



**LAPORAN HIBAH PENELITIAN  
PROYEK DUE-Like BATCH III**



**DETEKSI SENSITIF ASAM URAT  
SECARA *STRIPPING VOLTAMMETRY* MENGGUNAKAN  
*HANGING MERCURY DROP ELECTRODE (HMDE)***

Oleh:

**Dra. Miratul Khasanah, M.Si.  
Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc  
Dra. Usreg Sri Handajani, M.Si**

010107141

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**Desember 2006**

**MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN HIBAH PENELITIAN PROYEK DUE-Like BATCH III**

- A. Judul : Deteksi Sensitif Asam Urat Secara *Stripping Voltammetry* Menggunakan *Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE)*
- B. Ketua Peneliti
- a. Nama : Dra. Miratul Khasanah, M.Si.
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. Pangkat/Golongan/NIP: Penata Tk. I/ III d/ 131 999 646
  - d. Bidang Keahlian : Kimia Analisis
  - e. Fakultas/ Jurusan : MIPA/ Kimia
  - f. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
- C. Tim Peneliti
- a. Nama : Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc.  
Bidang Keahlian : Kimia Analisis  
Fakultas/ Jurusan : MIPA/ Kimia  
Tugas dalam Tim : Preparasi sampel dan interpretasi data
  - b. Nama : Dra. Usreg Sri Handajani, M.Si.  
Bidang Keahlian : Kimia Analisis  
Fakultas/ Jurusan : MIPA/ Kimia  
Tugas dalam Tim : Analisis asam urat dan interpretasi data
- D. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian
- Jangka Waktu : 6 bulan
  - Biaya yang diajukan : Rp. 30.000.000,-  
(Tiga Puluh Juta Rupiah)

Surabaya, 14 Desember 2006

Mengetahui,  
Dekan FMIPA

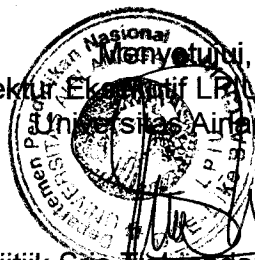


Drs. H.A. Latief Burhan, M.S.  
NIP. 131 286 709

Ketua Peneliti

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

Tjitiq Sri Handajani, Ph.D  
NIP. 131801627



Tjitiq Sri Handajani, Ph.D  
NIP. 131801627

## RINGKASAN

Senyawa asam urat mendapatkan perhatian sangat luas di kalangan biomedis dan bioanalisis karena peranannya yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh (Zare et al, 2006). Telah diketahui secara luas bahwa konsentrasi senyawa ini yang abnormal di tubuh menunjukkan adanya gejala beberapa penyakit seperti diabetes, kolesterol tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Bahkan beberapa penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kenaikan level asam urat dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen et al, 2005). Penyakit-penyakit yang lain, seperti leukemia dan pneumonia juga diduga berkaitan dengan meningkatnya asam urat (Miland et al, 1996).

Metode penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah dengan menggunakan asam fosfotungstat atau dengan menggunakan enzim *uricase* (Chen et al, 2005), kemudian dianalisis secara spektrofotometri.

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

Tujuan penelitian yang dilakukan ini adalah mengembangkan dan mengaplikasikan metode voltametri dengan elektoda HMDE untuk analisis secara sensitif asam urat baik dalam darah maupun urin. Selain itu juga diteliti pengaruh asam askorbat terhadap penentuan kadar asam urat.

Optimasi kondisi pengukuran dilakukan dengan memvariasi beberapa parameter seperti pH larutan, laju pengadukan, waktu elektrolisis dan rentang potensial elektrolisis secara multivariat yaitu dengan mengubah salah satu variabel sedangkan variabel yang lain dibuat tetap. Kondisi optimum yang diperoleh digunakan untuk menentukan rentang linearitas, limit deteksi, sensitivitas, dan *recovery*. *Recovery* ditentukan dengan cara *spiking* sejumlah larutan standar asam urat ke dalam serum dan urin. Kemudian konsentrasinya ditentukan kembali dan dihitung *recovery*-nya. Pengaruh asam askorbat pada penentuan kadar asam urat secara voltametri dipelajari dengan cara membuat larutan standar asam urat yang telah *dispiking* dengan asam askorbat sehingga perbandingan konsentrasi asam urat: asam askorbat menjadi 1:0,5 ; 1:1; 1:2; 1:3; 1:4; dan 1:5.

