

**SENSOR POTENSIOMETRI BERBASIS KARBON
NANOPORI/*MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER*
UNTUK PENENTUAN UREA**

SKRIPSI



HIKMATUL FITRIYAH MAULIDAH

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2012

**SENSOR POTENSIOMETRI BERBASIS KARBON
NANOPORI/MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER
UNTUK PENENTUAN UREA**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga**

Oleh :

HIKMATUL FITRIYAH MAULIDAH

NIM. 080810140

Tanggal Lulus :

Disetujui Oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Muji Harsini, M.Si.

NIP. 19640502 198903 2 002

Dr. Ir. Suyanto, M.Si.

NIP. 19520217 198203 1 001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Sensor Potensiometri Berbasis Karbon Nanopori/
Molecularly Imprinted Polymer untuk Penentuan
Urea
Penyusun : Hikmatul Fitriyah Maulidah
Nomor Induk : 080810140
Pembimbing I : Dr. Muji Harsini, M.Si
Pembimbing II : Dr. Ir. Suyanto, M.Si
Tanggal Ujian : 7 Agustus 2012

Disetujui Oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Muji Harsini, M.Si.

NIP. 19640502 198903 2 002

Dr. Ir. Suyanto, M.Si.

NIP. 19520217 198203 1 001

Mengetahui :

Ketua Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA.

NIP. 19671115 199102 2 001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, nikmat, kekuatan, dan kesabaran yang selalu diberikan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “***Sensor Potensiometri Berbasis Karbon Nanopori/Molecularly Imprinted Polymer untuk Penentuan Urea***” dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang memberikan bantuan dan dukungan terutama kepada :

1. Kedua orang tua (Abah H. Abdul Hamid dan Ibu Husnul Khotimah), kakak, dan seluruh keluarga besar yang telah memberikan kasih sayang, kepercayaan, semangat, do'a, dan dukungan moral maupun materi.
2. Kementrian Agama RI, khususnya Direktorat Pendidikan Diniyah dan Pondok Pesantren (PDPontren RI) yang telah memberikan dukungan material maupun non material selama masa pendidikan.
3. Dr. Muji Harsini, M.Si dan Dr. Ir. Suyanto, M.Si selaku pembimbing yang meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan dalam penulisan skripsi ini.
4. Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA selaku ketua Departemen Kimia yang banyak memberikan informasi dalam penulisan skripsi ini.
5. Dra. Usreg Sri Handajani, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan semangat dalam menempuh perkuliahan.
6. Pak Gimam dan mas Roch Adi yang telah membantu dalam pengerjaan skripsi ini.
7. Seluruh dosen di Departemen Kimia yang telah memberikan bekal ilmu selama masa perkuliahan.
8. Prof. Ris. Gustan Pari, M.Si dari Puslitbang hasil hutan, Bogor, yang telah membantu dalam penyediaan bahan penelitian khususnya karbon nanopori dan sebagian bahan kimia.
9. RSI Mabarrot, Gresik, yang telah menyediakan sampel serum darah untuk penelitian ini.

10. Mas Aan Subekti yang selalu setia menemani dan memberikan semangat serta do'a hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman kelompok potensiometri, Asri Zulchana Sari, Ayu Tiranny dan Ayya Puspitasari yang setiap hari saling memberi dukungan dan semangat serta do'a untuk penyusunan skripsi ini.
12. Seluruh teman-teman kimia angkatan 2008 yang sudah saling mendukung dan mendo'akan dalam penyusunan skripsi ini, khususnya Ayu, Ike, Aisy, Adelia, Fida, Mela, Culan. Terima kasih juga telah memberikan kebaikan dan mengukir kenangan selama 4 tahun kebersamaan kita.
13. Teman-teman COC (Afiyan Kristiono, Luluatul Hamidatu Ulya, dan Nur Rohishoh) dan seluruh teman-teman CSS MoRa UNAIR '08 yang selalu memberikan semangat dan dukungan mulai awal perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini.
14. Semua pihak yang tentunya tidak disebutkan satu per satu. Terima kasih atas semua bantuannya.

Penulis menyadari dan memahami bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat diharapkan demi perbaikan penulisan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Juli 2012

Hikmatul Fitriyah Maulidah

Maulidah, Hikmatul Fitriyah. 2012. Sensor Potensiometri Berbasis Karbon Nanopori/*Molecularly Imprinted Polymer* untuk Penentuan Urea. Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Muji Harsini, M.Si. dan Dr. Ir. Suyanto, M.Si. Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Urea merupakan hasil akhir dari metabolisme protein. Pengontrolan urea dalam tubuh menjadi hal yang penting untuk mendiagnosis penyakit akibat kadar urea yang tinggi seperti gagal ginjal dan uremia. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk analisis urea adalah potensiometri. Pada penelitian ini dibuat elektroda sebagai sensor potensiometri berbasis karbon nanopori/*molecularly imprinted polymer* (MIP) dan dilakukan karakterisasi untuk menentukan validasi metode. MIP dibuat dengan mereaksikan asam metakrilat, etilen glikol dimetakrilat, benzoil peroksida, dan urea. Elektroda optimum yang dihasilkan dibuat dengan mencampurkan karbon nanopori, MIP, dan parafin dengan perbandingan 45:20:35. Dari hasil penelitian diperoleh pH optimum larutan urea yaitu 7-8, faktor Nernst sebesar 35,46 mV/dekade dengan jangkauan pengukuran 10^{-8} M- 10^{-2} M dan faktor korelasi sebesar 0,998. Konsentrasi terkecil urea yang masih dapat terukur oleh elektroda yaitu 2×10^{-8} M. Elektroda ini mempunyai koefisien variasi sebesar 1,095% untuk konsentrasi 10^{-4} M dan 0,412% untuk konsentrasi 10^{-2} M, sedangkan % *recovery* sebesar 95,3% untuk konsentrasi 10^{-4} M dan 84% untuk konsentrasi 10^{-2} M. Diperoleh pula koefisien selektivitas dari molekul asam urat dan kreatinin masing-masing sebesar 3×10^{-7} dan $4,45 \times 10^{-8}$.

Kata kunci : Urea, *molecularly imprinted polymer* (MIP), potensiometri, karbon nanopori

Maulidah, Hikmatul Fitriyah. 2012. Potentiometric Sensor Based on Nanoporous Carbon/Molecularly Imprinted Polymer to Determine of Urea. Final project was under guidance of Dr. Muji Harsini, M.Si. and Dr. Ir. Suyanto, M.Si. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya

ABSTRACT

Urea is the product of protein metabolism. Controlling urea in the human body become very important to diagnose diseases caused by high level of urea such as renal failure and uremia. One of method that can be used for analysis urea is the potentiometric. In this study was made an electrode as sensor potentiometry based on nanoporous carbon/Molecularly Imprinted Polymer and performed characterization of electrode to determine the validation method. MIP was synthesized by reacting methacrylic acid, ethylene glycol dimetacrylate (EGDMA), benzoyl peroxide, and urea. The electrode was resulting made by mixing nanoporous carbon, MIP, and paraffin in the ratio 45:20:35. Result of the study was obtained that optimum pH of urea solutions is 7-8, the Nernst's factor is 35,46 mV/decade with the range of measurement is 10^{-8} M- 10^{-2} M, and correlation factor (r) 0,998. Limit of detection that can still be measured by the electrode is 2×10^{-8} M. This electrode has coefficient of variation 1,095% for concentration 10^{-4} M and 0,412% for concentration 10^{-2} M, while % recovery are 95,3% for concentration 10^{-4} M and 84% for concentration 10^{-2} M. Coefficient of selectivity are obtained from uric acid and creatinine molecules each of 3×10^{-7} and $4,45 \times 10^{-8}$.

Keywords : *Urea, molecularly imprinted polymer (MIP), potentiometry, nanoporous carbon*

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Urea dalam Tubuh	6
2.2 Polimer	8
2.3 Poli(asam)metakrilat	9
2.4 <i>Molecularly Imprinted Polymer</i> (MIP)	9
2.5 Potensiometri	11
2.5.1 Tinjauan umum potensiometri	11
2.5.2 Elektroda	13
2.5.2.1 Elektroda kerja	13
2.5.2.2 Elektroda pembanding	13
2.6 Elektroda Selektif Molekul (ESM)	14
2.7 Kinerja Elektroda	15
2.7.1 Faktor Nernst	15
2.7.2 Batas deteksi	16
2.7.3 Jangkauan pengukuran	17
2.7.4 Akurasi dan presisi	17
2.7.5 Koefisien selektivitas	17
2.8 Karbon Nanopori	19
2.9 Spektroskopi FTIR	19
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	21
3.2.1 Bahan penelitian	21
3.2.2 Alat penelitian	21

3.3	Prosedur Penelitian.....	22
3.3.1	Diagram alir penelitian	22
3.3.2	Pembuatan larutan induk urea $10^{-1}M$	23
3.3.3	Pembuatan larutan kerja penelitian 10^{-2} - $10^{-10}M$	23
3.3.4	Pembuatan larutan buffer	23
3.3.4.1	Pembuatan larutan asam asetat 0,2M	23
3.3.4.2	Pembuatan larutan natrium asetat trihidrat 0,2M.....	23
3.3.4.3	Pembuatan larutan buffer asetat	24
3.3.4.4	Pembuatan larutan kalium hidrogenfosfat trihidrat 0,2M.....	25
3.3.4.5	Pembuatan larutan kalium dihidrogenfosfat 0,2M.	25
3.3.4.6	Pembuatan larutan buffer fosfat	25
3.3.5	Pembuatan larutan molekul pengganggu	26
3.3.5.1	Pembuatan larutan asam urat $10^{-2} M$	26
3.3.5.2	Pembuatan larutan kreatinin $10^{-2} M$	26
3.3.6	Pencucian karbon nanopori dengan asam nitrat.....	27
3.3.6.1	Pembuatan larutan asam nitrat 1 M.....	27
3.3.6.2	Pencucian karbon nanopori	27
3.3.7	Pembuatan <i>molecularly imprinted polymer</i> (MIP)	27
3.3.8	Pembuatan polimer kontrol	28
3.3.9	Karakterisasi MIP dan polimer kontrol.....	28
3.3.10	Pembuatan elektroda pasta karbon nanopori/MIP	29
3.3.11	Optimasi elektroda	30
3.3.11.1	Optimasi komposisi elektroda.....	30
3.3.11.2	Optimasi pH larutan	31
3.3.12	Pembuatan kurva standar urea	31
3.3.13	Penentuan parameter validasi.....	31
3.3.13.1	Penentuan batas deteksi.....	31
3.3.13.2	Faktor Nernst dan linieritas.....	32
3.3.13.3	Penentuan koefisien variasi (presisi).....	33
3.3.13.4	Penentuan persen <i>recovery</i> (%R).....	33
3.3.13.5	Jangkauan pengukuran	34
3.3.13.6	Penentuan koefisien selektivitas.....	35
3.3.14	Penentuan sampel.....	35

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Pembuatan MIP	36
4.2	Hasil Pembuatan Polimer Kontrol	40
4.3	Karakterisasi MIP dan Polimer Kontrol	42
4.4	Optimasi Elektroda	46
4.4.1	Optimasi komposisi elektroda.....	46
4.4.2	Optimasi pH	51
4.5	Kurva Kalibrasi Urea.....	52
4.6	Uji Kinerja Elektroda	53
4.6.1	Jangkauan pengukuran	53

4.6.2 Batas deteksi.....	54
4.6.3 Akurasi	54
4.6.4 Presisi (ketelitian).....	55
4.6.5 Selektivitas	56
4.7 Analisis Urea dalam Serum Darah	57
4.8 Mekanisme Timbulnya Potensial.....	58

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran.....	59

DAFTAR PUSTAKA	61
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Keuntungan dan kerugian pencetakan (<i>imprinting</i>) kovalen dan non kovalen	11
3.1	Komposisi volume CH_3COOH 0,2M dan CH_3COONa 0,2M pada pembuatan buffer asetat	24
3.2	Komposisi volume K_2HPO_4 0,2M dan KH_2PO_4 0,2M pada pembuatan buffer fosfat	25
3.3	Komposisi pasta karbon nanopori/MIP	30
4.1	Perbandingan hasil karakterisasi asam metakrilat, MIP, dan polimer kontrol	44
4.2	Pengaruh komposisi karbon nanopori dan MIP terhadap potensial urea	47
4.3	Data pengukuran larutan urea menggunakan elektroda E6 pada pH 7	53
4.4	Jangkauan pengukuran untuk elektroda E5, E6, dan E7	54
4.5	Akurasi pengukuran	55
4.6	Koefisien variasi pengukuran	56
4.7	Harga koefisien selektivitas	57

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.1	Struktur urea	6
2.2	Siklus urea	7
2.3	Reaksi polimerisasi asam metakrilat	9
2.4	Tahap pembentukan MIP	10
2.5	Kurva penentuan batas deteksi	16
2.6	Contoh hasil karakterisasi FTIR	20
3.1	Konstruksi elektroda pasta karbon nanopori/MIP	30
4.1	Reaksi pembentukan senyawa radikal benzoil peroksida	36
4.2	Prakiraan reaksi antara urea dan asam metakrilat	37
4.3	Prakiraan polimeri asam metakrilat dengan adanya urea	38
4.4	Hasil sintesis MIP urea	39
4.5	MIP yang telah diekstraksi	40
4.6	Tahap polimerisasi asam metakrilat	41
4.7	Hasil sintesis polimer kontrol	42
4.8	Spektrum FTIR polimer kontrol	43
4.9	Spektrum FTIR MIP yang megikat urea dan MIP yang telah diekstraksi	45
4.10	Grafik potensial elektroda dengan berbagai variasi komposisi	48
4.11	Perbandingan respon potensial elektroda dengan polimer kontrol dan elektroda dengan MIP	50
4.12	Pengaruh pH terhadap potensial larutan urea	51
4.13	Kurva kalibrasi	53
4.14	Kesetimbangan di dalam elektroda	58

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Pembuatan larutan induk dan larutan kerja urea
2	Perhitungan faktor Nernst, persamaan regresi dan faktor korelasi masing-masing elektroda
3	Data dan grafik dari masing-masing elektroda
4	Data optimasi pH
5	Analisis jangkauan pengukuran
6	Analisis batas deteksi
7	Analisis akurasi pengukuran
8	Koefisien variasi dari pengukuran
9	Perhitungan pembuatan larutan molekul pengganggu
10	Analisis koefisien selektivitas
11	Analisis perhitungan kadar urea dalam sampel
12	Spektra IR dari asam metakrilat dan urea
13	Spesifikasi karbon nanopori

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Dalam tubuh makhluk hidup, urea merupakan hasil akhir dari metabolisme protein dan terutama disintesis di hati (Rubenstein, 2007). Dalam dunia kesehatan, urea menjadi bagian dari analisis rutin karena urea merupakan zat penting untuk diagnosis penyakit hati dan ginjal. Konsentrasi urea umumnya dinyatakan sebagai kandungan nitrogen molekul, yaitu nitrogen urea darah (*blood urea nitrogen*, BUN). Batas normal urea dalam darah yaitu 6-20 mg/dL (Deglin, 2004).

Pada suatu keadaan dapat terjadi dimana produksi urea menjadi sangat berlebih. Akibatnya kadar urea dalam darah menjadi tinggi yang disebut uremia. Uremia menyebabkan anoreksia dan gangguan yang kompleks dalam metabolisme protein (Davey, 2005). Kadar urea yang berlebihan dapat mengganggu proses kerja ginjal, atau dalam istilah kedokteran dikenal dengan istilah “gagal ginjal” (Khairi, 2003).

Penentuan kadar urea telah banyak dilakukan antara lain dengan menggunakan metode spektrofotometri. Penentuan dengan metode ini didasarkan pada pembentukan senyawa kompleks berwarna kuning yang berasal dari reaksi antara urea dengan diasetilmonoksim, yang selanjutnya diukur nilai absorbansinya. Metode ini cukup teliti, akan tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama dan bahan kimia yang sulit didapat. Selain metode spektrofotometri, para ahli kimia juga telah mencoba beberapa metode sederhana untuk penentuan

urea yaitu dengan metode potensiometri menggunakan elektroda selektif molekul (ESM). Metode ESM yang dikembangkan untuk penentuan kadar urea adalah dengan menggunakan biosensor urea berbasis enzim (Khopkar, 1990).

Khairi (2005) telah mengembangkan biosensor urea berbasis membran kitosan sebagai matriks immobilisasi urease pada elektroda pH secara potensiometri. Dari penelitian tersebut diperoleh faktor Nernst sebesar 17,26 mV/dekade. Panpae *et al.* (2006) mengembangkan biosensor potensiometri urea dengan menggunakan gelatin sebagai matriks amobilisasi. Biosensor ini memiliki batas deteksi sekitar 5 mg/dL dan stabilitas praktis selama 50 hari.

Nazaruddin (2007) juga telah mengembangkan biosensor urea dengan menggunakan biopolimer khitin sebagai matriks amobilisasi enzim urease pada elektroda pH. Biosensor ini memiliki sensitivitas 19,11 mV/dekade, trayek pengukuran 10^{-8} – 10^{-4} M, batas deteksi 10^{-8} M, dan waktu respon 3,10–6,02 menit. Biosensor merupakan suatu sensor kimia yang mempunyai sensitifitas dan selektivitas yang tinggi, namun stabilitas dan waktu hidupnya (*life-time*) terbatas (Ursula, 1998). Penggunaan enzim sebagai biosensor memerlukan biaya yang tinggi. Selain itu enzim memiliki umur yang pendek sehingga bisa cepat rusak. Oleh karena itu diperlukan metode yang lebih sederhana dengan biaya yang lebih murah namun tetap memiliki sensitifitas dan selektivitas tinggi dalam pengukuran.

Metode alternatif yang dapat digunakan yaitu dengan menggunakan elektroda potensiometri berbasis *molecularly imprinted polymer* (MIP). *Molecularly imprinted polymer* (MIP) dikenal sebagai teknik polimerisasi yang dibentuk dari monomer fungsional, *template*, pelarut, dan agen silang

(*crosslinker*). Pada proses polimerisasi ini monomer fungsional, *crosslinker* dan inisiator bereaksi mengelilingi molekul *template* (analit). Kemudian *template* dihilangkan melalui proses ekstraksi, sehingga terbentuk polimer yang tercetak sesuai dengan molekul analit. Polimer tercetak ini yang spesifik terhadap analit dalam sampel (Brüggemann, 2002). MIP memiliki selektivitas yang tinggi, kekuatan mekanik, tahan terhadap asam, basa, pelarut organik, tekanan tinggi, dan suhu. Oleh karena itu MIP dikembangkan untuk aplikasi yang luas seperti *solid phase extraction* (SPE), kromatografi, katalisis enzim, dan teknologi sensor (Schweiger, 2009).

Dalam penelitian sebelumnya telah dilaporkan penggunaan elektroda termodifikasi *molecularly imprinted polymer* (MIP). Tehrani *et al.* (2009) memodifikasi elektroda grafit dengan MIP untuk analisis metropolol diperoleh batas deteksi sebesar $1,26 \times 10^{-7}$ M dan jangkauan pengukuran sebesar $2,0 \times 10^{-7}$ – $8,0 \times 10^{-3}$ M. Kan *et al.* (2010) memodifikasi elektroda emas nanopartikel dengan MIP untuk analisis theophylline diperoleh batas deteksi $1,0 \times 10^{-7}$ M dan jangkauan pengukuran $4,0 \times 10^{-7}$ M – $1,5 \times 10^{-5}$ M dan $2,4 \times 10^{-4}$ M – $3,4 \times 10^{-3}$ M.

Analisis urea menggunakan elektroda termodifikasi MIP dilaporkan oleh Khadro *et al.* (2010). Dalam penelitiannya, Khadro menggunakan elektroda emas yang dimodifikasi MIP secara EIS (*Electrochemical Impedance Spectroscopy*). Dalam pembentukan MIP digunakan proses penguapan pelarut dari polietilen-co-vinil alkohol (EVAL). Dari penelitian tersebut diperoleh batas deteksi 10 ng/mL dan rentang linier 0,02 µg/mL sampai 3 µg/mL.

Pada penelitian ini dilakukan modifikasi elektroda karbon nanopori dengan melapiskan membran MIP yang digunakan sebagai sensor urea. Membran MIP dibuat dengan menggunakan monomer asam metakrilat (MAA), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) sebagai *crosslinker* dan benzoil peroksida sebagai inisiator. Karbon nanopori dipilih sebagai elektroda karena memiliki sifat inert dan bahan ini memiliki sifat konduktif secara elektronik yang memungkinkan siklus pengisian dan pengosongan muatan dilakukan secara lengkap dan tepat (Aripin, 2007).

Elektroda karbon nanopori yang termodifikasi MIP dari penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kinerja sensor potensiometri dalam penentuan urea meliputi faktor Nernst, jangkauan pengukuran, batas deteksi, akurasi, dan presisi. Sehingga elektroda ini mampu memberikan keunggulan dalam analisis urea.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut.

