Trends in quality in the analytical laboratory, *Trends Anal. Chem.*, 2, 535-552.

Lampiran 5. Bukti submit artikel ilmiah ke jurnal internasional

30/10/2017

Fwd: Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education - miratulkhasanah@gmail.com - Gmail

Gmail 91 c

Kotak Masuk x

Lainnya

Fwd: Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education

alfa akustia widati <alfaakustia@fst.unair.ac.id>
ke saya

----- Forwarded message -----
From: "alfa akustia widati" <alfaakustia@fst.unair.ac.id>
Date: 22 Sep 2017 13:17
Subject: Fwd: Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education
To: "miratul khasanah" <miratul-k@fst.unair.ac.id>
Cc:

----- Forwarded message -----
From: "Borislav Toshev" <Toshev@chem.uni-sofia.bg>
Date: 22 Sep 2017 12:31
Subject: Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education
To: "alfa akustia widati" <alfaakustia@fst.unair.ac.id>
Cc:

76/22.09.2017

Dear Authors,

Your manuscript " Construction and Performance of Creatinine Selective Electrode Based on Carbon Paste Imprinting " two anonymous and independent referees for a peer review.

Sincerely yours,

B. V. Toshev
=====

Professor B.V. Toshev
University of Sofia

Kotak Masuk (29)
Berbintang
Penting
Email Terkini
Draf (12)
Perjalanan
Pribadi
Selengkapnya

<https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/15eac07e9ccfa912>

1/1