Hasil yang diperoleh berupa kondisi optimum analisis asam urat secara voltametri yaitu pH larutan sebesar 5,6, laju pengadukan 2000 rpm, potensial deposisi -900 mV dan waktu deposisi 60 detik. Linieritas dinyatakan sebagai harga koefisien korelasi sebesar 0,985, batas deteksi 0,418 ppb, sensitivitas 0,8062 nA/ppb sedangkan ketelitian metode untuk konsentrasi 1,87 – 12,95 ppb sebesar 1,1 – 23,7%. Sedangkan untuk *recovery* belum diperoleh hasil. Aplikasi metode

untuk analisis kadar asam urat dalam sampel dilakukan terhadap sampel serum (kode MY) dan diperoleh kadar asam urat sebesar 0,356 ppm ( $3,56 \times 10^{-2}$  mg/dL) dan hasil analisis kadar asam urat pada sampel urin belum diperoleh. Pada saat laporan ini dibuat sedang dipelajari pengaruh penambahan asam askorbat pada analisis asam urat secara voltametri.

Hambatan yang timbul pada penelitian ini adalah adanya pengaruh matriks dalam sampel serum dan urin sehingga perlu dipelajari lebih lanjut tentang pengaruh matriks yang berada dalam sampel pada analisis asam urat secara voltametri stripping menggunakan HMDE.





## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga kami dapat menyelesaikan tugas hibah penelitian program DUE-Like beserta laporan akhirnya dengan baik.

Salah satu program DUE-Like yang diajukan oleh Jurusan Kimia FMIPA Universitas Airlangga adalah kegiatan hibah penelitian. Dari program tersebut diharapkan diperoleh peningkatan kemampuan penelitian dan publikasi serta terbangun kelompok bidang penelitian sekaligus dapat membantu kelancaran skripsi mahasiswa melalui upaya melibatkan mahasiswa skripsi dalam penelitian. Dengan demikian masa studi dan masa skripsi mahasiswa menjadi lebih pendek.

Penelitian yang berjudul "Deteksi Sensitif Asam Urat Secara *Stripping Voltammetry* Menggunakan *Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE)*" diharapkan menjadi metoda alternatif penentuan kadar asam urat dalam serum dan urin disamping metode spektrofotometri yang biasa digunakan, sehingga dapat memperkaya riset di bidang analisis yang menunjang bidang medis.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada

1. Dewan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana kepada peneliti sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan lancar
2. Direktur Eksekutif DUE-Like Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini
3. Dekan dan Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas laboratorium selama penelitian ini berlangsung
4. Sejawat dosen dan para laboran dan analis di lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Unair yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini
5. Para mahasiswa bimbingan skripsi yang telah dengan tekun membantu melaksanakan penelitian ini

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

Surabaya, 14 Desember 2006

Tim peneliti

## ABSTRAK

Metode penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah dengan menggunakan asam fosfotungstat atau dengan menggunakan enzim *uricase* (Chen et al, 2005), kemudian dianalisis secara spektrofotometri. Pada penelitian telah dipelajari penentuan asam urat secara *stripping voltammetry* menggunakan *hanging mercury drop electrode* (HMDE)

Tujuan penelitian yang dilakukan ini adalah mengembangkan dan mengaplikasikan metode voltametri dengan HMDE untuk analisis asam urat baik dalam serum maupun urin. Selain itu juga diteliti pengaruh asam askorbat terhadap penentuan kadar asam urat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya riset di bidang elektroanalisis sehingga dihasilkan metode analisis dengan selektivitas dan sensitivitas yang tinggi.

Optimasi kondisi pengukuran dilakukan dengan memvariasi parameter pH larutan, laju pengadukan, waktu elektrolisis dan rentang potensial elektrolisis. Kondisi optimum yang diperoleh digunakan untuk menentukan rentang linearitas, limit deteksi, sensitivitas, dan *recovery*. *Recovery* ditentukan dengan cara *spiking* sejumlah larutan standar asam urat ke dalam serum dan urin. Kemudian konsentrasinya ditentukan kembali dan dihitung *recovery*-nya. Pengaruh asam askorbat pada penentuan kadar asam urat secara voltametri dipelajari dengan cara membuat larutan standar asam urat yang telah *dispiking* dengan asam askorbat sehingga perbandingan konsentrasi asam urat: asam askorbat menjadi 1:0,5 ; 1:1; 1:2; 1:3; 1:4; dan 1:5.