1. Bagaimanakah kondisi optimum analisis urea menggunakan sensor potensiometri berbasis *molecularly imprinted polymer* (MIP)?
2. Berapakah batas deteksi, faktor Nernst, jangkauan pengukuran, akurasi, presisi, dan koefisien selektifitas pada analisis urea menggunakan sensor potensiometri berbasis *molecularly imprinted polymer* (MIP)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. mengetahui kondisi optimum analisis urea menggunakan sensor potensiometri berbasis *molecularly imprinted polymer* (MIP)
2. menentukan batas deteksi, faktor Nernst, jangkauan pengukuran, akurasi, presisi, dan koefisien selektifitas pada analisis urea menggunakan sensor potensiometri berbasis *molecularly imprinted polymer* (MIP)

1.4 Manfaat Penelitian

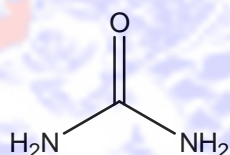
Elektroda karbon nanopori yang dilapisi membran MIP dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan sensor potensiometri yang sensitif dan selektif terhadap urea sehingga diperoleh hasil pengukuran yang lebih akurat. Dengan demikian hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai metode yang lebih sederhana, cepat, sensitif, dan spesifik dalam penentuan kadar urea.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Urea dalam Tubuh

Urea adalah limbah nitrogen utama yang dihasilkan oleh tubuh. Secara tidak langsung, sebagian besar nitrogen berasal dari asam amino (Holum, 1990). Urea ditemukan pertama kali oleh Roelle pada tahun 1773 dalam urin. Urea merupakan senyawa organik yang mempunyai rumus molekul CON_2H_4 atau $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$.

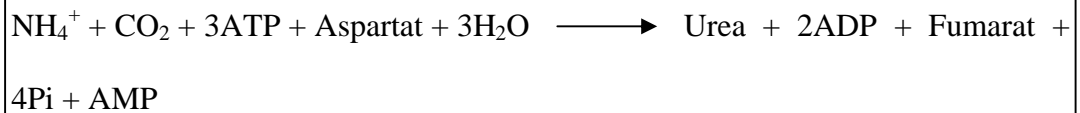


Gambar 2.1 Struktur urea

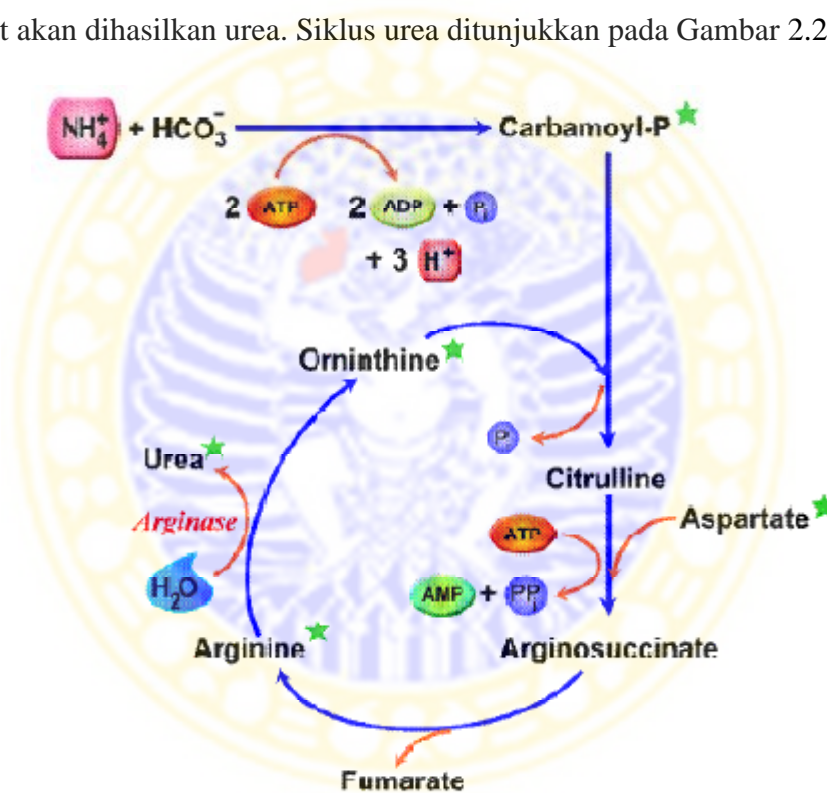
Urea dihasilkan melalui mekanisme siklik yaitu siklus urea dari ammonia yang dihasilkan dari deaminasi asam amino. Urea yang merupakan produk siklus tersebut merupakan senyawa netral, tidak beracun, dan larut di dalam air (Lehninger, 1982).

Langkah pertama pembentukan urea adalah sintesis karbamoil fosfat dari karbon dioksida, ion-ion ammonium, dan ATP. Selanjutnya karbamoil fosfat yang terbentuk berkondensasi dengan ornitin membentuk sitrulin dan fosfat anorganik. Dalam reaksi yang memerlukan ATP, sitrulin berkondensasi dengan asam aspartat untuk membentuk argino suksinat yang selanjutnya dipecah menjadi arginin dan fumarat. Pada akhirnya, melalui pembelahan hidrolitik arginin oleh enzim

arginase akan menghasilkan urea dan ornitin (Montgomery, 1993). Reaksi keseluruhan dapat dituliskan sebagai berikut (Holum, 1990).



Dari reaksi antara ammonia dengan karbon dioksida dalam siklus urea tersebut akan dihasilkan urea. Siklus urea ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Siklus urea (EPA, 2011)

Urea merupakan senyawa sisa metabolisme yang dibuang melalui urin. Jumlah urea yang diekskresikan bervariasi sesuai dengan jumlah urea dalam darah. Kadar urea dalam darah mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi. Kadar urea normal dalam darah (serum) berkisar 6-20 mg/dL atau setara

dengan $9,99 \times 10^{-4} - 3,33 \times 10^{-3}$ M. Rendahnya kadar urea dalam darah pada umumnya tidak dianggap suatu kelainan, namun apabila kadar urea darah sangat tinggi, hal ini dapat mengindikasikan penyakit hati yang berat.

Penentuan urea dapat dilakukan melalui metode spektrofotometri, potensiometri menggunakan elektroda ESI, dan biosensor urea menggunakan enzim urease.

2.2 Polimer

Polimer merupakan makromolekul yang tersusun secara berulang dari molekul kecil dan sederhana. Penyusunan tersebut dapat secara linier atau bercabang (Nicholson, 2006). Unit pengulangan dalam polimer setara atau hampir setara dengan monomer penyusunnya. Panjang rantai polimer ditentukan oleh jumlah unit pengulangan dalam rantai yang disebut sebagai derajat polimerisasi (DP) (Billmeyer, 1984).

Proses penggabungan (polimerisasi) digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu polimerisasi kondensasi dan polimerisasi adisi. Polimerisasi kondensasi dipandang mempunyai kesamaan dengan reaksi kondensasi yang terjadi pada zat bermassa molekul rendah. Pada polimerisasi kondensasi terjadi reaksi antara dua molekul yang mengandung dua gugus fungsi atau lebih yang dapat bereaksi dan memberikan satu molekul besar bergugus fungsi banyak. Dalam polimerisasi kondensasi disertai terbentuknya molekul kecil seperti H_2O (Cowd, 1991).

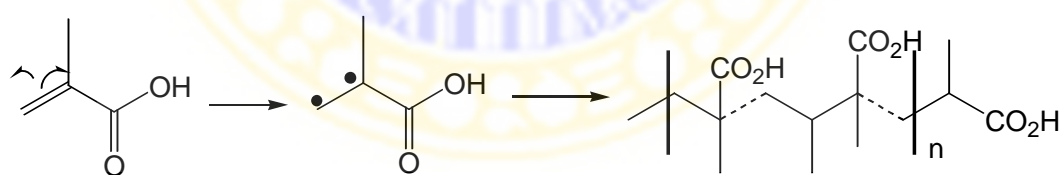
Polimerisasi adisi melibatkan reaksi rantai. Penyebab reaksi rantai dapat berupa radikal bebas (partikel reaktif yang mengandung elektron tak berpasangan)

atau ion. Polimerisasi adisi terjadi khusus pada senyawa yang mempunyai ikatan rangkap (Cowd, 1991).

Polimerisasi adisi merupakan polimer yang terbentuk melalui tiga tahap reaksi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi proses pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini radikal bebas menyerang dan mengikat monomer. Selanjutnya pada tahap propagasi beberapa molekul monomer terikat dengan radikal bebas secara cepat. Akhirnya pada tahap terminasi dua radikal bebas bereaksi satu sama lain (Sperling, 2006). Tahap terminasi dibedakan melalui dua cara, yakni kopling dan disproporsionasi (Billmeyer, 1984)

2.3 Poli(asam)metakrilat

Poli(asam)metakrilat merupakan suatu polimer yang terbentuk dari reaksi polimerisasi monomer-monomer asam metakrilat. Reaksi polimerisasi asam metakrilat terjadi melalui reaksi polimerisasi adisi. Reaksi pembentukan poli(asam)metakrilat dapat digambarkan sebagai berikut (Munk *et al.*, 1994).

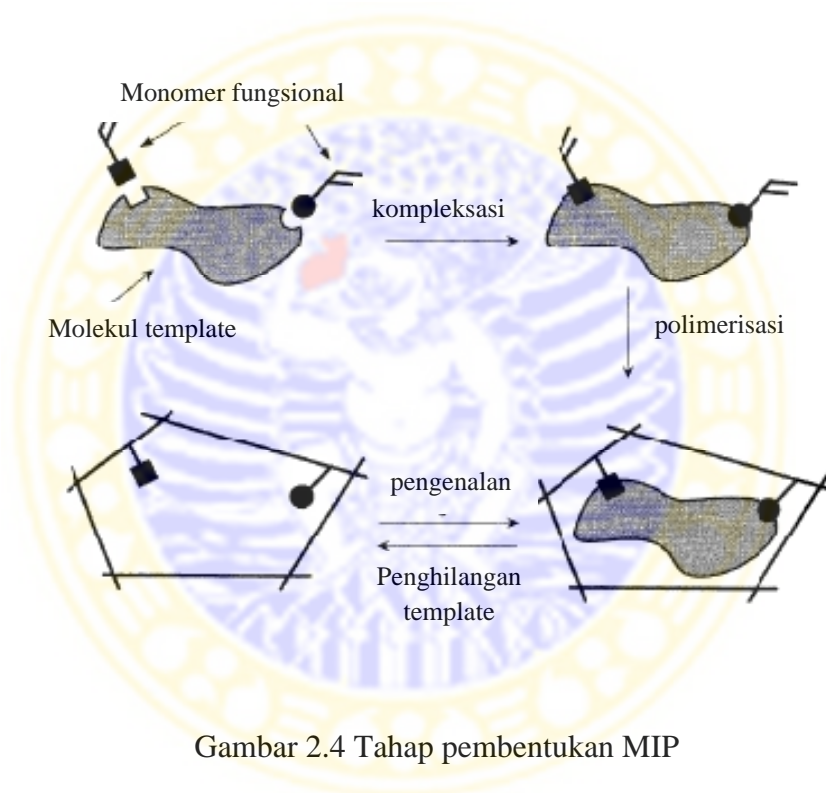


Gambar 2.3 Reaksi polimerisasi asam metakrilat

2.4 *Molecularly Imprinted Polymer (MIP)*

Molecularly imprinted polymer (MIP) dapat disintesis melalui suatu proses dimana monomer fungsional dan agen *crosslink* dikopolimerisasi dengan adanya analit target yang bertindak sebagai *template*. Monomer fungsional awalnya membentuk kompleks dengan molekul *template* melalui ikatan kovalen atau non-

kovalen, diikuti dengan polimerisasi antara monomer fungsional dengan agen *crosslink*. Selanjutnya *template* dihilangkan sehingga terbentuk rongga yang ukuran dan bentuknya sesuai dengan molekul *template*. MIP yang terbentuk dapat mengikat kembali *template* dengan spesifitas yang tinggi (Lu *et al.*, 2011). Tahapan pembentukan MIP dapat ditunjukkan oleh gambar berikut (Komiyama *et al.*, 2003).



Gambar 2.4 Tahap pembentukan MIP

Dalam proses pembuatan MIP terdapat dua macam metode, yaitu melalui pendekatan kovalen dan pendekatan non kovalen. Melalui pendekatan kovalen, sebelum polimerisasi, monomer fungsional dan *template* terikat satu sama lain melalui ikatan kovalen. Selanjutnya konjugat kovalen ini dipolimerisasi. Setelah polimerisasi, ikatan kovalen diputus dan *template* dihilangkan dari polimer. Analit

yang masuk dalam cetakan akan membentuk ikatan kovalen yang sama dengan sebelumnya (Komiyama *et al.*, 2003).

Sedangkan melalui pendekatan non kovalen, untuk menghubungkan monomer fungsional dengan *template* dibutuhkan interaksi non kovalen, misalnya ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan formasi ikatan koordinasi. Analit yang terikat dalam polimer terjadi melalui interaksi non kovalen yang sesuai (Komiyama *et al.*, 2003).

Secara umum, pencetakan melalui pendekatan non kovalen lebih mudah terbentuk. Namun jika dilihat dari kekuatan pencetakan, pendekatan kovalen jauh lebih baik dibandingkan non kovalen (Komiyama *et al.*, 2003).

Tabel 2.1 Keuntungan dan kerugian pencetakan kovalen dan non kovalen

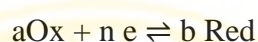
Pencetakan (<i>Imprinting</i>)	Kovalen	Non-kovalen
Sintesis monomer-template konjugasi	diperlukan	tidak diperlukan
Kondisi polimerisasi	cukup bebas	terbatas
Penghapusan template setelah polimerisasi	sulit	mudah
Pengikatan dan pembebasan analit	lambat	cepat
Struktur tempat pengikatan analit	jelas	kurang jelas

2.5 Potensiometri

2.5.1 Tinjauan umum

Potensiometri adalah salah satu metode elektroanalitik yang merupakan aplikasi langsung dari persamaan Nernst dengan cara pengukuran potensial dua elektroda tidak terpolarisasi pada kondisi arus nol (Khopkar, 1990). Potensiometri merupakan metode analisis yang sangat fleksibel dan melibatkan pengukuran

potensial sel galvanik. Sel-sel tersebut terdiri dari dua setengah sel dan untuk menghitung potensial masing-masing dapat digunakan persamaan Nernst (Evans, 1987). Besarnya beda potensial bergantung pada bagaimana sejumlah analit terdistribusi/menyebar melintasi antarmuka dan berhubungan dengan aktivitas analit yang mengalami reaksi dalam sel (Skoog, 2007). Reaksi setengah sel dari oksidasi reduksi dapat ditulis secara umum sebagai berikut.



Dengan keterangan Ox adalah bentuk teroksidasi, Red adalah bentuk tereduksi, n adalah jumlah elektron yang terlibat dalam reaksi, a adalah koefisien dari bentuk teroksidasi pada kesetimbangan, b adalah koefisien dari bentuk tereduksi pada kesetimbangan.

Pada larutan yang encer, maka aktivitas zat dianggap sama dengan konsentrasi zat dalam larutan sehingga besarnya potensial dapat dituliskan dalam persamaan :

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{ox}]^a}{[\text{red}]^b} \quad (2.1)$$

Potensial pembanding (E°) merupakan potensial elektroda standar yang nilainya konstan. Harga E dapat diukur dengan menggabungkan elektroda penunjuk dan elektroda pembanding kemudian diukur *emf* (*electromotive force*) dari sel terbentuk (Basset *et al.*, 1991).

Pada persamaan (2.1) faktor RT/nF melibatkan tetapan-tetapan yang diketahui dan jika dikonversikan ke dalam bentuk logaritma (2,303) maka faktor ini menjadi 0,0591 pada 25°C , sehingga persamaannya menjadi:

$$E = E^{\circ} + \frac{0,0591}{n} \log \frac{[\text{ox}]^a}{[\text{red}]^b} \quad (2.2)$$

2.5.2 Elektroda

Elektroda merupakan bagian dari komponen potensiometri yang berfungsi sebagai sensor analit yang terdiri dari sebuah penghantar elektronik (misal logam) dan sebuah penghantar ionik (larutan). Dalam pengukuran secara potensiometri elektroda yang digunakan harus bersifat inert sehingga tidak dapat bereaksi dengan analit, misalnya platina (Pt), emas (Au), dan karbon (C). Terdapat dua jenis elektroda yang digunakan dalam pengukuran secara potensiometri, yaitu elektroda kerja dan elektroda pembanding (Skoog, 2007).

2.5.2.1 Elektroda kerja

Elektroda kerja merupakan elektroda yang potensialnya bergantung pada aktivitas analit. Dua jenis elektroda yang umum digunakan dalam pengukuran secara potensiometri yaitu elektroda logam dan elektroda membran. Elektroda logam dibagi menjadi dua yaitu elektroda jenis pertama dan elektroda jenis kedua. Elektroda jenis pertama dimana analit yang akan diukur terlibat langsung dalam reaksi elektroda. Pada elektroda ini terjadi kesetimbangan langsung dengan kation yang berasal dari elektroda logam, misalnya elektroda Cu, Ag, Hg, Cd, Zn, dan Pb. Elektroda jenis kedua dimana pengukuran analit tidak langsung berhubungan dalam reaksi elektroda. Misalnya elektroda perak-perak klorida yang dibentuk dengan menyalut kawat perak dengan perak klorida (Basset *et al.*, 1991).

2.5.2.2 Elektroda pembanding

Elektroda pembanding (*reference*) adalah sebuah elektroda tunggal yang potensialnya diketahui dengan tepat dan dapat digunakan untuk mengukur

potensial sebuah elektroda lain. Elektroda pembanding yang paling sering digunakan adalah elektroda kalomel dan elektroda perak-perak klorida (Day dan Underwood, 1986).

Elektroda kalomel (Hg_2Cl_2) pada dasarnya adalah elektroda merkuri (raksa), yang potensial elektrodanya bergantung hanya pada konsentrasi ion merkuri(I). Dalam elektroda kalomel jenuh, digunakan larutan kalium klorida (KCl) yang jenuh, dimana kejenuhan dipertahankan dengan menaruh kristal-kristal KCl yang belum larut dalam larutan (Svehla, 1985). Elektroda perak-perak klorida (Ag/AgCl) mempunyai prinsip yang serupa dengan elektroda kalomel. Pada elektroda Ag/AgCl , sebuah kawat perak disalut dengan lapisan perak klorida yang melekat dengan cara menganodisasi perak itu dalam larutan klorida. Kawat yang bersalut tersebut selanjutnya dicelupkan ke dalam larutan kalium klorida (Day dan Underwood, 1986).

2.6 Elektroda Selektif Molekul

Elektroda selektif dapat digunakan sebagai sensor dalam penentuan konsentrasi dari pengukuran potensial. Sensor potensiometri digolongkan menjadi tiga tipe, yaitu elektroda selektif ion, elektroda sensor gas, dan *field effect transistors* (FET) (Holme, 1993). Elektroda selektif terdiri dari membran yang responsif secara selektif terhadap suatu spesies tertentu dan pada bagian luarnya mengadakan kontak dengan larutan yang akan ditentukan. Sedangkan bagian dalam berisi larutan yang mempunyai aktivitas tertentu yang mengadakan kontak dengan elektroda pembanding (Khopkar, 1990).

Elektroda enzim dapat digunakan untuk mengukur glukosa dan urea. Elektroda tersebut biasanya digunakan untuk penentuan enzim dan zat-zat yang dapat berinteraksi dengan enzim, misalnya elektroda sensitif amigdolin dapat dibuat dengan mengimpregnasikan β -glukosidase dalam suatu lapisan gel yang digabungkan dengan elektroda membran sensitif sianida. Suatu elektroda sensitif CO_2 terdiri atas elektroda gelas sensitif H^+ yang dilapisi larutan Na_2CO_3 yang dapat menahan gas CO_2 (Khopkar, 1990).

2.7 Kinerja Elektroda

Kinerja suatu elektroda dapat ditunjukkan melalui beberapa parameter pengukuran antara lain, faktor Nernst, batas deteksi, jangkauan pengukuran, akurasi dan presisi, serta koefisien selektivitas.