Hasil yang diperoleh berupa kondisi optimum analisis asam urat secara voltametri yaitu pH larutan sebesar 5,6, laju pengadukan 2000 rpm, potensial deposisi -900 mV dan waktu deposisi 60 detik. Linieritas dinyatakan sebagai harga koefisien korelasi sebesar 0,985, batas deteksi 0,418 ppb, sensitivitas 0,8062 nA/ppb sedangkan ketelitian metode untuk konsentrasi 1,87 – 12,95 ppb sebesar 1,1 – 23,7%. Sedangkan untuk *recovery* belum diperoleh hasil. Aplikasi metode untuk analisis kadar asam urat dalam sampel dilakukan terhadap sampel serum (kode MY) dan diperoleh kadar asam urat sebesar 0,356 ppm ( $3,56 \times 10^{-2}$  mg/dL) dan hasil analisis kadar asam urat pada sampel urin belum diperoleh. Pada saat laporan ini dibuat sedang dipelajari pengaruh penambahan asam askorbat pada analisis asam urat secara voltametri.

Hambatan yang timbul pada penelitian ini adalah adanya pengaruh matriks dalam sampel serum dan urin sehingga perlu dipelajari lebih lanjut terhadap pengaruh matriks yang berada dalam sampel pada analisis asam urat.

## DAFTAR ISI

	halaman
Lembar Identitas dan Pengesahan .....	I
Ringkasan .....	ii
Kata Pengantar .....	lv
Abstrak .....	v
Daftra Isi .....	vi
Daftar Tabel .....	vii
Daftar Gambar .....	viii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Rumusan Permasalahan.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Asam Urat .....	5
2.2 Voltametri .....	6
2.2.1 Elektroda .....	6
2.2.2 Elektrolisis(deposisi) .....	8
2.2.3 Stripping(pelarutan kembali/lucutan) .....	10
2.2.4 Elektrolit pendukung .....	12
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
3.2 Bahan dan Alat .....	13
3.3 Tahapan Metode Penelitian .....	13
3.3.1 Pembuatan larutan .....	13
3.3.2 Optimasi parameter penelitian .....	14
3.3.3 Pembuatan kurva standar asam urat .....	15
3.3.4 Penentuan linieritas, limit deteksi, sensitivitas dan ketelitian(presisi) .....	15
3.3.5 Penentuan % recovery .....	16
3.3.6 Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat .....	16
3.4 Aplikasi Metode Stripping Voltammetry menggunakan HMDE untuk Analisis Asam Urat dalam Sampel	
3.4.1 Sampling dan preparasi sampel .....	16
3.4.2 Analisis asam urat dalam serum dan urin.....	17
3.5 Skema Kerja .....	17
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Optimasi pH Larutan .....	18
4.2 Potensial Deposisi ( $E_{dep}$ ) .....	19
4.3 Laju Pengadukan .....	22
4.4 Waktu deposisi .....	24
4.5 Kurva Baku .....	26
4.6 Linieritas, Batas Deteksi, sensitivitas dan Ketelitian .....	27
4.7 Analisis Kadar Asam Urat dalam Sampel .....	28
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	29
5.2 Saran .....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30

## DAFTAR TABEL

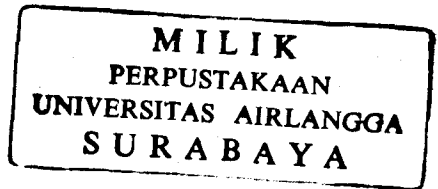
	halaman
Tabel 1 Pengaruh pH terhadap hasil analisis asam urat secara voltametri .....	18
Tabel 2 Hasil optimasi potensial deposisi pada analisis asam urat secara voltametri .....	20
Tabel 3 Data hasil optimasi laju pengadukan pada analisis asam urat secara voltametri .....	22
Tabel 4 Data pengaruh waktu deposisi terhadap arus yang dihasilkan pada analisis asam urat .....	25
Tabel 5 Hasil analisis larutan standar asam urat .....	26





## DAFTAR GAMBAR

	hal
Gambar 1	Contoh voltamogram hasil analisis Cd, Pb dan Cu dalam sampel muara Sungai Minajerwi ..... 11
Gambar 2	Contoh voltamogram hasil analisis asam askorbat dalam sampel obat ..... 11
Gambar 3	Kurva hasil optimasi pH pada analisis asam urat secara voltametri ..... 18
Gambar 4	Voltamogram larutan asam urat dengan pH 3,6 ..... 19
Gambar 5	Voltamogram larutan asam urat dengan pH 5,6 ..... 19
Gambar 6	Kurva pengaruh potensial deposisi terhadap arus ..... 21
Gambar 7	Voltamogram asam urat dengan potensial deposisi -300 mV .... 21
Gambar 8	Voltamogram asam urat dengan potensial deposisi -900 mV .... 22
Gambar 9	Kurva hubungan laju pengadukan dengan arus yang dihasilkan pada analisis asam urat ..... 23
Gambar 10	Voltamogram asam urat dengan laju pengadukan 1200 rpm ..... 23
Gambar 11	Voltamogram asam urat dengan laju pengadukan 2800 rpm ..... 24
Gambar 12	Kurva pengaruh waktu deposisi terhadap arus ..... 25
Gambar 13	Voltamogram asam urat dengan waktu deposisi 10 detik ..... 26
Gambar 14	Kurva baku larutan asam urat ..... 27
Gambar 15	Voltamogram asam urat dalam sampel serum Kode MY..... 28



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin yang biasanya terdapat dalam darah dan urin. Senyawa ini mendapatkan perhatian sangat luas di kalangan biomedis dan memegang peranan yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh (Zare et al, 2006). Telah diketahui secara luas bahwa konsentrasi abnormal senyawa ini di tubuh menunjukkan adanya gejala beberapa penyakit. Konsentrasi asam urat yang tinggi di dalam tubuh (*hyperuricemia* dan *Lesch-Nyhan syndrome*) seringkali dikaitkan dengan *gout* dan kondisi-kondisi yang lain seperti meningkatnya konsumsi alkohol, kegemukan, diabetes, kolesterol yang tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Bahkan beberapa penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kenaikan level asam urat dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen et al, 2005).

Metode penentuan kadar asam urat yang biasa dilakukan dalam bidang biomedis adalah dengan menggunakan asam fosfotungstat atau dengan menggunakan enzim *uricase* (Chen et al, 2005). Pada metode yang pertama, asam urat dalam serum direaksikan dengan asam fosfotungstat dalam suasana basa sehingga asam fosfotungstat akan direduksi oleh asam urat menghasilkan warna biru. Analisis dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 660 nm. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan perlakuan sampel yang rumit sehingga membutuhkan waktu analisis yang lama serta dibutuhkannya sampel dalam jumlah yang relatif banyak dengan limit deteksi yang tinggi (mM).

Pada metode pendekatan enzim, sejumlah enzim *uricase oxidase* (UOD) yang berlebih direaksikan dengan asam urat dalam serum, diikuti dengan pengendapan sisa UOD dengan asam trikloroasetat. Kadar asam urat dihitung berdasarkan perbedaan absorbansi dengan larutan asam urat kontrol pada panjang gelombang 290 nm. Tetapi metode ini membutuhkan beberapa tahap pengerjaan yang relatif sulit.

George et al (2006) melaporkan penentuan kadar asam urat dengan *Reversed Phase* (RP) HPLC. Analisis dilakukan dengan menggunakan fasa mobil 10 mM kalium dihidrogen fosfat pH 4,7 dengan laju alir eluen 1 mL/ menit. Absorbansi analit diukur pada panjang gelombang 220 nm. Dari hasil penelitian

tersebut diperoleh limit deteksi 0,11  $\mu\text{g/mL}$  dan *recovery* berkisar antara 94-104%. Analisis asam urat secara voltametri dengan menggunakan elektroda *thionine-nafion modified electrode* telah dilakukan oleh Shahrokhian (2006). Limit deteksi sebesar  $5 \times 10^{-8}$  M dengan pengukuran menggunakan *differential pulse voltametric* telah dilaporkan.

Metode *square-wave voltametric* menggunakan *Nafion-coated carbon paste electrode* telah digunakan untuk menentukan kadar asam urat yang berada bersama-sama dengan asam askorbat dengan kadar yang jauh lebih tinggi (Zen, 1998). Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam askorbat lebih besar dari 1,5 mM mengganggu analisis. Limit deteksi yang dilaporkan adalah sebesar 0,25 mM. Zare et al (2006) menggunakan *modified glassy carbon electrode* dengan *oracet blue* (OB) untuk penentuan kadar dopamin, asam askorbat, dan asam urat secara bersamaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sensitivitas elektroda terhadap dopamin dengan ada atau tidak adanya asam urat dan asam askorbat adalah sama. Hal ini menunjukkan bahwa proses oksidasi dopamin, asam urat, dan asam askorbat pada elektroda tidak tergantung satu sama lain sehingga pengukuran campuran senyawa ini secara bersamaan dapat dilakukan. Berbeda dengan Zare et al, Ren et al (2006) menganalisis campuran epinephrine, asam urat, dan asam askorbat secara voltametri menggunakan *modified glassy carbon electrode* dengan *caffeic acid*. Dari penelitian tersebut diperoleh limit deteksi sebesar  $6,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> untuk asam urat.