2.7.1 Faktor Nernst

Pada metode potensiometri, korelasi antara potensial elektroda yang terukur dengan keaktifan analit dalam larutan dinyatakan oleh persamaan Nernst. Persamaan Nernst dituliskan sebagai berikut.

$$E_{\text{sel}} = E^{\circ} \pm 2,303 \frac{RT}{nF} \log C \quad (2.3)$$

Besarnya faktor Nernst dapat diperoleh dari kemiringan (*slope*) grafik potensial (E) terhadap log konsentrasi analit. Dengan memasukkan harga R= tetapan gas ideal ($8,314 \text{ joule mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T= suhu dalam derajat Kelvin ($273+25=293^{\circ}\text{K}$) dan F= tetapan Faraday ($96489 \text{ coulomb ekivalen}$), maka diperoleh harga,

$$E_{\text{sel}} = E^{\circ} \pm \frac{0,0592}{n} \log C \quad (2.4)$$

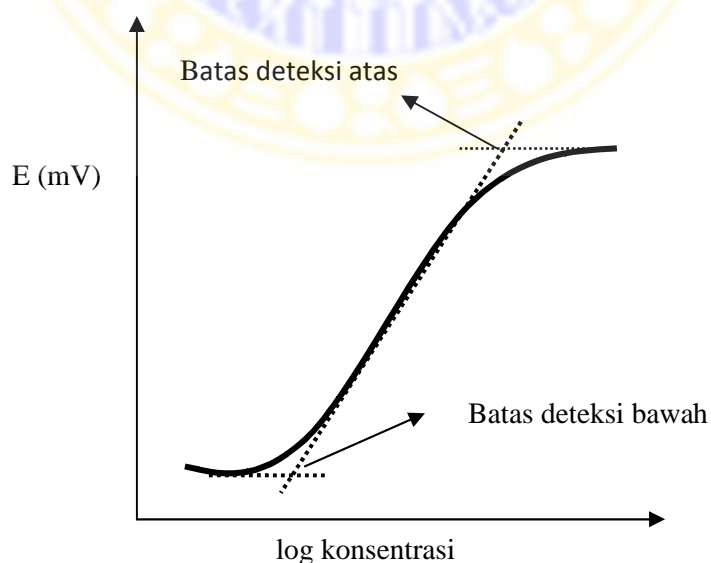
Dengan ketentuan E_{sel} adalah potensial yang terukur (V), E° adalah potensial standar (V), n adalah muatan ion dan $\log C$ adalah konsentrasi dari analit (M).

Suatu ESI dikatakan telah memenuhi persamaan Nernst jika bernilai $0,0592/n (\pm 1-2 \text{ mV})$. Jika faktor Nernst yang diperoleh melebihi nilai tersebut maka disebut Super-Nernstian, dan jika kurang disebut Sub-Nernstian (Cattral, 1997).

2.7.2 Batas deteksi

Batas deteksi didefinisikan sebagai jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Secara statistik perhitungan batas deteksi diperoleh melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi (Harmita, 2004).

Penentuan batas deteksi pada potensiometri dengan menentukan titik potong ekstrapolasi kurva pada jangkauan pengukuran dapat ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Kurva penentuan batas deteksi

2.7.3 Jangkauan pengukuran

Jangkauan pengukuran suatu ESI merupakan *range* yang masih memberikan garis lurus dan masih memenuhi persamaan Nernst pada kurva potensial (E) terhadap log konsentrasi (Bakker, 1997).

2.7.4 Akurasi dan presisi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Nilai *recovery* yang mendekati 100% menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya (*true value*). Sedangkan presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel (Chan *et al.*, 2004). Tingkat presisi dapat dilihat melalui perolehan nilai standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV) pengukuran.

2.7.5 Koefisien selektivitas

Elektroda pada potensiometri memiliki karakter selektif untuk analit tertentu. Tingkat selektivitas suatu elektroda ditentukan oleh nilai koefisien selektivitas. Pada pengukuran secara potensiometri sebagian besar membran sensor dari elektroda akan mensensor analit atau ion utama, tetapi ada juga kontribusi dari ion lain yang dapat berinteraksi dengan membran sensor. Idealnya, kontribusi yang diberikan sangat kecil atau dapat diabaikan. Pada umumnya,

pengukuran secara luas pengaruh ion lain pada respon sensor potensiometri dirumuskan oleh Nicolsky pada persamaan berikut.

$$E = \text{konstan} + RT/nF \ln [a_i + k_{i,j}^{\text{pot}} \cdot a_j^{n/x}] \quad (2.5)$$

Dengan ketentuan n dan x berturut-turut adalah muatan ion utama dan ion pengganggu, a_i adalah aktifitas ion utama, a_j adalah aktifitas ion asing/pengganggu dan $k_{i,j}^{\text{pot}}$ adalah koefisien selektivitas. Selanjutnya koefisien aktivitas ditambah jika ion pengganggunya lebih dari satu (Cattral, 1997)

Untuk memperoleh perhitungan koefisien selektivitas, perlu menghitung aktivitas kedua ion dalam satu larutan campuran. Kekuatan ion akan berbeda jika ada dalam dua larutan secara terpisah. Koefisien selektivitas selanjutnya dihitung dengan menggunakan persamaan berikut.

$$k_{i,j}^{\text{pot}} = \frac{a_i \cdot 10^{(E_2 - E_1)/s}}{a_j^{n/x}} \quad (2.6)$$

Dengan ketentuan a_i adalah aktivitas ion utama, a_r adalah aktivitas larutan campuran, a_j adalah aktivitas ion pengganggu dalam larutan campuran dan s adalah kemiringan kurva kalibrasi ion utama (Cattral, 1997).

Jika nilai $K_{i,j} = 0$ dan $a_i > k_{i,j}^{\text{pot}} \cdot a_j^{n/x}$, maka ion asing tidak mengganggu. Jika nilai $K_{i,j} < 1$, maka elektroda bersifat selektif terhadap ion i daripada ion j . Untuk nilai $K_{i,j} > 1$, maka elektroda bersifat lebih selektif terhadap ion j daripada ion i (Cattral, 1997).

2.8 Karbon Nanopori

Karbon nanopori merupakan hasil proses pemurnian lebih lanjut dari arang aktif. Karbon nanopori dibuat dengan proses pirolisis pada suhu 900-3000°C sambil dialirkan arus plasma pada tekanan tertentu. Pirolisis adalah dekomposisi kimia bahan organik melalui proses pemanasan tanpa atau sedikit oksigen atau reagen lain dimana material mentah akan mengalami pemecahan struktur kimia menjadi fasa gas. Pirolisis bertujuan untuk membuang material non karbon sehingga hanya meninggalkan karbon. Kandungan zat yang mudah menguap akan hilang sehingga terbentuk pori (Jankowska *et al.*, 1991).

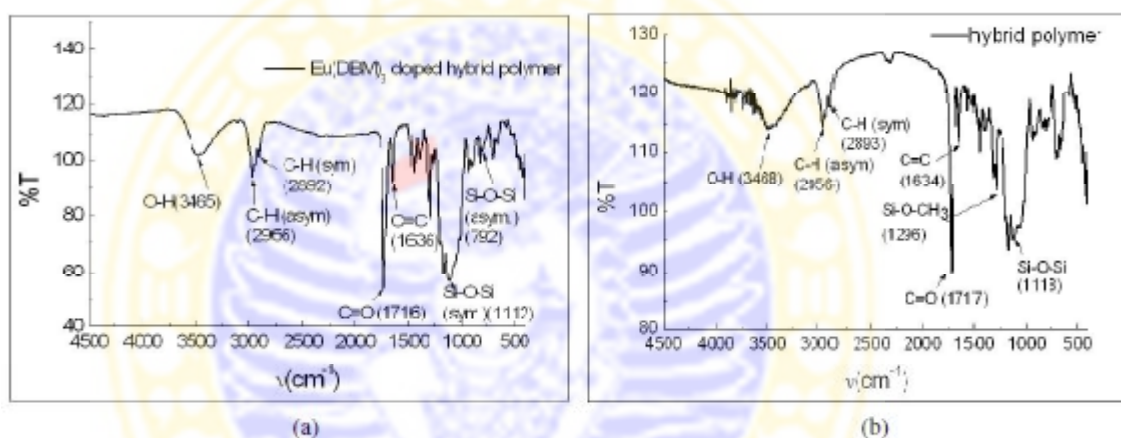
Karbon nanopori dapat dimanfaatkan sebagai elektroda dalam elektroanalisis. Karbon nanopori memiliki struktur pori berukuran nanometer. Kelebihan pasta karbon untuk digunakan sebagai elektroda, yaitu resistivitasnya rendah, konduktivitasnya tinggi, kestabilan yang tinggi, tidak ada reaksi paralel dalam elektroda utama, kuat, dan murah (Bobacka, 1999).

2.9 Spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) adalah metode spektroskopi infrared yang lebih umum digunakan karena memiliki keunggulan dibandingkan spektroskopi infrared. FTIR merupakan spektroskopi infra merah yang menggunakan prinsip interferometri, dimana digunakan interferometer sebagai pengganti monokromator (Tilstone, 2006). Penggunaan spektroskopi FTIR untuk analisis banyak digunakan untuk identifikasi suatu senyawa. Hal ini disebabkan karena spektrum FTIR bersifat khas, artinya senyawa yang berbeda

akan memberikan spektrum yang berbeda pula. Pengukuran FTIR akan memberikan spektrum pada bilangan gelombang 4000–400 cm^{-1} .

Analisis FTIR dapat memberikan informasi tentang struktur rantai polimer. Untuk identifikasi struktur dapat dilakukan dengan membandingkan spektrum yang diperoleh dengan spektrum senyawa lain yang memiliki kemiripan struktur. Contoh perbandingan untuk dua senyawa dapat digambarkan pada dua spektrum yang ditunjukkan Gambar 2.6 (Pitriana, 2011).



Gambar 2.6 Hasil karakterisasi FTIR (a) polimer hibrid dengan doping dan (b) polimer hibrid tanpa doping

Dari gambar tersebut tampak bahwa kedua spektrum tidak menunjukkan perubahan yang signifikan namun hanya terjadi pergeseran puncak vibrasi. Sebagai contoh, gugus Si-O-Si simetrik dan asimetrik pada polimer hibrid tanpa doping terdapat pada bilangan gelombang 1118 cm^{-1} dan 780 cm^{-1} . Sedangkan pada polimer hibrid yang didoping, vibrasi gugus tersebut mengalami pergeseran pada bilangan gelombang 1112 cm^{-1} dan 792 cm^{-1} .

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dimulai pada bulan Januari hingga bulan Juni 2012.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

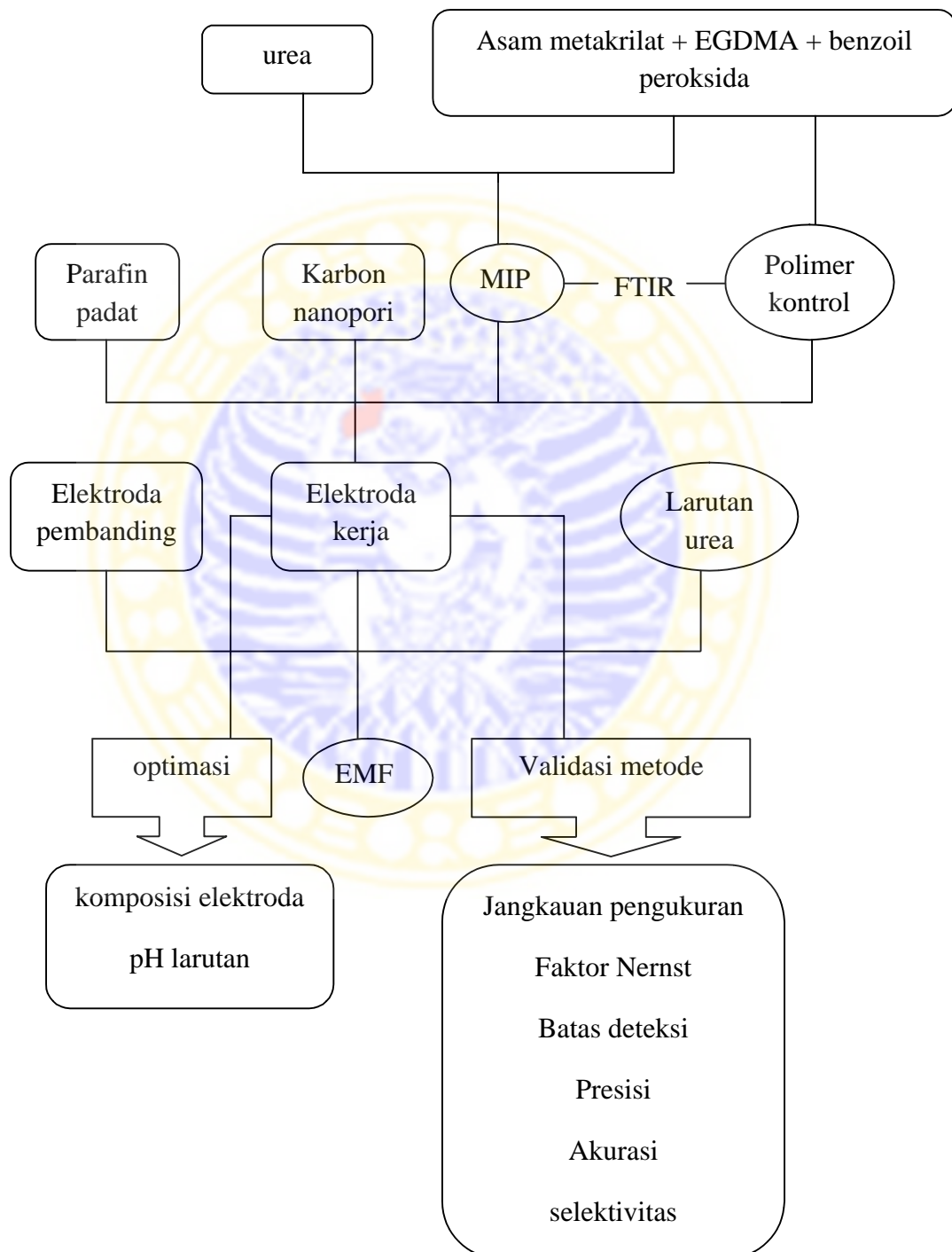
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah urea, asam metakrilat, kloroform, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), benzoil peroksida, akuadem, metanol, asam nitrat, asam asetat, natrium asetat trihidrat, kalium hidrogenfosfat trihidrat, kalium dihidrogenfosfat, asam urat, kreatinin, natrium hidroksida, kawat perak (Ag) dan parafin padat. Karbon nanopori diperoleh dari Puslitbang Hasil Hutan, Bogor. Sampel berupa serum darah. Semua bahan kimia berderajat kemurnian pro analisis.

3.2.2 Alat penelitian

Penelitian ini menggunakan seperangkat alat potensiometri *Cyberscan* 510, pH-meter tipe 744, instrumen FTIR Shimadzu, *hotplate magnetic stirrer*, *tube* mikropipet, serta alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Diagram alir penelitian



3.3.2 Pembuatan larutan induk urea 10^{-1} M

Pembuatan larutan induk urea 10^{-1} M dengan menimbang urea sebanyak 0,6006 gram kemudian dilarutkan dalam 20 mL akuadem dalam gelas piala hingga larut sempurna kemudian larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.3.3 Pembuatan larutan kerja penelitian 10^{-2} – 10^{-10} M

Larutan kerja urea 10^{-2} M dibuat dengan cara memipet 1,0 mL larutan urea 10^{-1} M, kemudian larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan akuadem sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Prosedur yang sama dilakukan untuk pembuatan larutan kerja urea 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, dan 10^{-10} M dengan volume larutan induk menyesuaikan.

3.3.4 Pembuatan larutan buffer

3.3.4.1 Pembuatan larutan asam asetat 0,2 M

Larutan asam asetat 0,2 M dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak 1,14 mL larutan asam asetat glasial dengan akuadem dalam labu ukur 100 mL, larutan tersebut diencerkan sampai tanda batas kemudian dikocok sampai homogen.

3.3.4.2 Pembuatan larutan natrium asetat trihidrat 0,2 M

Ditimbang sebanyak 2,7216 gram natrium asetat trihidrat kemudian dilarutkan dalam 25 mL akuadem dalam gelas piala. Kemudian larutan tersebut

dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.3.4.3 Pembuatan larutan buffer asetat

Larutan buffer asetat pH 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 dibuat dengan mencampurkan larutan asam asetat 0,2 M dan natrium asetat 0,2 M sesuai komposisi volume seperti yang ditampilkan pada Tabel 3.1. Larutan asam asetat 0,2 M dan natrium asetat 0,2 M dicampurkan dalam gelas beker dan diencerkan dengan akuadem sampai volume 100 mL.

Tabel 3.1 Komposisi volume CH_3COOH 0,2 M dan CH_3COONa 0,2 M pada pembuatan buffer asetat

pH Larutan	Volume (mL)	
	CH_3COOH 0,2 M	CH_3COONa 0,2 M
2,0	49,9	0,1
3,0	49,1	0,9
4,0	42,6	7,4
5,0	18,2	31,8

Selanjutnya pH larutan diukur dengan pH meter. Apabila pH buffer terlalu asam maka ditambahkan ke dalamnya larutan CH_3COONa 0,2 M tetes demi tetes hingga diperoleh pH yang diinginkan. Apabila pH buffer terlalu basa maka ditambahkan tetes demi tetes larutan CH_3COOH 0,2 M sampai diperoleh pH yang dikehendaki.

3.3.4.4 Pembuatan larutan kalium hidrogenfosfat trihidrat 0,2 M

Pembuatan larutan kalium hidrogenfosfat trihidrat 0,2 M dibuat dengan cara melarutkan 4,5645 gram $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ dalam 50 mL akuadem dalam gelas piala 100 mL. Larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas lalu dikocok sampai homogen.

3.3.4.5 Pembuatan larutan kalium dihidrogenfosfat 0,2 M

Pembuatan larutan kalium dihidrogenfosfat dilakukan dengan melarutkan 2,7217 gram KH_2PO_4 dalam 25 mL akuadem dalam gelas piala 50 mL. Larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

3.3.4.6 Pembuatan larutan buffer fosfat

Larutan buffer fosfat dengan pH 6,0, 7,0, dan 8,0 dibuat dengan mencampurkan larutan kalium hidrogenfosfat 0,2 M dan kalium dihidrogenfosfat 0,2 M sesuai dengan komposisi volume yang disajikan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Komposisi volume K_2HPO_4 0,2 M dan KH_2PO_4 0,2 M pada pembuatan buffer fosfat

pH Larutan	Volume (mL)	
	K_2HPO_4 0,2 M	KH_2PO_4 0,2 M
6,0	2,9	47,1
7,0	19,0	31,0
8,0	43,0	7,0

Campuran kedua larutan dimasukkan ke dalam gelas beker dan diencerkan dengan akuadem sampai volume 100 mL. Kemudian pH larutan diukur dengan pH meter. Apabila pH terlalu asam ditambahkan larutan K_2HPO_4 0,2 M tetes demi tetes ke dalamnya hingga pH yang diinginkan. Apabila pH buffer terlalu basa maka ditambahkan larutan KH_2PO_4 0,2 M sampai diperoleh pH yang diinginkan.

3.3.5 Pembuatan larutan molekul pengganggu

3.3.5.1 Pembuatan larutan asam urat 10^{-2} M

Larutan asam urat 10^{-2} M dibuat dengan menimbang asam urat ($C_5H_4N_4O_3$) dengan teliti sebanyak 0,1681 gram, kemudian dilarutkan dengan NaOH hingga larut sempurna dalam gelas piala dan ditambahkan 20 mL akuadem. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.3.5.2 Pembuatan larutan kreatinin 10^{-2} M

Larutan kreatinin 10^{-2} M dibuat dengan menimbang kreatinin ($C_4H_7N_3O$) dengan teliti sebanyak 0,1131 gram, kemudian dilarutkan dalam 20 mL akuadem dalam gelas piala. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.3.6 Pencucian karbon nanopori dengan asam nitrat

3.3.6.1 Pembuatan larutan asam nitrat 1 M

Larutan asam nitrat 1 M dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak 7,0 mL larutan asam nitrat 65% dengan akuadem dalam labu ukur 100 mL, larutan tersebut diencerkan sampai tanda batas kemudian dikocok sampai homogen.

3.3.6.2 Pencucian karbon nanopori

Karbon nanopori sebanyak 6 gram dimasukkan ke dalam gelas beker 100 mL. Selanjutnya ditambahkan 50 mL asam nitrat 1 M kemudian diaduk menggunakan *stirrer* selama ± 30 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan kemudian dicuci lagi menggunakan air panas dan dikeringkan. Hilangnya Ni^{2+} dari karbon dapat dilihat dari cairan hasil penyaringan yang sudah tidak memberikan warna hijau. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral yang dimungkinkan dapat mempengaruhi konduktivitas karbon nanopori.

3.3.7 Pembuatan *molecularly imprinted polymer* (MIP)

Molecularly Imprinted Polymer (MIP) dibuat dengan cara 0,8 mmol monomer asam metakrilat dalam 5 mL kloroform dicampur dengan 0,2 mmol urea sebagai *template* yang sudah dilarutkan dalam 5 mL kloroform di dalam gelas beker, selanjutnya campuran tersebut didiamkan selama 1 jam. Dalam gelas beker yang berbeda disiapkan pula 2,4 mmol *crosslinker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan 1 mmol benzoil peroksida sebagai inisiator yang telah dilarutkan dalam 1 mL kloroform. Selanjutnya *crosslinker* dan inisiator ditambahkan ke dalam campuran asam metakrilat dan urea, kemudian dipanaskan di atas *hotplate*

pada temperatur 60°C selama kurang lebih 2 jam tanpa pengadukan. Padatan yang terbentuk dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya padatan digerus dan diayak dengan ukuran 200 *mesh* sehingga diperoleh ukuran partikel yang homogen. Kemudian MIP dicuci menggunakan asam asetat dan metanol dengan perbandingan 2:8, selanjutnya dicuci dengan air 70°C. Polimer yang telah diekstraksi inilah yang menjadi MIP.