Metode voltametri telah digunakan secara ekstensif di dalam analisis elektrokimia untuk penentuan konsentrasi dan sifat-sifat redoks suatu senyawa di dalam larutan, seperti asam urat. Pengembangan metode voltametri untuk analisis asam urat dalam darah dan urin menjadi kajian yang sangat menarik karena keberadaan senyawa tersebut dalam sampel bersama-sama dengan senyawa elektroaktif lainnya, misalnya asam askorbat (vitamin C). Potensial oksidasi asam urat dan asam askorbat yang berdekatan sehingga sangat sulit untuk dipisahkan dengan menggunakan elektroda padat seperti *glassy carbon electrode* karena respon voltametriknya seringkali overlap jika kedua senyawa tersebut terdapat dalam sampel yang sama. Kemajuan teknologi di bidang voltametri dengan digunakannya elektrode merkuri cair, *Hanging Mercury Drop Electrode* (HMDE), diharapkan dapat memperkaya riset di bidang elektroanalisis

Di pihak lain, metode voltametri menggunakan elektrode tetes gantung merkuri/*Hanging Mercury Drop Electrode* (HMDE), diharapkan dapat menjadi metoda alternatif untuk analisis asam urat dalam sampel darah dan urin dengan selektivitas dan sensitivitas yang tinggi. Parameter yang diteliti meliputi parameter instrumen dan parameter kimia. Parameter instrumen meliputi laju pengadukan, potensial deposisi dan waktu deposisi sedangkan parameter kimia yang diteliti adalah pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat secara stripping voltametri menggunakan HMDE. Selain itu dipelajari linieritas, limit deteksi, presisi, sensitivitas, dan *recovery* metode.

### 1.2. Rumusan Permasalahan

Dari latar belakang permasalahan di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

1. Bagaimana parameter pH larutan, laju pengadukan, potensial deposisi, dan waktu deposisi pada analisis asam urat menggunakan *stripping voltammetry*?
2. Berapakah linieritas, limit deteksi, presisi, sensitivitas, dan *recovery* metode *stripping voltammetry* menggunakan HMDE pada penentuan asam urat?
3. Bagaimanakah pengaruh asam askorbat pada penentuan kadar asam urat secara stripping voltametri menggunakan elektroda HMDE?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. mempelajari parameter pH larutan, laju pengadukan, potensial deposisi, dan waktu deposisi pada analisis asam urat menggunakan *stripping voltammetry*,
2. menentukan linieritas, limit deteksi, presisi, sensitivitas, dan *recovery* metode *stripping voltammetry* menggunakan HMDE pada penentuan asam urat,
3. mempelajari pengaruh asam askorbat pada penentuan kadar asam urat secara stripping voltametri menggunakan elektroda HMDE,
4. mengaplikasikan metode voltametri menggunakan elektroda HMDE untuk analisis asam urat dalam serum dan urin.



#### 1.4 Manfaat Penelitian

Memperoleh metode analisis asam urat secara cepat, mudah dan sensitif dengan limit deteksi yang rendah dan ketelitian yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai alternatif metode dalam menentukan kadar asam urat dalam serum dan urin selain metode yang biasa digunakan di bidang medis.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Asam Urat

Asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin, yang biasanya terdapat dalam darah dan urin. Purin merupakan protein golongan nukleoprotein yang berasal dari makanan maupun penghancuran sel-sel tubuh yang sudah tua. Kadar rata-rata asam urat dalam tubuh manusia bergantung pada usia dan jenis kelamin. Batas normal asam urat dalam darah yaitu 3,5 – 6 mg/dL (Dalimartha, 2002). Kadar asam urat dalam tubuh juga dipengaruhi oleh sintesis dan sekresi.

Senyawa asam urat mendapatkan perhatian sangat luas di kalangan biomedis dan bioanalisis karena peranannya yang sangat penting dalam proses metabolisme dalam tubuh (Zare et al, 2006). Telah diketahui secara luas bahwa konsentrasi abnormal senyawa ini di tubuh menunjukkan adanya gejala beberapa penyakit. Konsentrasi asam urat yang tinggi di dalam tubuh (*hyperuricemia* dan *Lesch-Nyhan syndrome*) seringkali dikaitkan dengan *gout* dan kondisi-kondisi yang lain seperti meningkatnya konsumsi alkohol, kegemukan, diabetes, kolesterol yang tinggi, tekanan darah tinggi, penyakit ginjal dan penyakit hati. Bahkan beberapa penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kenaikan level asam urat dapat menyebabkan kenaikan resiko terkena penyakit kardiovaskular (Chen et al, 2005). Penyakit-penyakit yang lain, seperti leukemia dan pneumonia juga diduga berkaitan dengan meningkatnya asam urat (Miland et al, 1996).

Di dunia biomedis penentuan kadar asam urat banyak dilakukan dengan metode spektrofotometri dan pendekatan enzimatis menggunakan enzim *uricase*. Analisis asam urat dengan metode ini dilakukan melalui oksidasi asam urat oleh asam fosfotungstat dalam suasana basa dan menghasilkan larutan berwarna biru yang menyerap sinar dengan panjang gelombang 660 nm.

Pendekatan enzimatis yang selama ini dilakukan adalah dengan mereaksikan asam urat dengan enzim *uricase* oksidase berlebih diikuti pengendapan sisa enzim dengan trikloroasetat. Kemudian kadar asam urat dianalisis secara spektrofotometri pada panjang gelombang 290 nm (Chen et al, 2005).

## 2.2 Voltametri

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

Untuk memenuhi kebutuhan analisis spesi elektroaktif hingga skala mikrogram/liter maka dikembangkan metode analisis yang sangat peka yaitu *electrochemical stripping* (ES). Prosedur analisis secara ES adalah meliputi dua tahap yaitu deposisi (*plating*) dan lucutan (*stripping*). Metode ES meliputi *stripping voltammetry* (SV) dan *potentiometric stripping analysis* (PSA).

Voltametri semakin berkembang sejak ditemukannya metode polarografi oleh seorang ahli kimia Cekoslowakia yang bernama Jaroslav Heyrovsky pada tahun 1920. Mikroelektroda yang digunakan dalam polarografi adalah *dropping mercury electrode* (DME) (Wang, 2000).

Pada tahap pertama analit dilapiskan pada elektroda kerja, kemudian dengan menggeser potensial ke arah anodik/katodik analit tersebut akan terlarut kembali (*stripping*) dan pada saat itu diperoleh sinyal berupa voltamogram potensial dan arus (Mendham *et al.*, 2000). Voltamogram yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif analit. Pada kondisi percobaan tertentu, secara kualitatif tiap-tiap analit elektroaktif mempunyai potensial elektrolisis yang spesifik sedangkan analisis kuantitatif dinyatakan dengan besarnya arus difusi yang timbul karena konsentrasi analit sebanding dengan arus difusi (Wang, 1985).

### 2.2.1 Elektroda

Instrumentasi analisis voltametri adalah seperangkat peralatan voltametri yang dilengkapi dengan prosesor unit dan elektroda. Elektroda yang digunakan meliputi elektroda kerja, elektroda pembanding dan elektroda counter. Sebagai elektroda kerja dapat digunakan elektroda padat, diantaranya *glassy carbon electrode* (GCE), elektroda emas atau elektroda grafit. Selain elektroda padat juga dapat digunakan elektroda cair diantaranya *hanging mercury drop electrode/HMDE* atau *mercury drop electrode/MDE* (El-Maali, 2004) Sebagai elektroda pembanding

digunakan elektroda Ag/AgCl dan sebagai elektroda counter digunakan elektroda platina(Pt).

#### A. Elektroda Kerja (*Working Electrode*)

Elektroda kerja merupakan elektroda tempat reaksi berlangsung yaitu tempat analit mengalami oksidasi atau reduksi. Voltametri merupakan metode elektroanalisis dimana arus direkam sebagai suatu fungsi potensial elektroda kerja (Day dan Underwood, 2001). Elektroda ini memiliki permukaan yang sangat kecil guna meningkatkan polarisasi dan meminimalkan penipisan analit akibat elektrolisis. Elektroda kerja yang ideal harus mempunyai luas permukaan yang reprodusi serta mempunyai arus latar yang rendah (Wang, 1985).

Elektroda kerja yang digunakan berupa mikroelektroda yaitu elektroda yang memiliki luas permukaan kurang dari 1 mm<sup>2</sup>. Sebagai elektroda kerja dapat digunakan elektroda padat, diantaranya *glassy carbon electrode* (GCE), elektroda emas atau elektroda grafit. Selain elektroda padat juga dapat digunakan elektroda cair diantaranya *hanging mercury drop electrode/HMDE* atau *mercury drop electrode/MDE* (El-Maali, 2004) Pemilihan elektroda kerja sangat penting dilakukan agar diperoleh hasil yang sensitif dan reprodusi saat *stripping*.