3.3.8 Pembuatan polimer kontrol

Polimer kontrol dibuat dengan cara menyiapkan 0,8 mmol monomer asam metakrilat dalam 5 mL kloroform di dalam gelas beker. Dalam gelas beker yang berbeda disiapkan pula 2,4 mmol *crosslinker* etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan 1 mmol benzoil peroksida sebagai inisiator yang telah dilarutkan dalam 1 mL kloroform. Selanjutnya *crosslinker* dan inisiator ditambahkan ke dalam larutan asam metakrilat, kemudian dipanaskan di atas *hotplate* pada temperatur 60°C selama kurang lebih 2 jam tanpa pengadukan. Padatan yang terbentuk dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya padatan digerus dan diayak dengan ukuran 200 *mesh* sehingga diperoleh ukuran partikel yang homogen. Kemudian serbuk polimer kontrol yang diperoleh dicuci menggunakan asam asetat dan metanol dengan perbandingan 2:8.

3.3.9 Karakterisasi MIP dan polimer kontrol

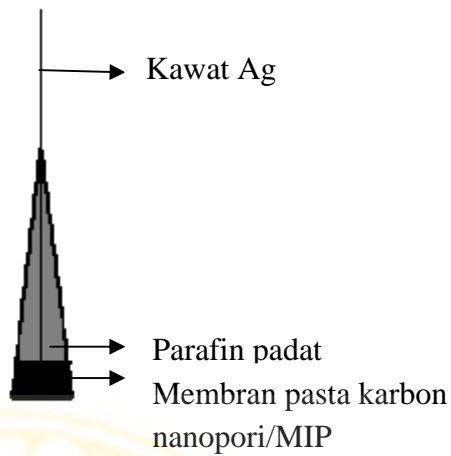
Molecularly Imprinted Polymer (MIP) dan polimer kontrol yang terbentuk dapat dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infra*

Red (FTIR). Spektroskopi FTIR merupakan metode analisis yang didasarkan pada interaksi material dengan radiasi infra merah.

Analisis FTIR dapat memberikan informasi tentang struktur rantai polimer. Spektrum FTIR akan berbeda jika material yang dianalisis berbeda. Sehingga dari karakterisasi dengan FTIR akan menunjukkan spektrum yang berbeda dari polimer kontrol dan MIP yang disintesis.

3.3.10 Pembuatan elektroda pasta karbon nanopori/MIP

Pembuatan elektroda diawali dengan membuat badan elektroda terlebih dahulu yaitu dengan mengisi $\frac{3}{4}$ *tube* mikropipet dengan parafin padat yang di dalamnya telah dipasang kawat Ag. Kawat Ag digunakan sebagai penghubung antara elektroda dengan alat potensiometer. Selanjutnya sisa *tube* yang belum terisi, diisi dengan pasta dari campuran karbon nanopori, parafin, dan MIP dengan penekanan sehingga *tube* terisi penuh. Agar terbentuk pasta maka campuran antara karbon nanopori, parafin padat dan MIP dipanaskan terlebih dahulu. Selanjutnya permukaan elektroda digosokkan pada kertas HVS sehingga permukaan elektroda menjadi halus. Konstruksi elektroda pasta karbon nanopori/MIP ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Konstruksi elektroda pasta karbon nanopori/MIP

3.3.11 Optimasi elektroda

3.3.11.1 Optimasi komposisi elektroda

Optimasi komposisi antara pasta karbon nanopori dan MIP dalam pembuatan elektroda perlu dilakukan untuk mendapatkan elektroda yang mampu bekerja secara optimum. Dari komposisi yang berbeda-beda tersebut akan diamati faktor Nernst, linieritas dan batas deteksi. Komposisi antara karbon nanopori dan MIP dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Komposisi pasta karbon nanopori/MIP

Karbon nanopori (% wt)	MIP (% wt)	Parafin (% wt)
50	Polimer kontrol 15%	35
60	5	35
58	7	35
55	10	35
50	15	35
45	20	35
40	25	35

3.3.11.2 Optimasi pH larutan urea

Larutan urea yang digunakan untuk optimasi pH dibuat melalui pengenceran larutan induk 10^{-1} M. Sebanyak 2,5 mL larutan induk 10^{-1} M dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL yang kemudian diencerkan dengan larutan buffer sesuai pH masing-masing sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen. Variasi pH yang digunakan adalah pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8. Selanjutnya larutan ini dimasukkan ke dalam wadah sampel dan dianalisis menggunakan elektroda kerja pasta karbon nanopori/MIP dan elektroda pembanding Ag/AgCl. pH optimum ditunjukkan oleh harga potensial yang relatif konstan.

3.3.12 Pembuatan kurva standar urea

Larutan urea dengan konsentrasi 10^{-1} M sampai 10^{-10} M yang telah dibuat pada pH optimum seperti prosedur 3.3.11.2 selanjutnya diukur potensialnya menggunakan sensor potensiometri pasta karbon nanopori/MIP yang sudah dioptimasi. Beda potensial yang dihasilkan selanjutnya dibuat kurva hubungan antara potensial dan log konsentrasi urea. Kurva yang memberikan garis lurus adalah kurva standar urea.

3.3.13 Penentuan parameter validasi

3.3.13.1 Penentuan batas deteksi

Batas deteksi menyatakan besarnya kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat diukur atau dideteksi dengan baik oleh suatu metode. Sebelum melakukan perhitungan batas deteksi terlebih dahulu ditentukan persamaan garis

linier dari kurva antara potensial dan log konsentrasi urea seperti pada persamaan 3.1.

$$y = bx + a \quad (3.1)$$

dengan y merupakan potensial larutan, x merupakan nilai log konsentrasi urea, b adalah *slope*, dan a adalah intersep. Selanjutnya menentukan persamaan garis non linier pada kurva potensial (mV) terhadap log [urea]. Kedua persamaan garis tersebut kemudian ditentukan titik potongnya. Jika titik potong kedua garis tersebut diekstrapolasi ke absis, maka akan diperoleh log [urea] batas deteksi dari elektroda.

3.3.13.2 Faktor Nernst dan linieritas

Faktor Nernst dapat ditentukan dari hasil pengukuran larutan kerja urea menggunakan elektroda hasil optimasi yang dibuat kurva antara potensial (mV) terhadap log [urea] sehingga diperoleh persamaan garis seperti pada persamaan 3.1. Kemiringan kurva (b) merupakan harga faktor Nernst.

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (3.2)$$

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n} \quad (3.3)$$

dengan y merupakan potensial larutan, x merupakan nilai log konsentrasi analit, n adalah jumlah larutan yang diukur, b adalah *slope*, dan a adalah intersep.

Secara kuantitatif, linieritas kurva kalibrasi dinyatakan dengan koefisien korelasi (r) Pearson dengan persamaan 3.4.

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad (3.4)$$

dengan x_i dan \bar{x} berturut-turut adalah konsentrasi ke- i dan rata-rata ion urea, y_i dan \bar{y} adalah potensial ke- i dan rata-rata ion urea. Nilai r berada pada rentang antara $-1 \leq r \leq 1$.

3.3.13.3 Penentuan koefisien variasi (presisi)

Presisi atau ketelitian menyatakan derajat keterulangan (*reproducibility*) yaitu besarnya kesesuaian atau penyimpangan dari setiap hasil pengukuran yang telah dilakukan berulang-ulang pada sampel yang sama. Larutan urea dengan konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-4} M diukur menggunakan elektroda optimum pada pH optimum sebanyak 3 kali.

Presisi dapat ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku (standar deviasi=SD) dan koefisien variasi (KV). Harga SD dan KV dapat ditentukan dari persamaan berikut (Miller dan Miller, 1998).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (3.5)$$

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \% \quad (3.6)$$

Dengan ketentuan X_i adalah nilai setiap pengukuran, \bar{X} adalah nilai rata-rata pengukuran, dan n adalah jumlah pengukuran.

3.3.13.4 Penentuan persen *recovery* (%R)

Persen *recovery* merupakan nilai suatu ketepatan yang merupakan kedekatan setiap konsentrasi larutan standar yang diperoleh kembali dengan konsentrasi larutan standar sebenarnya. Persen *recovery* dinyatakan dengan

besarnya nilai perbandingan antara konsentrasi larutan standar yang diperoleh kembali dengan konsentrasi larutan standar yang sebenarnya. Untuk mendapatkan % *recovery*, larutan urea dengan konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-4} M diukur menggunakan elektroda optimum pada pH optimum sehingga diperoleh nilai potensial masing-masing larutan. Dengan menganalogkan y sebagai potensial sel larutan urea, hasil pengulangan pengukuran selanjutnya disubstitusi ke dalam persamaan regresi linier yang diperoleh. Sehingga didapatkan nilai konsentrasi urea terukur. Dengan menganggap konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-4} M sebagai konsentrasi sesungguhnya dari larutan urea, maka harga % *recovery* dihitung dengan persamaan berikut (Miller dan Miller, 1998).

$$R = \frac{C_{sp}}{K_s} \times 100\% \quad (3.7)$$

dengan ketentuan C_{sp} adalah konsentrasi standar urea hasil analisis, K_s adalah konsentrasi standar urea sebenarnya, dan R adalah persen *recovery*.

3.3.13.5 Jangkauan pengukuran

Jangkauan pengukuran dilakukan dengan mengukur potensial larutan urea dengan menggunakan elektroda hasil optimasi pada konsentrasi larutan urea 10^{-10} – 10^{-1} M. Dari hasil pengukuran dibuat kurva standar potensial (mV) terhadap log konsentrasi urea dan ditentukan persamaan garis regresi linier untuk mendapatkan nilai kemiringannya (faktor Nernst). *Range* yang masih memberikan garis lurus dan masih memenuhi persamaan Nernst pada kurva merupakan jangkauan pengukuran.

3.3.13.6 Penentuan koefisien selektivitas

Selektivitas elektroda dihitung dengan mengukur potensial dari larutan molekul pengganggu yaitu asam urat dan kreatinin pada konsentrasi 10^{-2} M dengan elektroda pasta karbon nanopori/MIP hasil optimasi. Selanjutnya dengan memasukkan nilai potensial (y) dari molekul pengganggu pada persamaan regresi linier urea sehingga diperoleh konsentrasi (x). Kemudian dengan menggunakan persamaan:

$$k_{i,j}^{\text{pot}} = \frac{x}{\text{konsentrasi larutan sesungguhnya}} \quad (3.8)$$

maka diperoleh koefisien selektivitas dari elektroda karbon nanopori/MIP.

3.3.14 Penentuan sampel

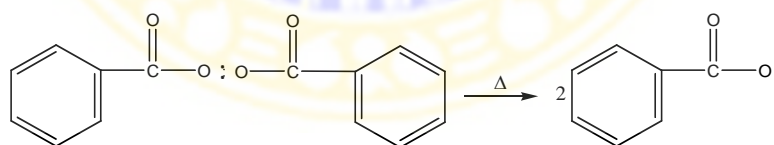
Sampel yang digunakan berupa serum darah. Untuk menentukan kadar urea yang terdapat dalam sampel, dilakukan dengan mengukur potensial dari larutan sampel serum darah menggunakan elektroda yang telah dioptimasi. Selanjutnya dengan memasukkan nilai potensial (y) ke dalam persamaan regresi linier urea, maka akan diperoleh konsentrasi (x).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pembuatan *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP)

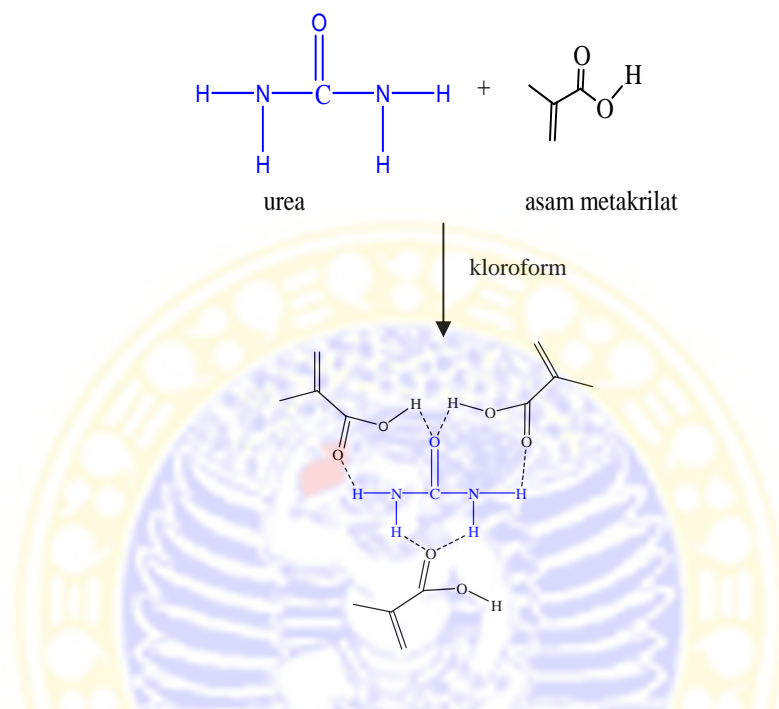
Molecularly Imprinted Polymer (MIP) dibuat dengan menggunakan monomer asam metakrilat, urea sebagai *template*, dan etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) sebagai *crosslinker*, dengan perbandingan mol monomer, *template*, dan *crosslinker* adalah 4:1:12 (Qin *et al.*, 2009). Jenis polimerisasi yang terjadi pada pembuatan MIP ini adalah polimerisasi adisi, dimana polimer ini terbentuk melalui tiga tahap reaksi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Sperling, 2006). Dalam proses pembuatan MIP tersebut diperlukan inisiator benzoil peroksida untuk mengawali reaksi dengan membentuk senyawa radikal yang dapat menyerang asam metakrilat dan selanjutnya akan mengalami perpanjangan rantai (tahap propagasi) pada proses polimerisasi. Reaksi pembentukan radikal benzoil peroksida ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Reaksi pembentukan senyawa radikal benzoil peroksida (Sperling, 2006)

Pada proses pembuatan MIP, asam metakrilat terlebih dahulu direaksikan dengan urea supaya ketika ditambahkan inisiator maka yang mengalami polimerisasi adalah asam metakrilat mengingat urea juga dapat bertindak sebagai monomer. Prakiraan reaksi yang terjadi antara asam metakrilat dan urea

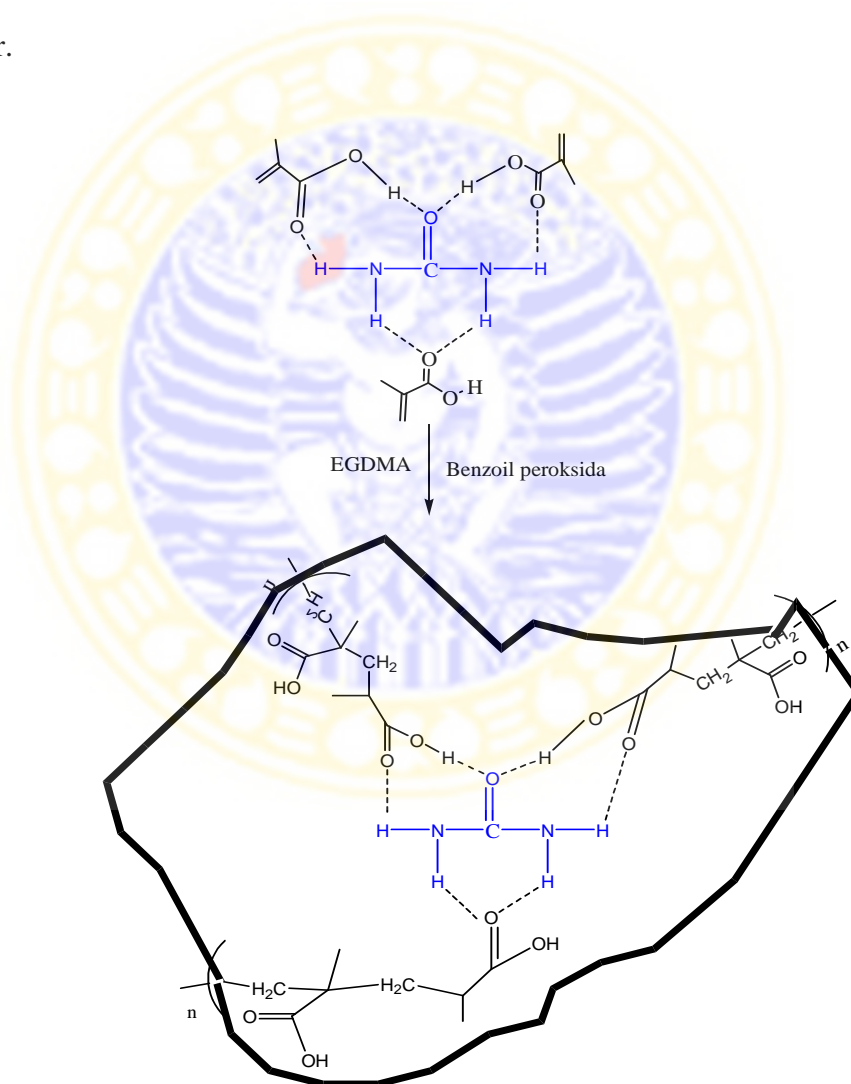
ditunjukkan pada Gambar 4.2. Komposisi asam metakrilat yang lebih besar dari urea dimaksudkan agar polimer asam metakrilat dapat mengelilingi urea sehingga dapat membentuk cetakan yang sesuai dengan molekul urea.



Gambar 4.2 Prakiraan reaksi antara urea dan asam metakrilat

Prakiraan reaksi yang terjadi ketika campuran asam metakrilat dan urea ditambah inisiator dan *crosslinker* ditunjukkan pada Gambar 4.3. Proses polimerisasi berlangsung selama 2 jam hingga porogen yang digunakan yaitu kloroform habis menguap dan terjadi perubahan bentuk dari cairan bening menjadi kristal putih. Gambar 4.4 menunjukkan hasil sintesis MIP urea. Selanjutnya kristal tersebut digerus dan diayak untuk mendapatkan serbuk MIP dengan ukuran partikel yang homogen. Proses pengayakan dilakukan dengan menggunakan ayakan 200 *mesh* yang memiliki ukuran 0,075x0,075 mm. Apabila ukuran partikel semakin kecil, maka luas permukaan semakin besar yang

mengakibatkan reaksi antara partikel tersebut dengan partikel yang lain akan semakin cepat terjadi. Hasil serbuk yang diperoleh selanjutnya dicuci menggunakan campuran asam asetat dan metanol dengan perbandingan 2:8 (v/v) dengan tujuan untuk menghilangkan sisa-sisa reaktan yang tidak bereaksi (Qin *et al.*, 2009). Sedangkan untuk mendapatkan MIP maka selanjutnya dilakukan pencucian menggunakan air panas untuk menghilangkan *template* dari struktur polimer.

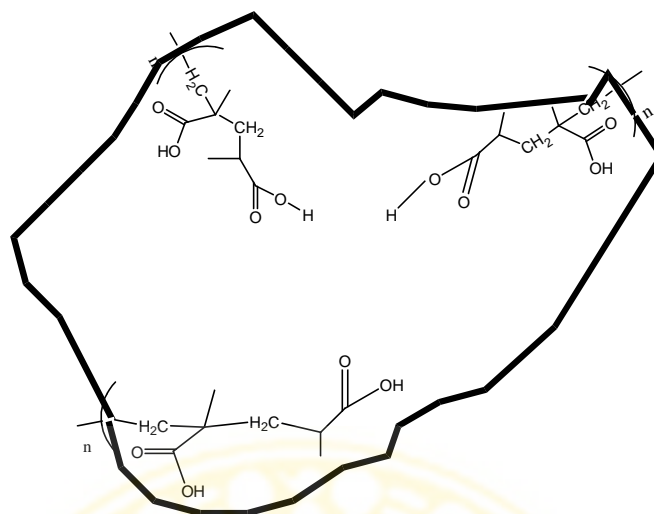


Gambar 4.3 Prakiraan polimer asam metakrilat dengan adanya *template* urea



Gambar 4.4 Hasil sintesis MIP urea

Pada polimerisasi ini antara monomer asam metakrilat dan *template* urea terjadi ikatan hidrogen yang merupakan salah satu jenis ikatan non kovalen. Ikatan hidrogen akan mudah terbentuk bila atom hidrogen terikat pada atom yang memiliki sifat elektronegatif seperti oksigen dan nitrogen. Melalui interaksi non kovalen, *template* dapat dengan mudah dihilangkan dari polimer di bawah kondisi yang ringan karena ikatannya lemah (Komiyama *et al*, 2003). Oleh karena itu, ekstraksi dengan air panas dapat menghilangkan *template* (urea) dari polimer karena urea mudah larut dalam air, sehingga akan terbentuk MIP dengan cetakan yang spesifik terhadap molekul urea. Cetakan yang diharapkan dapat terbentuk ditunjukkan pada Gambar 4.5.