Mikroelektroda yang sering digunakan pada voltametri adalah mikroelektroda merkuri. Walaupun harganya mahal dan bersifat toksik (Monk, 2001), mikroelektroda ini memiliki banyak kelebihan di antaranya dapat digunakan pada potensial negatif yang besar dan banyak ion logam yang tereduksi membentuk amalgam pada permukaan elektroda raksa sehingga memudahkan reaksi kimianya (Harvey, 2000).

Merkuri merupakan bahan elektroda kerja yang terbaik terutama untuk penentuan logam-logam yang membentuk amalgam dan penentuan beberapa senyawa organik (Churacek, 1993).

Keuntungan penggunaan HMDE antara lain :

1. tetes merkuri sangat mudah dihasilkan sehingga memberikan arus yang reprodusi.
2. tetes-tetes merkuri baru selalu terbentuk secara kontinyu sehingga elektroda bebas dari kontaminasi dan efek polarisasi kimia yang sering terjadi pada elektroda padat.



3. pembentukan amalgam pada HMDE memperkecil aktivitas logam sehingga memudahkan reduksi ion logam.
4. arus background rendah, overpotensial yang diperlukan untuk pembentukan gas  $H_2$  sangat tinggi sehingga memungkinkan dilakukan analisis dalam suasana sangat asam

Teknik SV dengan HMDE dipakai secara luas untuk penentuan logam berat, senyawa fenolic, heterosiklik, dan senyawa nitro dalam sampel biologi (Lawrence, 2002), analisis antioksidan dalam plasma (Martinez, 2006), serta analisis formulasi dan *biofluid* dalam obat (El-Maali, 2004).

#### B. Elektroda Pembanding (*Reference electrode*)

Elektroda pembanding merupakan elektroda yang berperan memonitor potensial dari elektroda kerja. Oleh karena itu, potensialnya harus sudah diketahui, stabil, dan tidak sensitif terhadap komposisi larutan yang dianalisis (Smyth dan Vos, 1992). Elektroda pembanding yang biasa dipakai adalah elektroda Ag/AgCl atau Elektroda Kalomel Jenuh (EKJ) yang dihubungkan ke sampel dengan jembatan garam (Wang, 1985).

#### C. Elektroda Lawan (*Counter electrode*)

Elektroda lawan merupakan elektroda yang berpasangan dengan elektroda kerja namun tidak berperan dalam penentuan besarnya potensial yang diukur. Elektroda yang biasanya terbuat dari platina atau grafit ini berperan untuk meminimalkan tahanan sel dalam kontrol potensial elektroda kerja (Wang, 1985).

### 2.2.2 Elektrolisis (Deposisi)

Terdapat tiga mekanisme perpindahan materi dalam proses elektrolisis yaitu migrasi listrik, difusi dan konveksi. Migrasi listrik disebabkan oleh suatu pengaruh listrik yang tergantung pada muatan yang dibawa oleh spesies elektroaktif. Transport konveksi berlangsung dengan bantuan pengadukan atau pemanasan. Transport difusi disebabkan oleh adanya perbedaan konsentrasi. Ketiga proses tersebut berpengaruh terhadap sensitivitas, ketelitian dan ketepatan metoda analisis (Wang, 2000).

Tahap pengendapan berlangsung pada transport massa yang reproduibel di dalam larutan. Pada *anodic stripping voltammetry* misalnya, terjadi proses reduksi pada elektroda merkuri (Drabaek, *et al.*, 1983)



Potensial elektrolisis dinyatakan oleh persamaan Nemst

$$E_{\text{EMTG}} = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{red}}}{a_{\text{oks}}} \quad (2)$$

diketahui :  $a = \phi \cdot C$  (3)

dari reaksi tersebut, menurut persamaan Nernst :

$$E_{\text{HMDE}} = E^{\circ} - \frac{0,0591}{n} \log \frac{[\text{Red}]_o}{[\text{Oks}]_o} \quad (4)$$

dengan ketentuan :  $E_{\text{HMDE}}$  = potensial pada HMDE (volt)

$E^{\circ}$  = potensial reduksi standar (volt)

$n$  = jumlah elektron

$R$  = tetapan gas umum ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ )

$F$  = bilangan Faraday

$a$  = aktivitas ion ( $\text{mol L}^{-1}$ )

$\phi$  = koefisien aktivitas

$C$  atau  $[\dots]_o$  = konsentrasi pada permukaan elektroda ( $\text{mol L}^{-1}$ )

Potensial deposisi, kecepatan pengadukan, dan waktu deposisi merupakan parameter-parameter yang perlu diperhatikan selama elektrolisis berlangsung (Smyth, 1992).