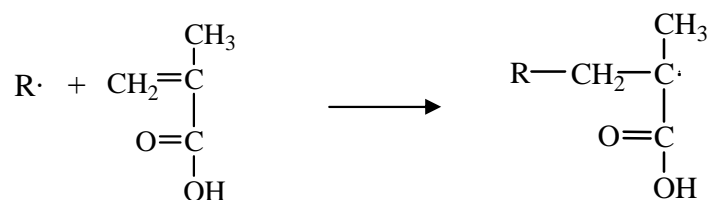


Gambar 4.5 MIP yang telah diekstraksi

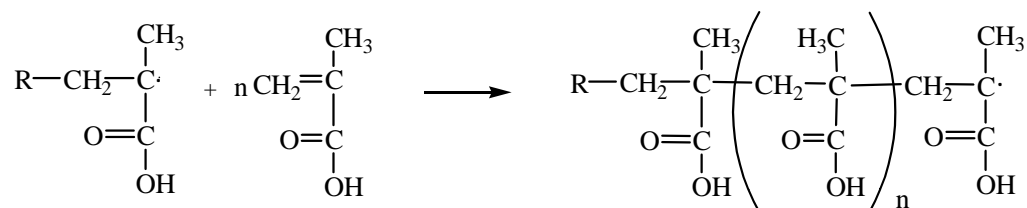
4.2 Hasil Pembuatan Polimer Kontrol

Polimer kontrol merupakan polimer yang tidak memiliki sisi pengenalan yang spesifik terhadap analit. Proses pembuatan polimer kontrol serupa dengan pembuatan MIP namun tanpa perlu ditambahkan urea sehingga dalam polimer kontrol tidak ada sisi pengenalan yang spesifik terhadap urea. Dalam pembuatan polimer kontrol hanya terjadi reaksi polimerisasi asam metakrilat yang diinisiasi oleh inisiator benzoil peroksida. Jenis reaksi polimerisasi pada pembentukan polimer kontrol juga merupakan reaksi polimerisasi adisi. Gambar 4.6 menunjukkan tahapan polimerisasi asam metakrilat (Sperling, 2006).

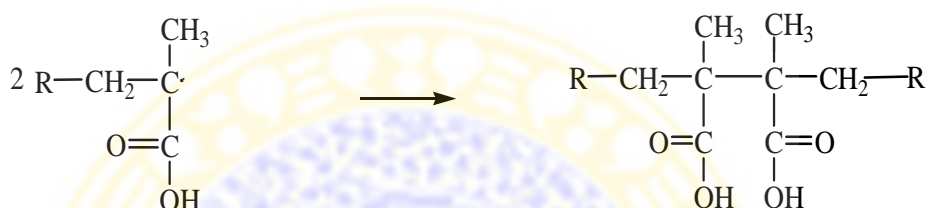
Tahap inisiasi



Tahap propagasi



Tahap terminasi



Gambar 4.6 Tahap polimerisasi asam metakrilat

Pada tahap inisiasi, R \cdot menunjukkan radikal bebas (dalam hal ini adalah radikal benzoil peroksida) dimana pada tahap ini senyawa radikal menyerang monomer sehingga ikatan rangkap pada monomer terputus menjadi ikatan tunggal. Pada tahap propagasi terjadi perpanjangan rantai dengan penambahan monomer. Sedangkan pada tahap terminasi, R menunjukkan rantai panjang, dan melalui reaksi disproporsionasi akan terbentuk suatu polimer (poli asam metakrilat).

Hasil yang diperoleh dari pembuatan polimer kontrol ini berupa padatan putih seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil sintesis polimer kontrol

Pencucian polimer kontrol hanya dilakukan dengan menggunakan campuran asam asetat dan metanol (2:8) untuk menghilangkan sisa-sisa reaktan yang tidak bereaksi.

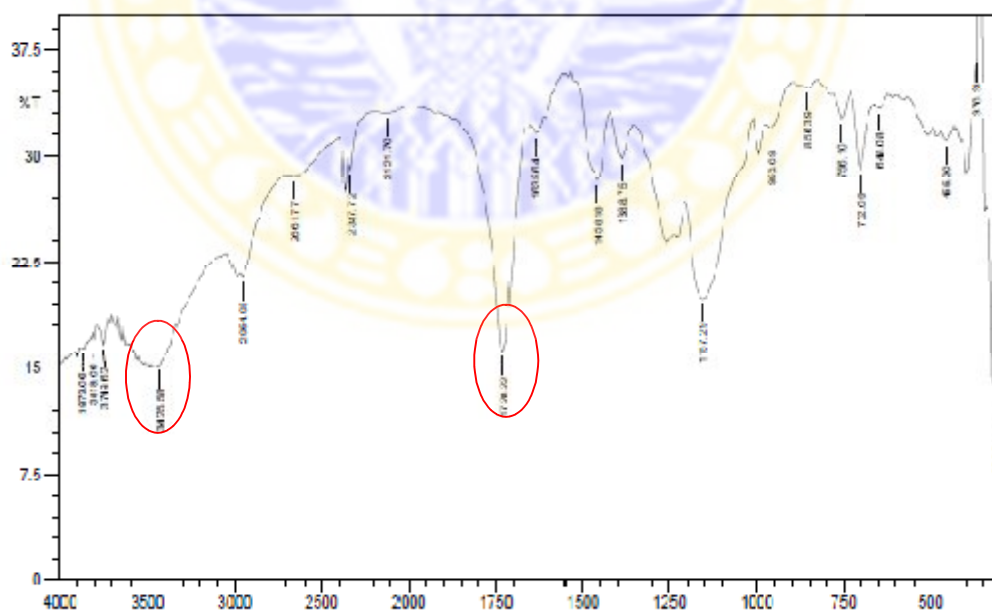
4.3 Karakterisasi *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP) dan Polimer Kontrol

Molecularly Imprinted Polymer (MIP) dan polimer kontrol yang telah diperoleh selanjutnya dikarakterisasi untuk mengetahui dan menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh sesuai dengan yang diharapkan yaitu proses polimerisasi telah terjadi dan molekul urea dapat terekstrak sehingga terbentuk MIP yang spesifik dalam mengenali analit. Karakterisasi dilakukan menggunakan instrument *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan diperoleh data seperti berikut.

Pada Gambar 4.9 (atas) menunjukkan spektrum dari MIP yang masih mengikat urea. Berdasarkan spektrum tersebut tampak terdapat pita serapan pada bilangan gelombang $3070,68\text{ cm}^{-1}$. Puncak tersebut menunjukkan adanya gugus -CONH_2 (N-H *stretching*) dari molekul urea. Terdapat juga pita serapan pada $1627,92\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus -NH_2 (N-H *bending*).

Spektrum pada Gambar 4.9 (bawah) menunjukkan spektrum MIP yang telah diekstraksi. Dari spektrum tersebut tampak pita serapan gugus $-\text{CONH}_2$ (N-H *stretching*) sudah tidak ada namun masih terdapat pita serapan pada bilangan gelombang $1627,92 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus $-\text{NH}_2$ (N-H *bending*) dengan intensitas yang lebih rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa pencucian yang dilakukan kurang sempurna sehingga masih terdapat molekul urea dalam struktur MIP.

Sedangkan hasil karakterisasi polimer kontrol ditunjukkan pada spektrum Gambar 4.8. Pada spektrum tersebut tampak adanya peak melebar pada bilangan gelombang $3425,58 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan pita serapan gugus O-H dari ikatan hidrogen yang juga tampak pada spektrum MIP.

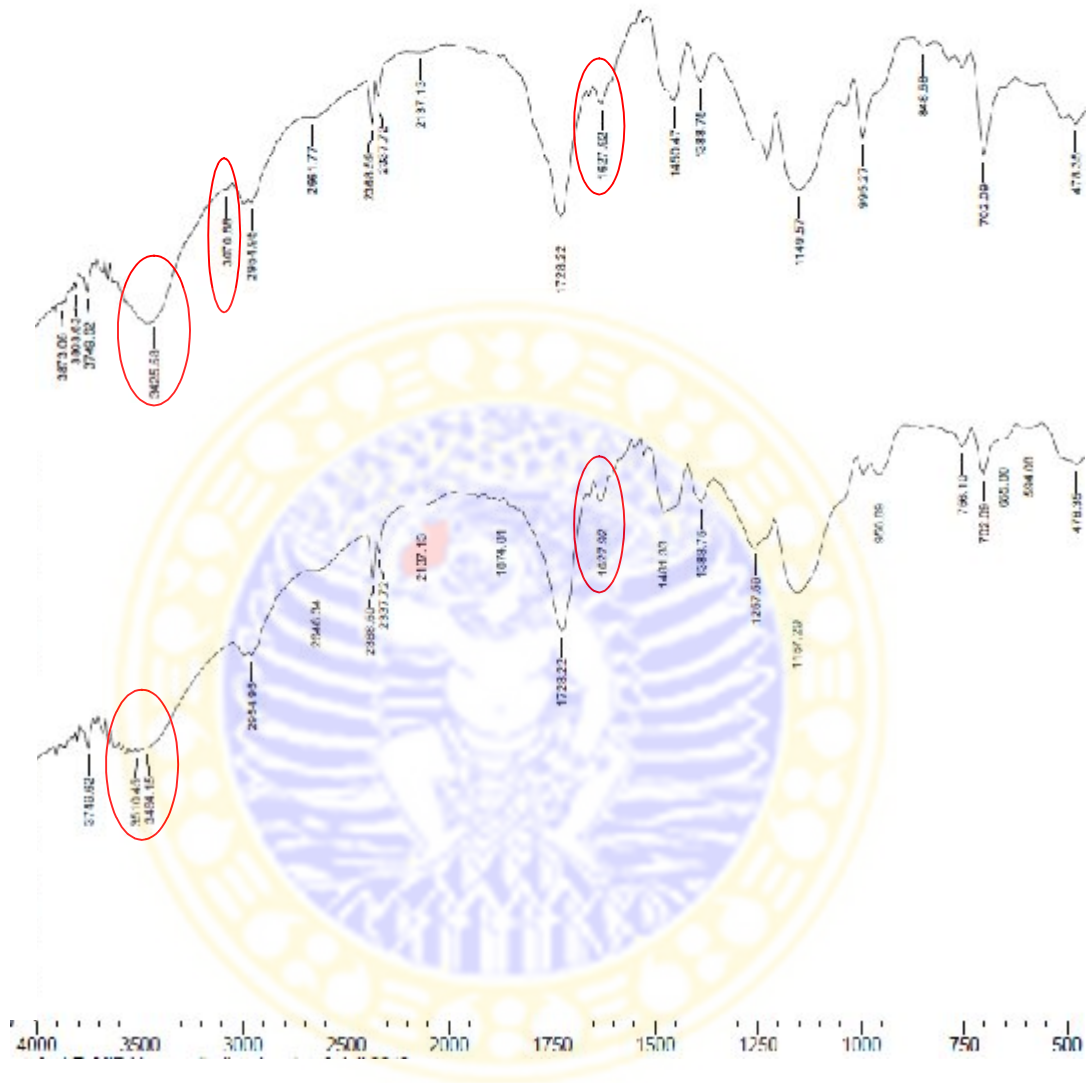


Gambar 4.8 Spektrum polimer kontrol

Terjadinya polimerisasi ditunjukkan oleh ketiga spektra dimana terjadi pergeseran pita serapan gugus C=O *stretching* dari senyawa asam metakrilat pada bilangan gelombang 1697 cm^{-1} (Lampiran 12b) bergeser menjadi $1728,22\text{ cm}^{-1}$. Polimerisasi juga ditunjukkan oleh hilangnya pita serapan C=C dari asam metakrilat yang tampak pada bilangan gelombang $1636,13\text{ cm}^{-1}$, yang tidak ditunjukkan pada spektrum MIP dan polimer kontrol. Pergeseran tersebut terjadi akibat perubahan ikatan rangkap C=C menjadi ikatan tunggal C-C.

Tabel 4.1 Perbandingan hasil karakterisasi asam metakrilat, MIP, dan polimer kontrol (Williams, 1980)

No	Gugus Fungsi	Range bilangan gelombang (cm^{-1})	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			
			Asam metakrilat	MIP dengan urea	MIP yang diekstraksi	Polimer kontrol
1	C=O <i>stretching</i> (asam karboksilat)	1680-1715	1697	1728,22	1728,22	1728,22
2	C=C <i>stretching</i>	1620-1680	1636,13	–	–	–
3	-CONH ₂ (N-H <i>stretching</i>)	3050-3200	–	3070,68	–	–
4	-NH ₂ (N-H <i>bending</i>)	1560-1650	–	1627,92	1627,92	–
5	-OH (ikatan hidrogen)	3200-3600	–	3425,58	3464,15	3425,58



Gambar 4.9 Spektrum MIP yang mengikat urea (atas) dan spektrum MIP yang telah diekstraksi (bawah)

4.4 Optimasi Elektroda

Untuk memperoleh hasil yang optimum, elektroda kerja pada pengukuran potensiometri harus dioptimasi terlebih dahulu, mengingat bahwa elektroda kerja merupakan bagian yang penting dalam merespon analit. Pada penelitian ini dilakukan optimasi terhadap komposisi elektroda dan optimasi pH larutan.

4.4.1 Optimasi komposisi elektroda

Elektroda kerja hasil penelitian yang digunakan untuk analisis urea secara potensiometri dibuat dari campuran karbon nanopori, MIP, dan parafin dengan komposisi yang bervariasi (Tabel 3.3). Karbon nanopori merupakan material yang inert sehingga tidak dapat bereaksi dengan senyawa lain. Selain itu karbon nanopori memiliki konduktivitas dan kestabilan yang tinggi (Bobacka, 1999). Berdasarkan alasan tersebut maka karbon nanopori dapat digunakan sebagai bahan untuk membuat elektroda.

Adanya MIP dalam komposisi elektroda tersebut bertujuan untuk meningkatkan selektivitas dari elektroda karena MIP mempunyai sisi pengenalan molekul yang selektif sehingga mampu mengenali analit. Sedangkan penggunaan parafin dalam pembuatan elektroda ini adalah untuk mencampurkan karbon nanopori dan MIP supaya ketika dimasukkan ke dalam *tube* mikropipet campuran tersebut dapat memadat, sehingga tidak akan terlepas ketika digunakan untuk mengukur.

Dalam penelitian ini dibuat 7 buah elektroda dengan komposisi karbon nanopori dan MIP yang bervariasi namun komposisi parafin tetap. Elektroda yang telah dibuat selanjutnya digunakan untuk mengukur larutan urea dengan

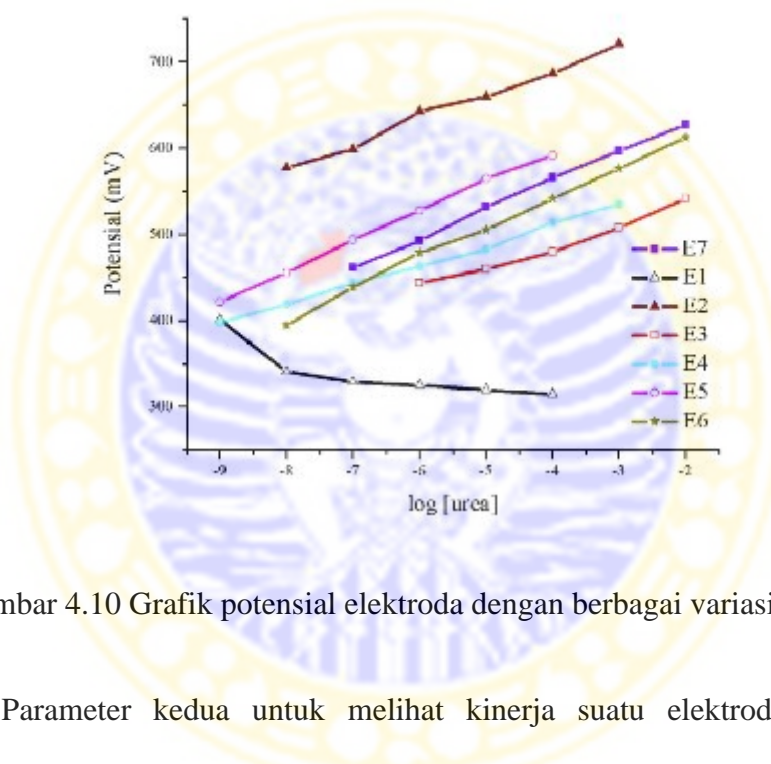
konsentrasi 10^{-10} M hingga 10^{-1} M. Perhitungan untuk membuat larutan kerja urea dapat dilihat pada Lampiran 1. Dari hasil pengukuran ketujuh elektroda tersebut diperoleh faktor Nernst, jangkauan pengukuran, dan linieritas dengan nilai yang berbeda-beda dari tiap elektroda. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan perhitungan selengkapnya ditampilkan pada Lampiran 2.

Tabel 4.2 Pengaruh komposisi karbon nanopori dan MIP terhadap potensial urea

Elektroda	Karbon nanopori (% wt)	MIP (% wt)	Parafin (% wt)	Faktor Nernst (mV/dekade)	Jangkauan pengukuran (M)	r
E1	50	Polimer kontrol 15%	35	-14,2	10^{-9} - 10^{-4}	-0,833
E2	60	5	35	28,45	10^{-8} - 10^{-3}	0,994
E3	58	7	35	24,4	10^{-5} - 10^{-2}	0,988
E4	55	10	35	22,857	10^{-9} - 10^{-3}	0,998
E5	50	15	35	34,6	10^{-9} - 10^{-4}	0,999
E6	45	20	35	35,46	10^{-8} - 10^{-2}	0,998
E7	40	25	35	33,45	10^{-7} - 10^{-2}	0,999

Kinerja suatu elektroda ditentukan oleh beberapa parameter antara lain harga faktor Nernst, jangkauan pengukuran, dan linieritas. Faktor Nernst merupakan salah satu parameter yang menunjukkan sensitivitas dan selektivitas dari elektroda. Elektroda dikatakan baik apabila memiliki faktor Nernst yang mendekati nilai teoritis, yaitu 59,1 mV/dekade untuk molekul monovalen seperti urea. Dari hasil pengukuran dapat diketahui bahwa faktor Nernst yang paling mendekati nilai teoritis adalah pada komposisi elektroda E6, dengan faktor Nernst sebesar 35,46 mV/dekade. Nilai ini masih jauh dari nilai idealnya yaitu 59,1 mV/dekade, namun nilai ini jauh lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian

sebelumnya yang dilakukan oleh Nazaruddin (2007) dengan menggunakan biopolimer kitin sebagai matriks amobilisasi enzim urease pada elektroda pH dimana dari penelitian tersebut faktor Nernst yang diperoleh adalah 19,11 mV/dekade. Grafik dari elektroda E1-E7 ditunjukkan pada Gambar 4.10 dan data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 4.10 Grafik potensial elektroda dengan berbagai variasi komposisi

Parameter kedua untuk melihat kinerja suatu elektroda adalah dari linieritas. Linieritas menunjukkan sensitivitas suatu alat atau metode yang digunakan dalam pengukuran. Pada pengukuran potensiometri, linieritas ditunjukkan oleh perbedaan potensial yang signifikan dengan penambahan konsentrasi. Semakin linier suatu fungsi memiliki makna bahwa alat atau metode tersebut mempunyai respon yang baik. Linieritas ditunjukkan oleh harga koefisien korelasi (r). Dengan melihat data di atas, elektroda E4, E5, E6, dan E7 mempunyai faktor korelasi yang mendekati 1, yang menunjukkan bahwa keempat

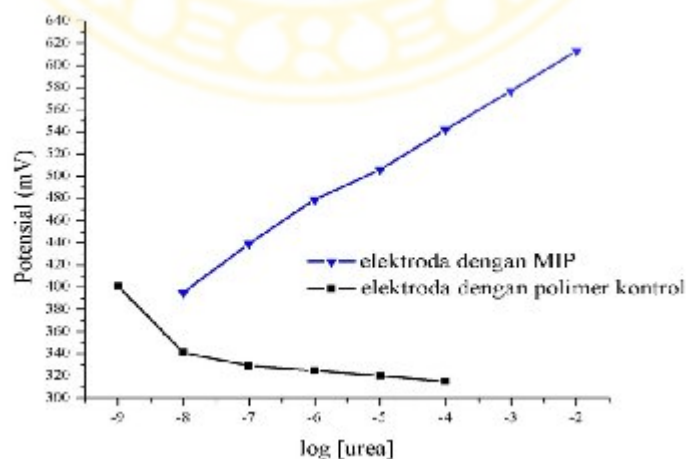
elektroda tersebut memiliki sensitivitas yang tinggi. Namun jika melihat harga faktor Nernst maka elektroda E6 adalah elektroda yang lebih baik.

Jangkauan pengukuran dari elektroda juga perlu diperhatikan. Nilai jangkauan pengukuran ditentukan dari kurva yang masih memberikan garis lurus. Elektroda optimum diharapkan memiliki jangkauan pengukuran yang luas. Dari hasil penelitian diperoleh jangkauan pengukuran berkisar 10^{-8} – 10^{-2} M. Hasil ini lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian Nazaruddin (2007) yang hanya memberikan jangkauan 10^{-8} – 10^{-4} M.

Dengan memperhatikan ketiga parameter pengukuran yaitu faktor Nernst, linieritas, dan jangkauan pengukuran, maka diperoleh elektroda optimum yang memiliki komposisi perbandingan karbon nanopori dan MIP sebesar 45:20, yaitu elektroda E6. Elektroda tersebut memiliki faktor Nernst 35,46 mV/dekade, jangkauan pengukuran 10^{-8} – 10^{-2} M, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,998.

Material penyusun elektroda baik karbon nanopori maupun MIP memberikan respon potensial dalam pengukuran. Fungsi karbon nanopori adalah untuk menyampaikan respon potensial melalui kawat perak (Ag) menuju potensiometer sehingga respon potensial tersebut dapat terbaca. MIP bertindak sebagai reseptor analit yang selektif terhadap molekul tertentu yang sesuai dengan cetakan yang terbentuk. Sedangkan parafin pada badan elektroda hanya sebagai pengisi supaya komposisi karbon nanopori dan MIP tidak terlalu banyak. Pengisian parafin diusahakan harus benar-benar padat agar di dalamnya tidak ada rongga udara, karena adanya udara dapat mempengaruhi respon potensial.

Banyaknya MIP yang ditambahkan pada komposisi elektroda mempengaruhi tingkat selektivitas karena banyaknya MIP menentukan jumlah sisi pengenalan yang aktif terhadap molekul analit. Semakin banyak sisi pengenalan yang aktif, semakin tinggi pula selektivitasnya. Namun dari penelitian dapat diketahui bahwa penambahan MIP di atas 20% menunjukkan respon yang kurang bagus. Hal ini dimungkinkan karena membran menjadi kaku (kurang lentur) sehingga sensor memberikan respon yang lemah (Qin *et al.*, 2009). Dari hasil penelitian juga menunjukkan bahwa elektroda yang menggunakan MIP memberikan respon potensial yang jauh lebih baik jika dibandingkan dengan elektroda yang menggunakan polimer kontrol. Hal ini disebabkan karena pada polimer kontrol hanya terdapat poli(asam metakrilat) yang tidak memiliki sisi pengenalan terhadap molekul urea, sehingga elektroda ini memberikan respon potensial yang kurang baik. Grafik perbandingan respon yang dihasilkan dari elektroda yang menggunakan MIP dan menggunakan polimer kontrol ditunjukkan pada Gambar 4.11.

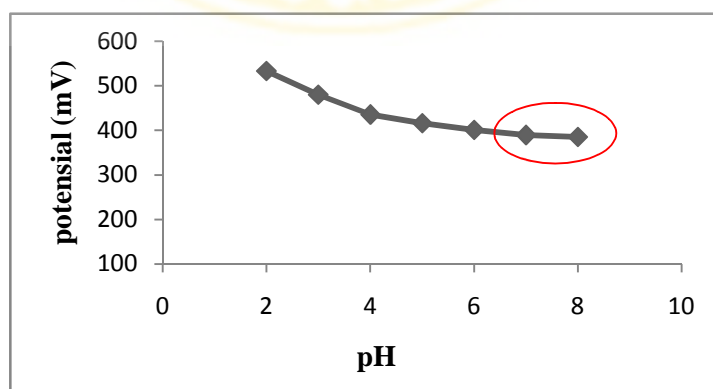


Gambar 4.11 Perbandingan respon potensial elektroda dengan polimer kontrol dan elektroda dengan MIP

4.4.2 Optimasi pH

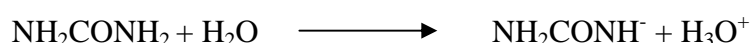
Untuk melakukan pengukuran, hal yang perlu diperhatikan adalah kondisi dari larutan analit yang akan diukur. Kondisi tersebut antara lain pH larutan dan temperatur. Kondisi pengukuran yang berbeda dimungkinkan akan memberikan respon yang berbeda pula. Pada penelitian ini hanya dilakukan optimasi terhadap pH larutan analit untuk mengetahui respon potensial yang dihasilkan ketika urea berada pada kondisi asam, netral, dan basa. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan pH dengan jangkauan antara 2 hingga 8.

Dalam penelitian ini pengukuran hanya dilakukan pada larutan urea dengan konsentrasi 10^{-3} M dengan asumsi bahwa larutan urea dengan konsentrasi yang lain juga akan menunjukkan respon yang serupa. Gambar 4.12 menunjukkan pengaruh pH terhadap potensial larutan urea. Untuk data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan kurva optimasi pH tersebut diketahui bahwa perubahan pH dapat mempengaruhi respon potensial yang dihasilkan. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pH optimum untuk pengukuran urea secara potensiometri dengan elektroda pasta karbon adalah berkisar antara pH 7–8.



Gambar 4.12 Pengaruh pH terhadap potensial larutan urea pada konsentrasi 10^{-3} M menggunakan elektroda E6

Urea merupakan molekul netral, namun di dalam air urea dapat terdekomposisi menghasilkan kation urea (ion positif) maupun anion urea (ion negatif). Sehingga urea dapat bersifat asam maupun bersifat basa ketika dilarutkan dalam air. Reaksi yang terjadi sebagai berikut.



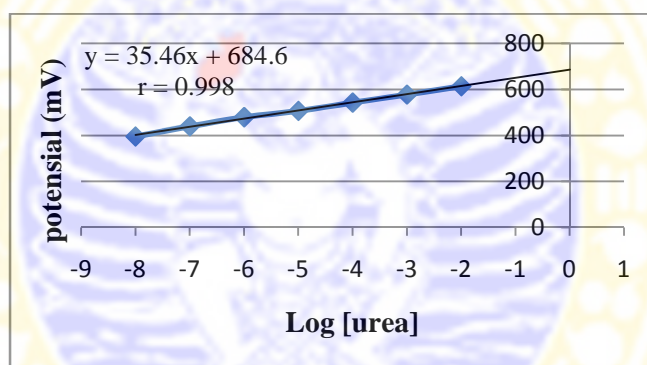
Larutan urea cenderung bersifat basa, dimana dari pengukuran pH-meter diketahui bahwa pH larutan urea lebih tinggi dibandingkan pH air yang netral. Secara umum urea yang terlarut dalam air memiliki pH sekitar 7,2 (EPA, 2011). Dari kurva tampak pada pH <7 respon potensial meningkat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kestabilan urea berada pada bentuk kationnya yaitu $\text{NH}_2\text{CONH}_3^+$.

4.5 Kurva Kalibrasi Urea

Pembuatan kurva kalibrasi urea diperoleh dari pengukuran potensial larutan urea pada konsentrasi 10^{-10} – 10^{-1} M pada pH optimum yaitu pH 7 dengan menggunakan elektroda E6 yang merupakan elektroda optimum. Data pengukuran ditunjukkan pada Tabel 4.3. Dari data tersebut selanjutnya dibuat kurva dengan mengambil kurva yang memberikan garis lurus sebagai kurva kalibrasi urea dimana akan ditunjukkan pada Gambar 4.13. Kurva kalibrasi yang diperoleh memiliki range konsentrasi antara 10^{-8} M hingga 10^{-2} M.

Tabel 4.3 Data pengukuran urea menggunakan elektroda E6 pada pH 7

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	382
10^{-9}	368
10^{-8}	395
10^{-7}	439
10^{-6}	479
10^{-5}	506
10^{-4}	542
10^{-3}	577
10^{-2}	613
10^{-1}	636



Gambar 4.13 Kurva kalibrasi urea

4.6 Uji Kinerja Elektroda

4.6.1 Jangkauan pengukuran

Jangkauan pengukuran merupakan rentang antara konsentrasi terendah dan konsentrasi tertinggi analit dalam suatu sampel yang memiliki linieritas yang diinginkan. Elektroda yang baik akan memiliki jangkauan pengukuran yang luas. Pada penelitian ini jangkauan pengukuran ditentukan dari beberapa elektroda yang memiliki faktor Nernst dan linieritas yang paling baik, yakni ditentukan dari elektroda E5, E6 dan E7 pada range konsentrasi yang berbeda-beda.

Dari hasil perhitungan diperoleh jangkauan pengukuran 10^{-8} – 10^{-2} M dari elektroda E6 yang memiliki faktor Nernst 35,46 mV/dekade. Data selengkapnya ditunjukkan pada Tabel 4.4. Sedangkan analisis perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 4.4 Jangkauan pengukuran untuk elektroda E5, E6, dan E7

Elektroda	Konsentrasi (M)	Regresi	Faktor Nernst	r
E5	10^{-9} - 10^{-3}	$y = 32,179x + 716,64$	32,179	0,994
	10^{-9} - 10^{-4}	$y = 34,6x + 734,4$	34,6	0,999
E6	10^{-8} - 10^{-2}	$y = 35,46x + 684,6$	35,46	0,998
	10^{-7} - 10^{-2}	$y = 34,28x + 680,2$	34,28	0,999
E7	10^{-8} - 10^{-2}	$y = 32,82x + 694,3$	32,82	0,999
	10^{-7} - 10^{-2}	$y = 33,45x + 696,7$	33,45	0,999

4.6.2 Batas deteksi

Batas deteksi menunjukkan konsentrasi terkecil dari analit yang masih dapat dideteksi oleh alat, dalam hal ini adalah potensiometer. Nilai batas deteksi dapat diperoleh dengan menentukan titik potong antara garis linier dengan garis non linier dari kurva standar. Dari hasil penelitian diperoleh limit deteksi sebesar 2×10^{-8} M. Nilai tersebut menunjukkan bahwa elektroda pasta karbon/MIP baik untuk digunakan karena memiliki batas deteksi yang rendah. Untuk data perhitungan selengkapnya ditunjukkan pada Lampiran 6.

4.6.3 Akurasi

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan oleh besarnya persen perolehan kembali (*recovery*). Nilai persen *recovery* yang dapat diterima berada pada *range*

95–105% (Walfish, 2006). Untuk penentuan akurasi pada penelitian ini digunakan larutan urea dengan konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-4} M. Berdasarkan analisis perhitungan maka diperoleh persen *recovery* masing-masing sebesar 84% dan 95,3%. Tabel 4.5 menunjukkan data akurasi pengukuran, sedangkan analisis perhitungan selengkapnya ditunjukkan pada Lampiran 7.

Tabel 4.5 Akurasi pengukuran

Konsentrasi (M)	Potensial (mV)	Akurasi (% <i>recovery</i>)
10^{-4}	542	95,3 %
10^{-2}	611	84 %

Dari data tersebut terlihat bahwa akurasi yang didapat pada larutan dengan konsentrasi 10^{-4} M lebih tinggi dibandingkan dengan larutan konsentrasi 10^{-2} M. Nilai akurasi larutan dengan konsentrasi 10^{-4} M tampak berada dalam *range* yang ditolerir. Hal itu menunjukkan bahwa elektroda karbon nanopori/MIP baik digunakan untuk pengukuran larutan urea yang memiliki konsentrasi rendah.

4.6.4 Presisi (ketelitian)

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian dari hasil pengukuran yang dilakukan secara berulang-ulang pada sampel yang sama. Presisi dibagi menjadi 3 kategori yaitu *repeatability*, presisi *intermediate*, dan *reproducibility* (ICH, 1995). Pada penelitian ini hanya dilakukan penentuan presisi pada kategori *repeatability*, yaitu pengukuran menggunakan metode yang dilakukan berulang-ulang oleh analis yang sama, pada kondisi yang sama, dan dalam interval waktu yang pendek.

Untuk menentukan presisi pada penelitian ini digunakan larutan urea dengan konsentrasi 10^{-4} M dan 10^{-2} M dengan pengulangan pengukuran sebanyak 3 kali. Nilai presisi dapat ditentukan dengan menghitung simpangan baku (standar deviasi/SD) dan koefisien variasi (KV) dari harga potensial masing-masing larutan. Hasil pengulangan dinyatakan memiliki presisi yang baik apabila selisih hasil pengukuran pertama dan pengukuran berikutnya sangat kecil. Pada potensiometri, presisi yang baik yaitu dengan nilai KV 1-3% (Taylor, 1994). Semakin kecil nilai presisi menunjukkan semakin teliti pengukuran yang dilakukan. Data perhitungan selengkapnya ditunjukkan pada Lampiran 8.

Tabel 4.6 Koefisien variasi pengukuran

Konsentrasi (M)	Potensial (mV)			Standar deviasi (SD)	Koefisien variasi (% KV)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
10^{-4}	542	548	554	6	1,095
10^{-2}	611	609	614	2,517	0,412

4.6.5 Selektivitas

Selektivitas suatu metode merupakan kemampuan metode tersebut yang hanya dapat mengukur analit secara cermat dimana analit tersebut berada bersama-sama dengan komponen lain dalam sampel. Untuk uji selektivitas elektroda karbon nanopori/MIP yang telah dibuat, maka dilakukan pengukuran terhadap molekul-molekul pengganggu yaitu asam urat dan kreatinin, dimana kedua molekul juga berada dalam serum darah bersama-sama dengan molekul

urea. Pengukuran larutan pengganggu dilakukan pada konsentrasi 10^{-2} M. Perhitungan untuk membuat larutan pengganggu dapat dilihat pada Lampiran 9.

Selektivitas dapat ditentukan melalui perhitungan koefisien selektivitas ($k_{i,j}^{pot}$). Nilai koefisien selektivitas molekul-molekul pengganggu ditampilkan pada Tabel 4.7 dan perhitungan selengkapnya pada Lampiran 10.

Tabel 4.7 Harga koefisien selektivitas

Molekul pengganggu	Koefisien selektivitas
Asam urat	3×10^{-7}
Kreatinin	$4,45 \times 10^{-8}$

Jika nilai $K_{i,j} < 1$, maka elektroda bersifat selektif terhadap ion utama daripada ion pengganggu. Untuk nilai $K_{i,j} > 1$, maka elektroda lebih selektif terhadap ion pengganggu daripada ion utama (Cattral, 1997). Melihat hasil yang diperoleh dari pengukuran molekul-molekul pengganggu, maka elektroda karbon nanopori/MIP memiliki selektivitas yang tinggi terhadap pengukuran urea karena memiliki nilai $< 10^{-3}$.

4.7 Analisis Urea dalam Serum Darah

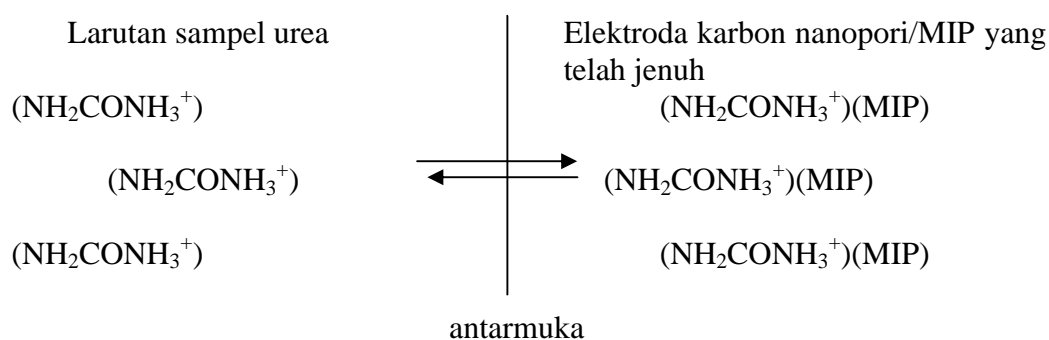
Untuk mengetahui kinerja elektroda karbon nanopori/MIP yang telah dibuat, maka selanjutnya elektroda tersebut diaplikasikan pada sampel serum darah yang diperoleh dari RSI Mabarrot, Gresik. Dari hasil pengukuran, potensial yang terukur sebesar 410 mV. Harga potensial tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi yang telah diperoleh dari kurva kalibrasi sehingga

didapatkan konsentrasi urea dalam sampel tersebut adalah $1,8 \times 10^{-8}$ M atau 0,0054 mg/dL. Analisis perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11.

Hasil yang diperoleh dari pengukuran masih jauh di bawah batas normal urea dalam darah. Apabila metode ini dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari analisis Rumah Sakit, menunjukkan hasil yang berbeda jauh, dimana hasilnya diperoleh sebesar 37,24 mg/dL. Hal ini dimungkinkan karena beberapa alasan antara lain karena kondisi serum yang berbeda dengan larutan kerja, kinerja elektroda yang sudah berkurang, dan pengaruh kestabilan alat dalam pengukuran.

4.8 Mekanisme Timbulnya Potensial

Nilai potensial yang diperoleh dari tiap pengukuran terjadi akibat adanya gangguan kesetimbangan larutan melalui antarmuka larutan-membran. Gangguan kesetimbangan terjadi antara molekul urea dalam larutan dengan urea/MIP yang terdapat pada elektroda. Urea yang berkesetimbangan dalam larutan berada pada bentuk ion positif ($\text{NH}_2\text{CONH}_3^+$). Agar timbul gangguan, maka elektroda harus terlebih dulu dijenuhkan sehingga dapat menghasilkan beda potensial. Kesetimbangan yang terjadi pada antarmuka elektroda dapat ditunjukkan pada gambar 4.14.



Gambar 4.14 Kesetimbangan di dalam elektroda

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Telah berhasil dibuat elektroda potensiometri berbasis karbon nanopori/MIP sebagai sensor urea dalam serum darah. Elektroda ini mempunyai komposisi optimum karbon nanopori, MIP, dan parafin dengan perbandingan berturut-turut 40:25:35 dengan pengukuran terbaik pada pH 7–8.
2. Elektroda karbon nanopori/MIP yang diperoleh mempunyai faktor Nernst sebesar 35,46 mV/decade, batas deteksi sebesar 2×10^{-8} M, dan jangkauan pengukuran sebesar 10^{-8} M– 10^{-2} M. Sedangkan akurasi pengukuran untuk konsentrasi 10^{-4} M dan 10^{-2} M adalah 95,3% dan 84%. Presisi pengukuran yang dinyatakan dengan koefisien variasi untuk konsentrasi 10^{-4} M dan 10^{-2} M adalah 1,095% dan 0,412%, serta koefisien selektivitas molekul asam urat dan kreatinin masing-masing sebesar 3×10^{-7} dan $4,45 \times 10^{-8}$.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimasi kondisi dan komposisi pembuatan MIP sehingga dapat menghasilkan MIP yang lebih selektif

2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dalam optimasi elektroda dengan menggunakan kawat terlapis Ag/AgCl untuk menghasilkan respon potensial yang lebih baik.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui *life-time* elektroda karbon nanopori/MIP supaya diketahui waktu maksimum penggunaan elektroda dalam memperoleh respon yang baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Aripin, 2007, **Preparasi dan Karakterisasi Karbon Aktif Magnetik Nanopori**, *Jurnal Fisika dan Aplikasinya*, Vol. 3, No. 1
- Bakker, Eric, *et al.*, 1997, **Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes**, **1 General characteristic**, *American Chemical society*, America
- Basset, J., Denney, R.C., Jeffery, G.H., Mendham, J., 1991, *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*, Alih Bahasa: A. Hadyana P dan Ir. L. Setiono, Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Billmeyer, Fred W., 1984, *Textbook of Polymer Science*, third edition, John Wiley & Sons, New York
- Bobacka, J., 1999, **Potential Stability of All-Solid-State Ion Selective Electrodes Using Conducting Polimers as Ion-to-Electron Transducers**, *Analitical Chemistry*, 71, 4932-4937
- Brüggemann, Oliver, 2002, *Molecularly Imprinted Materials-Receptors More Durable than Nature Can Provide*, Springer-Verlag Heidelberg, Berlin, Germany
- Catral, R.W., 1997, *Chemical Sensors*, Oxford University Press, New York
- Chan, C. C., Herman L., Y. C. Lee, Xue-Ming Z., 2004, *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, John Wiley & Sons, Inc.
- Cowd, M.A., 1991, *Kimia Polimer*, ITB, Bandung
- Davey, Patrick, 2005, *At a Glance Medicine*, alih bahasa oleh dr. Annisa Rahmalia, Jakarta, Erlangga
- Day, J.R., and Underwood, A.L., 1986, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi kelima, Penerjemh Aloysius Hadyana Pujaatmaka, Ph.D., Prentice Hall, Erlangga, Jakarta
- Deglin, J.H., 2004, *Pedoman Obat untuk Perawat*, edisi 4, alih bahasa oleh H.Y. Kuncara dan Palupi Widyastuti, EGC, Jakarta
- EPA, 2011, *Toxicological Review of Urea*, CAS No.57-13-6, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC

- Evans, A., 1987, *Potentiometry and Ion Selective Electrode*, John Wiley and Sons, New York
- Harmita, 2004, **Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya**, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No. 3, 117-135
- Holme, David J., 1993, *Analytical Biochemistry*, second edition, John Wiley & Sons inc., New York
- Holum, John R., 1990, *Fundamentals of general, organic, and biological chemistry*, 4th ed., John Wiley & Sons, Inc.
- [ICH] International Conference on Harmonization, 1995, **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)**, *European Medicines Agency*
- Jankowska, H., Swatkowski, A. and Choma, J., 1991, *Active Carbon*, Ellis Horwood, New York.
- Kan, X., Tingting, L., Hong, Z., Chen, L., Bin, F., 2010, **Molecular Imprinting Polymer Electrode Sensor Based on Gold Nanoparticles for Theophylline Recognition and Determination**, *Microchim Acta*, 171:423–429
- Khadro, B., Corinne, S., Anne B., Abdelhamid E., Nicole J.R., 2010, **Molecularly Imprinted Polymers (MIP) Based Electrochemical Sensor for Detection of Urea and Creatinine**, *Procedia Engineering* 5 : 371–374
- Khairi, 2003, **Pembuatan Biosensor Urea dengan Transduser Tembaga**, *Jurnal Sains Kimia*, Vol. 7, No.2 : 40-43
- Khairi, 2005, **Perbandingan Metode Potensiometri Menggunakan Biosensor urea dengan Metode Spektrofotometri untuk Penentuan Urea**, *Jurnal Sains Kimia*, Vol. 9, No. 2 : 68-72
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Penerjemah: A.Saptorahardjo, Universitas Indonesia, Jakarta
- Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., Asanuma, H., 2003, *Molecular Imprinting from Fundamental to Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- Lehninger, Albert L., 1982, *Dasar-dasar biokimia, jilid 2*, Alih bahasa: Maggy thenawidjaja, Erlangga, Jakarta
- Lu, F., Liyan W., Fuquan W., Xiaofang Y., Ren'ao G., Jianlin Y., Hailu Z., Zongwu D., 2011, **Evaluation of the Binding Specificity of Electrosynthesized Poly-Ortho-Phenylenediamine Molecularly Imprinted with Metal Chelates**, *Microchim Acta*, 174:47–54

- Miller, J.C., and Miller, J.N., 1998, *Statistics for Analytical Chemistry*, Second Edition, John Wiley & Sons, New York
- Montgomery, R. *et al.*, 1993, *BIOKIMIA: Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus*. Penerjemah: Prof. Dr. M. Ismadi, Gadjah mada university press, Yogyakarta
- Munk, P., Qin, A., Tian, M., Ramireddy, Webber, S.E., 1994, **Polystyrene-Poly (methacrylic acid) Block Copolymer Micelles**, *Macromolecules*, 27: 120-126
- Nazaruddin, 2007, **Biosensor Urea Berbasis Biopolimer Khitin sebagai Matriks Immobilisasi**, *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, Vol. 6, No. 1, hal. 41-44
- Nicholson, J.W., 2006, *The Chemistry of Polymer*, third edition, The Royal Society of Chemistry, UK
- Panpae, K., Sutanai, K., and Amornrat, C., 2006, *Development of a Urea Potentiometric Biosensor Based on Gelatin-Immobilized Urease*, *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 40 : 74 – 81
- Pitriana, P., Norman S., dan Fitrilawati, 2011, **Pembuatan dan Karakterisasi Polimer Hibrid Poli(Trimetoksisilil Propil Metakrilat)**, *Jurnal Material dan Energi Indonesia*, Vol. 01, No. 03: 167-172
- Qin, W., Liang, R., Zhang, R., 2009, **Potentiometric Sensor based on Molecularly Imprinted Polymer for Determination of Melamine in Milk**, *Sensor and Actuators B*, 141: 544-550
- Rubenstein, David. Et al., 2007, *Lecture Notes: Kedokteran Klinis*, edisi keenam, alih bahasa oleh dr. Annisa Rahmalia, Erlangga Medical Series
- Schweiger, B., Lucile B., Barbara P., and Ute S., 2009, *Development of Molecular Imprinted Polymers (MIPs) for the Selective Removal of Carbamazepine from Aqueous Solution*, *World Academy of Science, Engineering and Technology* 54
- Skoog, D.A., 2007, *Principles of Instrumental Analysis*, CBS College Publishing, USA
- Sperling, L. H., 2006, *Introduction to Physical Polymer Science*, John Wiley & Sons, Inc.
- Svehla, G., 1985, *Vogel, Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, edisi kelima, PT. Kalman Media Pusaka, Jakarta

- Taylor, Larry. R., Papp, Richard. B., and Pollard, Bruce. D., 1994, *Instrumental methods for determining elements*, VCH Publishers, Inc., New York.
- Tehrani, M.S., Vardini, M.T., Azar, P.A., Husain, S.W., 2009, **Molecularly Imprinted Polymer Based PVC-Membrane-Coated Graphite Electrode for the Determination of Metoprolol**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 5: 88-104
- Tilstone, William J., 2006, *Forensic Science: An Encyclopedia of History, Method, and Techniques*, ABC-CLIO Inc, California
- Ursula, E., Spichiger K., 1998, *Chemical Sensor and Biosensor for Medical and Biological Application*, Wiley-VCH Verlag GmbH
- Walfish, Steven, 2006, **Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation on Analytical Methods**, *BioPharm International*
- Williams, Dudley H., 1980, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, Third edition*, Mc Graw-Hill Book Company (UK) Limited

LAMPIRAN 1**Pembuatan larutan induk dan larutan kerja urea**

1. Pembuatan larutan induk 10^{-1} M

$$M = \frac{n}{V}$$

$$10^{-1} = \frac{n}{L} \rightarrow n = \frac{g}{Mr}$$

$$10^{-1} = \frac{g}{60,06}$$

$$g = 6,006 \text{ g/1000 mL}$$

$$= 0,6006 \text{ g/100 mL}$$

2. Pembuatan larutan kerja 10 mL dengan konsentrasi 10^{-10} - 10^{-2} M

- a. Konsentrasi 10^{-2} M

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1.(10^{-1}) = (10).(10^{-2})$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- b. Konsentrasi 10^{-3} M

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1.(10^{-2}) = (10).(10^{-3})$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- c. Konsentrasi 10^{-4} M

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1.(10^{-3}) = (10).(10^{-4})$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- d. Konsentrasi 10^{-5} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-4}) = (10).(10^{-5})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- e. Konsentrasi 10^{-6} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-5}) = (10).(10^{-6})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- f. Konsentrasi 10^{-7} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-6}) = (10).(10^{-7})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- g. Konsentrasi 10^{-8} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-7}) = (10).(10^{-8})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- h. Konsentrasi 10^{-9} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-8}) = (10).(10^{-9})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- i. Konsentrasi 10^{-10} M
 $V_1M_1 = V_2M_2$
 $V_1.(10^{-9}) = (10).(10^{-10})$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$

LAMPIRAN 2**Perhitungan faktor Nernst, persamaan regresi, dan faktor korelasi masing-masing elektroda**Elektroda 1

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-9	401	-3609	81	-2.5	62.5	-156.25	6.25	3906.25
-8	341	-2728	64	-1.5	2.5	-3.75	2.25	6.25
-7	329	-2303	49	-0.5	-9.5	4.75	0.25	90.25
-6	325	-1950	36	0.5	-13.5	-6.75	0.25	182.5
-5	320	-1600	25	1.5	-18.5	-27.75	2.25	342.25
-4	315	-1260	16	2.5	-23.5	-58.75	6.25	552.25
Σ	2031	-13450	271	0	0	-248.5	17.5	5079.75

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6 \cdot -13450 - (2031)}{6(271) - (1521)}$$

$$b = \frac{-1491}{105}$$

$$b = -14,2$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(2031) - (-14,2)(-39)}{6}$$

$$a = \frac{1477,2}{6}$$

$$a = 246,2$$

persamaan regresi $y = -14,2x + 246,2$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{-248,5}{\{(17,5)(5079,75)\}^{-1/2}}$$

$$r = 0,833$$

Elektroda 2

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-8	578	-4624	64	-2.5	-70	175	6.25	4900
-7	599	-4193	49	-1.5	-49	73.5	2.25	2401
-6	643	-3858	36	-0.5	-5	2.5	0.25	25
-5	660	-3300	25	0.5	12	6	0.25	144
-4	687	-2748	16	1.5	39	58.5	2.25	1521
-3	721	-2163	9	2.5	73	182.5	6.25	5329
Σ	3888	-20886	199	-5.5	0	498	17.5	14320

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6(-20886) - (-33)(3888)}{6(199) - (1089)}$$

$$b = \frac{2988}{105}$$

$$b = 28,45$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3888) - (28,45)(-33)}{6}$$

$$a = \frac{4826,85}{6}$$

$$a = 804,5$$

persamaan regresi $y = 28,45x + 804,5$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

$$r = \frac{498}{\{(17.5)(14320)\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = 0,994$$

Elektroda 3

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-6	444	-2664	36	-2	-42.8	85.6	4	1831.84
-5	460	-2300	25	-1	-26.8	26.8	1	718.24
-4	480	-1920	16	0	-6.8	0	0	46.24
-3	508	-1524	9	1	21.2	21.2	1	449.44
-2	542	-1084	4	2	55.2	110.4	4	3047.04
Σ	2434	-9492	90	0	0	244	10	6092.8

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(-9492) - (-20)(2434)}{5(90) - (400)}$$

$$b = \frac{1220}{50}$$

$$b = 24,4$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(2434) - (24,4)(-20)}{5}$$

$$a = \frac{2922}{5}$$

$$a = 584,4$$

persamaan regresi $y = 24,4x + 584,4$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{244}{\sqrt{\{(10)(6092,8)\}^2}}$$

$$r = 0,988$$

Elektroda 4

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-9	398	-3582	81	-3	-67.1	201.3	9	4502.41
-8	419	-3352	64	-2	-46.1	92.2	4	2125.21
-7	444	-3108	49	-1	-21.1	21.1	1	445.21
-6	463	-2778	36	0	-2.1	0	0	4.41
-5	483	-2415	25	1	17.9	17.9	1	320.41
-4	514	-2056	16	2	48.9	97.8	4	2391.21
-3	535	-1605	9	3	69.9	209.7	9	4886.01
Σ	3256	-18896	280	0	0	640	28	14674.87

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7(-18896) - (-42)(3256)}{7(280) - (1764)}$$

$$b = \frac{4480}{196}$$

$$b = 22,857$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3256) - (22,857)(-42)}{7}$$

$$a = \frac{4215,994}{7}$$

$$a = 602,29$$

persamaan regresi $y = 22,857x + 602,29$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{640}{\sqrt{(28)(14674,87)}} = 0,998$$

Elektroda 5

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-9	422	-3798	81	-2.5	-87.5	218.75	6.25	7656.25
-8	456	-3648	64	-1.5	-53.5	80.25	2.25	2862.25
-7	494	-3458	49	-0.5	-15.5	7.75	0.25	240.25
-6	528	-3168	36	0.5	18.5	9.25	0.25	342.25
-5	565	-2825	25	1.5	55.5	83.25	2.25	3080.25
-4	592	-2368	16	2.5	82.5	206.25	6.25	6806.25
Σ	3057	-19265	271	0	0	605.5	17.5	20987.5

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6(-19265) - (-39)(3057)}{6(271) - (1521)}$$

$$b = \frac{3633}{105}$$

$$b = 34,6$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3057) - (34,6)(-39)}{6}$$

$$a = \frac{4406,4}{6}$$

$$a = 734,4$$

persamaan regresi $y = 34,6x + 734,4$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{605,5}{\sqrt{\{(17,5)(20987,5)\}^2}}$$

$$r = 0,999$$

Elektroda 6

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-8	395	-3160	64	-3	-112.3	336.9	9	12611.29
-7	439	-3073	49	-2	-68.3	136.6	4	4664.89
-6	479	-2874	36	-1	-28.3	28.3	1	800.89
-5	506	-2530	25	0	-1.3	0	0	1.69
-4	542	-2168	16	1	34.7	34.7	1	1204.09
-3	577	-1731	9	2	69.7	139.4	4	4858.09
-2	613	-1226	4	3	105.7	317.1	9	11172.49
Σ	3551	-16762	203	0	-0.1	993	28	35313.43

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7 \cdot -16762 - (-35) \cdot (3551)}{7(203) - (1225)}$$

$$b = \frac{6951}{196}$$

$$b = 35,46$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3551) - (35,46)(-35)}{7}$$

$$a = \frac{4792,1}{7}$$

$$a = 684,6$$

persamaan regresi $y = 35,46x + 684,6$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{993}{\sqrt{(28)(35313.43)}} = 0,998$$

Elektroda 7

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-7	462	-3234	49	-2.5	-84.16	210.4	6.25	7082.906
-6	493	-2958	36	-1.5	-53.16	79.74	2.25	2825.986
-5	532	-2660	25	-0.5	-14.16	7.08	0.25	200.5056
-4	566	-2264	16	0.5	19.84	9.92	0.25	393.6256
-3	597	-1791	9	1.5	50.84	76.26	2.25	2584.706
-2	627	-1254	4	2.5	80.84	202.1	6.25	6535.106
Σ	3277	-14161	139	0	0.04	585.5	17.5	19622.83

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6(-14161) - (-27)(3277)}{6(139) - (-27)^2}$$

$$b = \frac{3513}{105}$$

$$b = 33,45$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3277) - (33,45)(-27)}{6}$$

$$a = \frac{4180,15}{6}$$

$$a = 696,7$$

persamaan regresi $y = 33,45x + 696,7$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

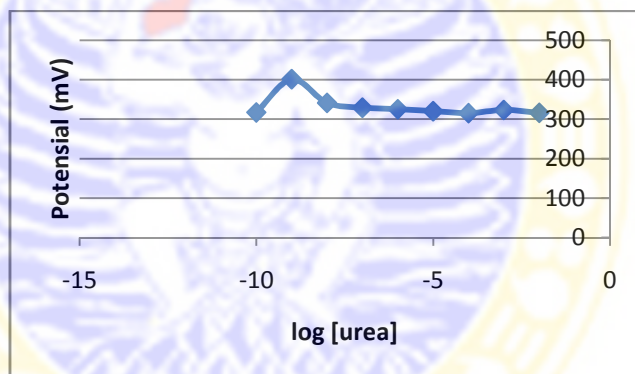
$$r = \frac{585.5}{\sqrt{\frac{1}{(17,5)(19622.83)}}}$$
$$r = 0,999$$



LAMPIRAN 3**Data dan grafik masing-masing elektroda**

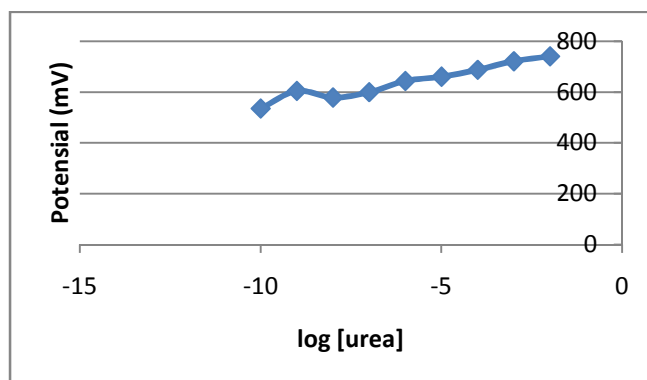
1. Elektroda E1

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	317
10^{-9}	401
10^{-8}	341
10^{-7}	329
10^{-6}	325
10^{-5}	320
10^{-4}	315
10^{-3}	323
10^{-2}	316



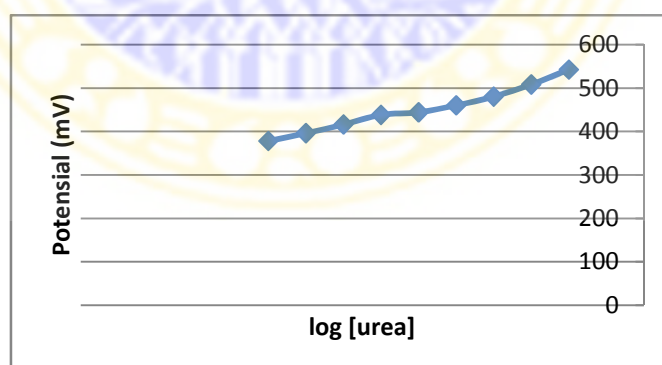
2. Elektroda E2

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	535
10^{-9}	604
10^{-8}	578
10^{-7}	599
10^{-6}	643
10^{-5}	660
10^{-4}	687
10^{-3}	721
10^{-2}	740



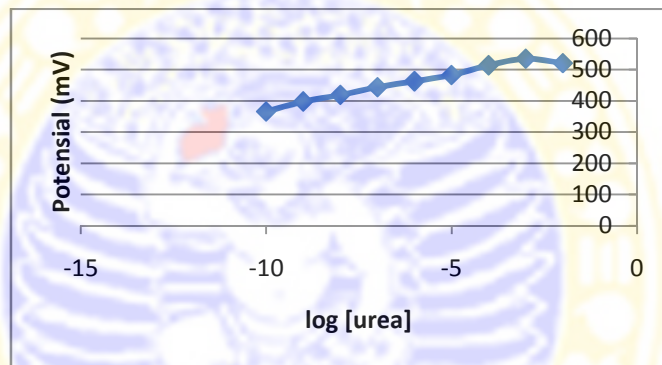
3. Elektroda E3

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	378
10^{-9}	396
10^{-8}	416
10^{-7}	438
10^{-6}	444
10^{-5}	460
10^{-4}	480
10^{-3}	508
10^{-2}	542



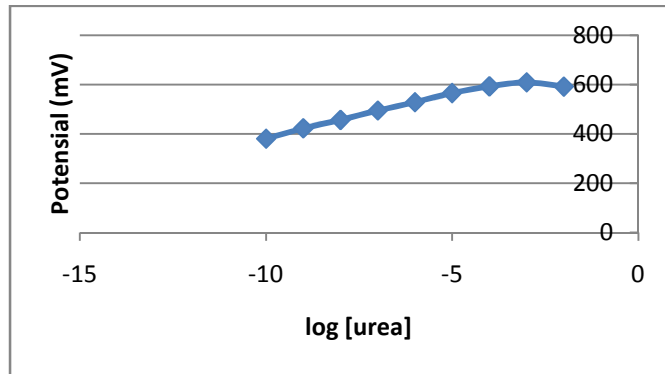
4. Elektroda E4

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	366
10^{-9}	398
10^{-8}	419
10^{-7}	444
10^{-6}	463
10^{-5}	483
10^{-4}	514
10^{-3}	535
10^{-2}	521



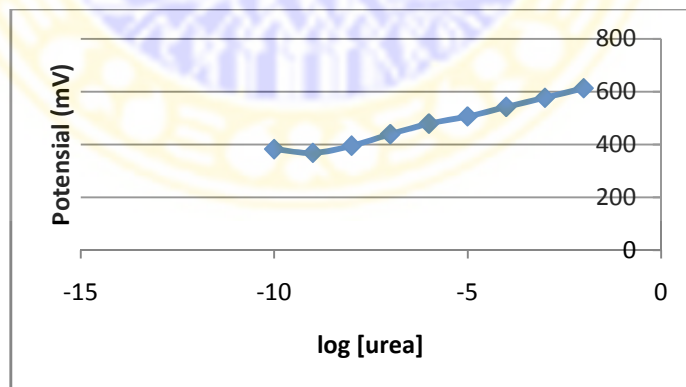
5. Elektroda E5

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	380
10^{-9}	422
10^{-8}	456
10^{-7}	494
10^{-6}	528
10^{-5}	565
10^{-4}	592
10^{-3}	608
10^{-2}	591



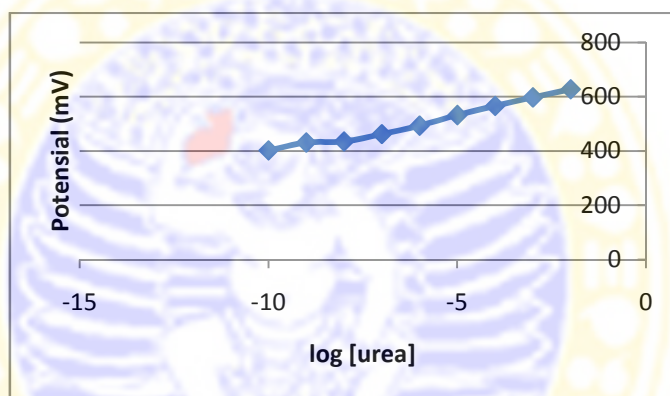
6. Elektroda E6

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	382
10^{-9}	368
10^{-8}	395
10^{-7}	439
10^{-6}	479
10^{-5}	506
10^{-4}	542
10^{-3}	577
10^{-2}	613



7. Elektroda E7

Konsentrasi urea (M)	Potensial (mV)
10^{-10}	402
10^{-9}	431
10^{-8}	435
10^{-7}	462
10^{-6}	493
10^{-5}	532
10^{-4}	566
10^{-3}	597
10^{-2}	627



LAMPIRAN 4**Pengaruh pH terhadap respon potensial**

pH	Potensial (mV)
2	533
3	480
4	435
5	416
6	401
7	389
8	385

LAMPIRAN 5**Analisis jangkauan pengukuran**Elektroda 51. Jangkauan pengukuran 10^{-9} M- 10^{-3} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-9	422	-3798	81	-3	-101.6	304.8	9	10322.56
-8	456	-3648	64	-2	-67.6	135.2	4	4569.76
-7	494	-3458	49	-1	-29.6	29.6	1	876.16
-6	528	-3168	36	0	4.4	0	0	19.36
-5	565	-2825	25	1	41.4	41.4	1	1713.96
-4	592	-2368	16	2	68.4	136.8	4	4678.56
-3	608	-1824	9	3	84.4	253.2	9	7123.36
Σ	3665	-21089	280	0	-0.2	901	28	29303.72

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7(-21089) - (-42)(3665)}{7(280) - (1764)}$$

$$b = \frac{6307}{196}$$

$$b = 32,17$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3665) - (32,17)(-42)}{7}$$

$$a = \frac{5016,14}{7}$$

$$a = 716,6$$

persamaan regresi $y = 32,17x + 716,6$

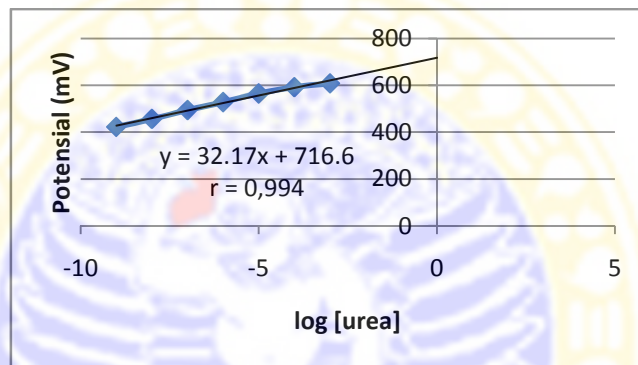
c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{901}{\{(28)(29303.72)\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = 0,994$$

d. Kurva

2. Jangkauan pengukuran 10^{-9} M- 10^{-4} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-9	422	-3798	81	-2.5	-87.5	218.75	6.25	7656.25
-8	456	-3648	64	-1.5	-53.5	80.25	2.25	2862.25
-7	494	-3458	49	-0.5	-15.5	7.75	0.25	240.25
-6	528	-3168	36	0.5	18.5	9.25	0.25	342.25
-5	565	-2825	25	1.5	55.5	83.25	2.25	3080.25
-4	592	-2368	16	2.5	82.5	206.25	6.25	6806.25
\sum	3057	-19265	271	0	0	605.5	17.5	20987.5

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6 \cdot -19265 - -39 \cdot (3057)}{6(271) - (1521)}$$

$$b = \frac{3633}{105}$$

$$b = 34,6$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3057) - (34,6)(-39)}{6}$$

$$a = \frac{4406,4}{6}$$

$$a = 734,4$$

persamaan regresi $y = 34,6x + 734,4$

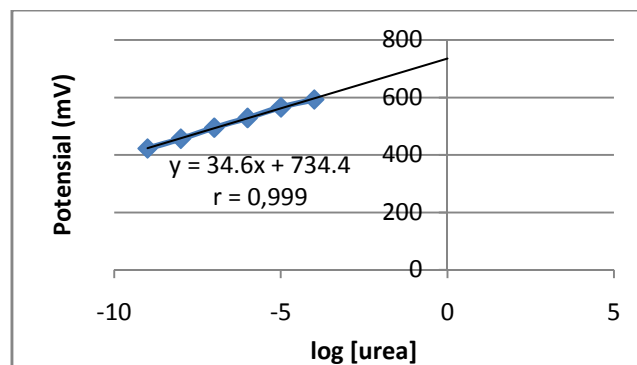
c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{605,5}{\{(17,5)(20987,5)\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = 0,999$$

d. Kurva



Elektroda 6

1. Jangkauan pengukuran 10^{-8} M- 10^{-2} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-8	395	-3160	64	-3	-112.3	336.9	9	12611.29
-7	439	-3073	49	-2	-68.3	136.6	4	4664.89
-6	479	-2874	36	-1	-28.3	28.3	1	800.89
-5	506	-2530	25	0	-1.3	0	0	1.69
-4	542	-2168	16	1	34.7	34.7	1	1204.09
-3	577	-1731	9	2	69.7	139.4	4	4858.09
-2	613	-1226	4	3	105.7	317.1	9	11172.49
Σ	3551	-16762	203	0	-0.1	993	28	35313.43

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7 \cdot -16762 - (-35) \cdot (3551)}{7(203) - (1225)}$$

$$b = \frac{6951}{196}$$

$$b = 35,46$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3551) - (35,46)(-35)}{7}$$

$$a = \frac{4792,1}{7}$$

$$a = 684,6$$

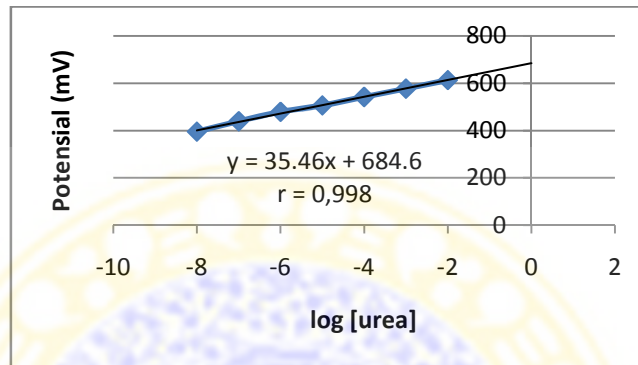
persamaan regresi $y = 35,46x + 684,6$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{993}{\sqrt{(28)(35313.43)}} = 0,998$$

d. Kurva



2. Jangkauan pengukuran 10^{-7} M- 10^{-2} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-7	439	-3073	49	-2.5	-87	217.5	6.25	7569
-6	479	-2874	36	-1.5	-47	70.5	2.25	2209
-5	506	-2530	25	-0.5	-20	10	0.25	400
-4	542	-2168	16	0.5	16	8	0.25	256
-3	577	-1731	9	1.5	51	76.5	2.25	2601
-2	613	-1226	4	2.5	87	217.5	6.25	7569
Σ	3156	-13602	139	0	0	600	17.5	20604

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6(-13602) - (-27)(3156)}{6(139) - (729)}$$

$$b = \frac{3600}{105}$$

$$b = 34,28$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3156) - (34,28)(-27)}{6}$$

$$a = \frac{4081,56}{6}$$

$$a = 680,2$$

persamaan regresi $y = 34,28x + 680,2$

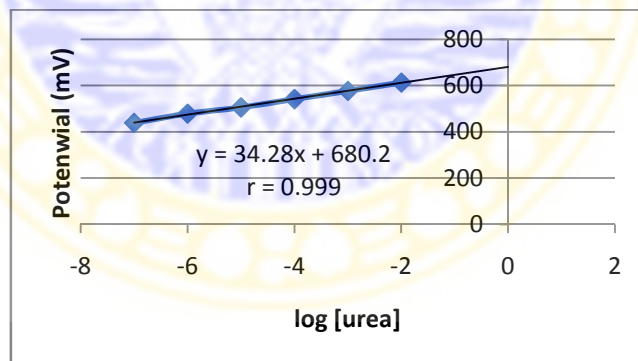
c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{600}{\{(17,5)(20604)\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = 0,999$$

d. Kurva



Elektroda 7

1. Jangkauan pengukuran 10^{-8} M- 10^{-2} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-8	435	-3480	64	-3	-95.3	285.9	9	9082.09
-7	462	-3234	49	-2	-68.3	136.6	4	4664.89
-6	493	-2958	36	-1	-37.3	37.3	1	1391.29
-5	532	-2660	25	0	1.7	0	0	2.89
-4	566	-2264	16	1	35.7	35.7	1	1274.49
-3	597	-1791	9	2	66.7	133.4	4	4448.89
-2	627	-1254	4	3	96.7	290.1	9	9350.89
Σ	3712	-17641	203	0	-0.1	919	28	30215.43

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7 \cdot -17641 - (-35) \cdot (3712)}{7(203) - (1225)}$$

$$b = \frac{6433}{196}$$

$$b = 32,82$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3712) - (32,82)(-35)}{7}$$

$$a = \frac{4860,7}{7}$$

$$a = 694,3$$

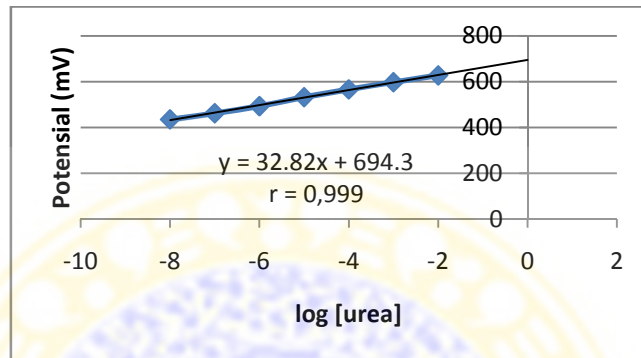
persamaan regresi $y = 32,82x + 694,3$

c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{919}{\sqrt{(28)(30215.43)}} = 0,999$$

d. Kurva



2. Jangkauan pengukuran 10^{-7} M- 10^{-2} M

a. Faktor Nernst

X	Y	XY	X ²	X- \bar{X}	Y- \bar{Y}	(X- \bar{X})(Y- \bar{Y})	(X- \bar{X}) ²	(Y- \bar{Y}) ²
-7	462	-3234	49	-2.5	-84.16	210.4	6.25	7082.906
-6	493	-2958	36	-1.5	-53.16	79.74	2.25	2825.986
-5	532	-2660	25	-0.5	-14.16	7.08	0.25	200.5056
-4	566	-2264	16	0.5	19.84	9.92	0.25	393.6256
-3	597	-1791	9	1.5	50.84	76.26	2.25	2584.706
-2	627	-1254	4	2.5	80.84	202.1	6.25	6535.106
Σ	3277	-14161	139	0	0.04	585.5	17.5	19622.83

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{6(-14161) - (-27)(3277)}{6(139) - (729)}$$

$$b = \frac{3513}{105}$$

$$b = 33,45$$

b. Persamaan regresi

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{(3277) - (33,45)(-27)}{6}$$

$$a = \frac{4180,15}{6}$$

$$a = 696,7$$

persamaan regresi $y = 33,45x + 696,7$

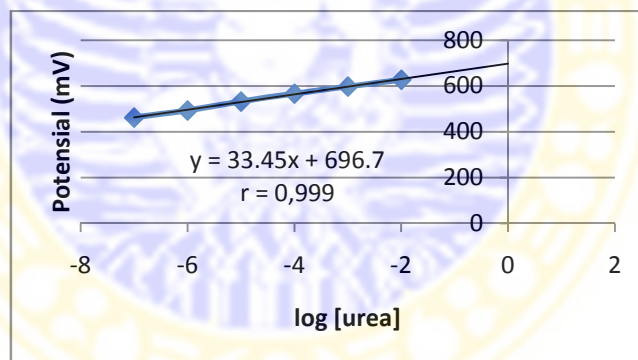
c. Faktor korelasi

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = \frac{585,5}{\{(17,5)(19622,83)\}^{\frac{1}{2}}}$$

$$r = 0,999$$

d. Kurva



LAMPIRAN 6**Analisis batas deteksi**

Data pengukuran larutan urea menggunakan elektroda karbon nanopori/MIP

Log [urea]	Potensial (mV)
-10	382
-9	368
-8	395
-7	439
-6	479
-5	506
-4	542
-3	577
-2	613

No	Log [urea] (x)	Potensial (y)	x^2	x^3	x^4	xy	x^2y
1	-10	382	100	-1000	10000	-3820	38200
2	-9	368	81	-729	6561	-3312	29808
3	-8	395	64	-512	4096	-3160	25280
Σ	-27	1145	245	-2241	20657	-10292	93288

$$1. Nb_0 + b_1 \sum x + b_2 \sum x^2 = \sum y$$

$$3b_0 - 27b_1 + 245b_2 = 1145 \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$2. b_0 \sum x + b_1 \sum x^2 + b_2 \sum x^3 = \sum xy$$

$$-27b_0 + 245b_1 - 2241b_2 = -10292 \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$3. b_0 \sum x^2 + b_1 \sum x^3 + b_2 \sum x^4 = \sum x^2y$$

$$245b_0 - 2241b_1 + 20657b_2 = 93288 \quad \dots\dots\dots(3)$$

Dengan cara eliminasi ketiga persamaan tersebut maka diperoleh

$$b_0 = 2087$$

$$b_1 = 375,5$$

$$b_2 = 20,5$$

sehingga diperoleh persamaan garis non linier (y_1)

$$y_1 = 20,5x^2 + 375,5x + 2087$$

persamaan garis linier (y_2)

$$y_2 = 35,46x + 684,6$$

Limit deteksi dihitung dengan cara

$$y_1 = y_2$$

$$20,5x^2 + 375,5x + 2087 = 35,46x + 684,6$$

$$20,5x^2 + 340,04x + 1402,4 = 0$$

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

$$x = \frac{-340,04 \pm \sqrt{340,04^2 - 4(20,5)(1402,4)}}{2(20,5)}$$

$$x = \frac{-340,04 \pm 25,1078}{41}$$

$$x = -7,6813$$

$$\log C = -7,6813$$

$$C = [\text{urea}] = 2 \times 10^{-8} \text{ M}$$

Jadi diperoleh limit deteksi sebesar $2 \times 10^{-8} \text{ M}$

LAMPIRAN 7**Analisis akurasi pengukuran**

Persamaan regresi dari kurva standar urea $y = 35,46x + 684,6$

1. Untuk konsentrasi urea 10^{-4} M

$$y = 35,46x + 684,6$$

$$542 = 35,46x + 684,6$$

$$35,46x = -142,6$$

$$x = \log C = -4,021$$

$$C = [\text{urea}] = 0,953 \times 10^{-4} \text{ M}$$

$$\% \text{ akurasi} = \frac{0,953 \times 10^{-4}}{10^{-4}}$$

$$\% \text{ akurasi} = 95,5\%$$

2. Untuk konsentrasi urea 10^{-2} M

$$y = 35,46x + 684,6$$

$$611 = 35,46x + 684,6$$

$$35,46x = -73,6$$

$$x = \log C = -2,075$$

$$C = [\text{urea}] = 0,84 \times 10^{-2} \text{ M}$$

$$\% \text{ akurasi} = \frac{0,84 \times 10^{-2}}{10^{-2}}$$

$$\% \text{ akurasi} = 84\%$$

LAMPIRAN 8**Koefisien variasi dari pengukuran**

Konsentrasi (M)	Potensial (mV)			\bar{X}	$(x_1 - \bar{X})^2$	$(x_2 - \bar{X})^2$	$(x_3 - \bar{X})^2$	Σ
	1	2	3					
10^{-4}	542	548	554	548	36	0	36	72
10^{-2}	611	609	614	611,33	0,1089	5,4289	7,1289	12,6667

1. Untuk konsentrasi 10^{-4} M

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$SD = \frac{72}{2}$$

$$SD = 6$$

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

$$\% KV = \frac{6}{548} \times 100\%$$

$$\% KV = 1,095\%$$

2. Untuk konsentrasi 10^{-2} M

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$SD = \frac{12,6667}{2}$$

$$SD = 2,517$$

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

$$\% KV = \frac{2,517}{611,} \times 100\%$$

$$\% KV = 0,412 \%$$



LAMPIRAN 9**Perhitungan pembuatan larutan molekul pengganggu**

1. Larutan asam urat 10^{-2} M

$$10^{-2} \text{ M} = 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$\text{mol} = \frac{m}{M_r}$$

$$10^{-2} = \frac{m}{168,122}$$

$$m = 1,6812 \text{ g/1000 mL}$$

$$m = 0,1681 \text{ g/100 mL}$$

2. Larutan kreatinin 10^{-2} M

$$10^{-2} \text{ M} = 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$\text{mol} = \frac{m}{M_r}$$

$$10^{-2} = \frac{m}{113,126}$$

$$m = 1,1313 \text{ g/1000 mL}$$

$$m = 0,1131 \text{ g/100 mL}$$

LAMPIRAN 10**Analisis koefisien selektivitas**

1. Molekul asam urat

$$y = 35,46x + 684,6$$

$$385 = 35,46x + 684,6$$

$$35,46x = -299$$

$$x = \log C = -8,449$$

$$C = [\text{asam urat}] = 3 \times 10^{-9}$$

$$k_{i,j}^{\text{pot}} = \frac{[\text{asam urat}]}{10^{-2}} = \frac{3 \times 10^{-9}}{10^{-2}}$$
$$= 3 \times 10^{-7}$$

2. Molekul kreatinin

$$y = 35,46x + 684,6$$

$$353 = 35,46x + 684,6$$

$$35,46x = -331,6$$

$$x = \log C = -9,351$$

$$C = [\text{kreatinin}] = 4,45 \times 10^{-10}$$

$$k_{i,j}^{\text{pot}} = \frac{[\text{kreatinin}]}{10^{-2}} = \frac{4,45 \times 10^{-10}}{10^{-2}}$$
$$= 4,45 \times 10^{-8}$$

LAMPIRAN 11**Analisis perhitungan kadar urea dalam serum darah**

Volume serum = 0,2 mL → diencerkan hingga 10 mL

Potensial yang terukur = 410 mV

$$y = 35,46x + 684,6$$

$$410 = 35,46x + 684,6$$

$$35,46x = -274,6$$

$$x = \log C = -7,7439$$

$$C = [\text{urea}] = 1,8 \times 10^{-8} \text{ M} \longrightarrow \text{dalam 10 mL}$$

$$\text{Sehingga } [\text{urea}] \text{ dalam 0,2 mL} = 1,8 \times 10^{-8} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$= 1,8 \times 10^{-8} \times 50$$

$$= 9,01 \times 10^{-7} \text{ M}$$

$$9,01 \times 10^{-7} \text{ M} = 9,01 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$$

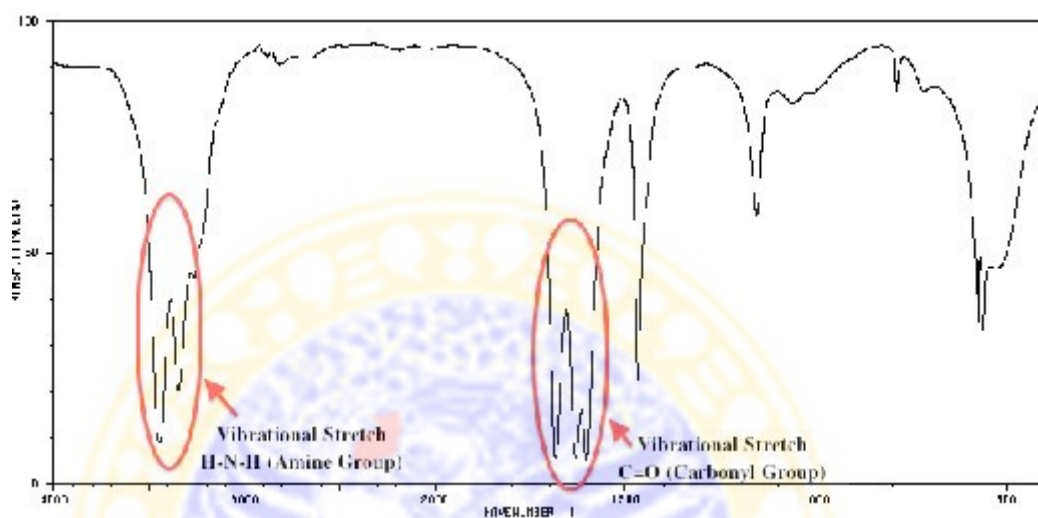
$$= 0,054 \text{ mg/L}$$

$$= 0,0054 \text{ mg/dL}$$

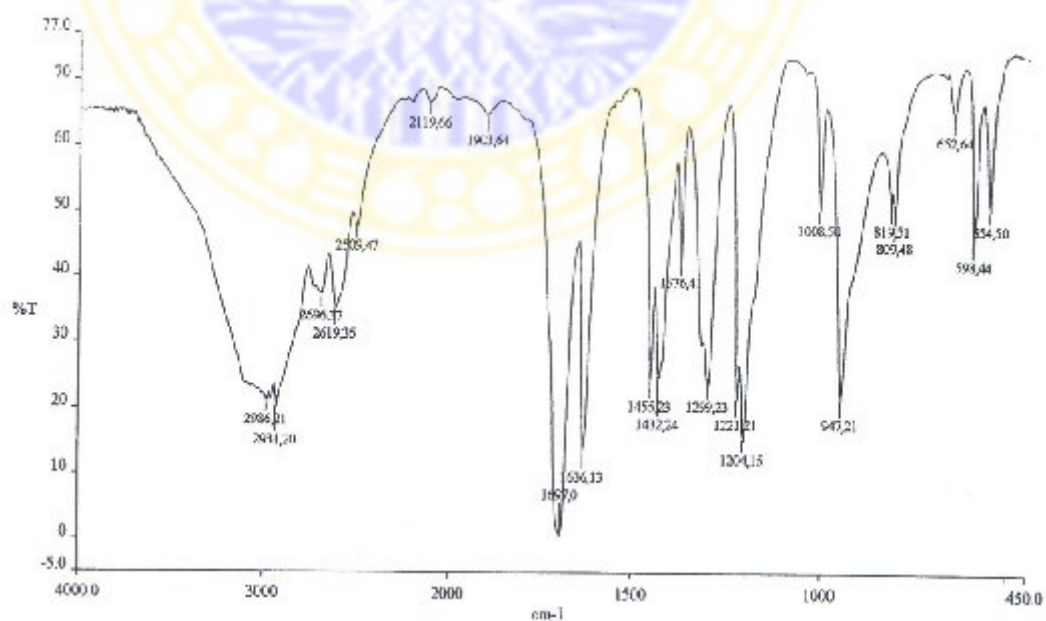
LAMPIRAN 12

Spektrum urea dan asam metakrilat

a. Spektrum urea



b. Spektrum asam metakrilat



LAMPIRAN 13

Spesifikasi karbon nanopori

Material : Bambu

1. Suhu aktivasi : 850°C
2. Lama aktivasi : 90 menit
3. RD : KOH 20%
4. Doping : NiO₂ (1:4)
5. Massa : 6,000 gram