#### A. Potensial Deposisi

Potensial deposisi diberikan pada elektroda kerja yang menyebabkan analit yang dianalisis mengendap/mengalami reduksi pada elektrodanya. Potensial deposisi biasanya lebih negatif dibanding potensial reversibel yang dihitung berdasarkan persamaan Nemst untuk mereduksi ion yang akan ditentukan. Hal ini terjadi karena adanya kelebihan potensial (*overpotential*) yang disebabkan oleh konsentrasi analit pada merkuri yang biasanya 100-1000 kali lebih besar dari konsentrasi analit dalam larutan sehingga terjadi pergeseran harga negatif potensial dua sampai tiga kali potensial menurut persamaan Nernst ( $(0,0591/n)V$ ) (Wang, 1985).

## B. Waktu Deposisi

Waktu deposisi merupakan waktu yang digunakan selama proses elektrolisis. Waktu deposisi ini dipengaruhi oleh konsentrasi analitnya (Smyth, 1992). Waktu deposisi harus dikontrol dengan hati-hati karena semakin lama waktu yang diberikan maka semakin banyak jumlah analit yang terdeposisi pada elektroda (Wang, 1985). Namun jika sampel yang dianalisis mengandung lebih dari satu jenis analit, penggunaan waktu deposisi yang terlalu lama memungkinkan terbentuknya interferensi. Selain itu, waktu deposisi yang terlalu lama juga dapat menyebabkan terjadinya penjumlahan lapisan raksa dengan analit yang dianalisis.

## C. Laju Pengadukan

Pengadukan larutan berpengaruh terhadap transport konveksi pada tahap deposisi (Wang, 1985). Rata-rata laju pengadukan yang dilakukan pada larutan yang akan dianalisis harus reproduisibel dan terkontrol. Elektrolisis juga dapat dilakukan tanpa pengadukan namun hal tersebut membutuhkan waktu yang lebih lama (Monk, 2001).

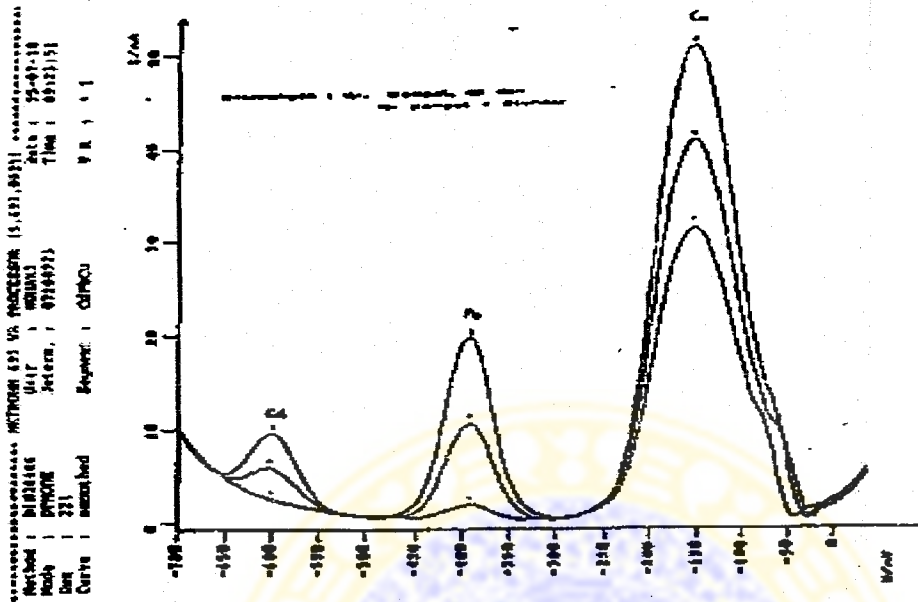
### 2.2.3 *Stripping* (pelarutan kembali/lucutan)

Metode stripping analisis pertama kali dikembangkan oleh Zbinden pada tahun 1931, yang melakukan pengukuran tembaga secara elektrogravimetri dengan pelapisan (*plating*) pada elektroda platina. Metode ini semakin berkembang pada pertengahan tahun 1950 dengan dikembangkannya HMDE oleh Kemula (Wang, 1985).

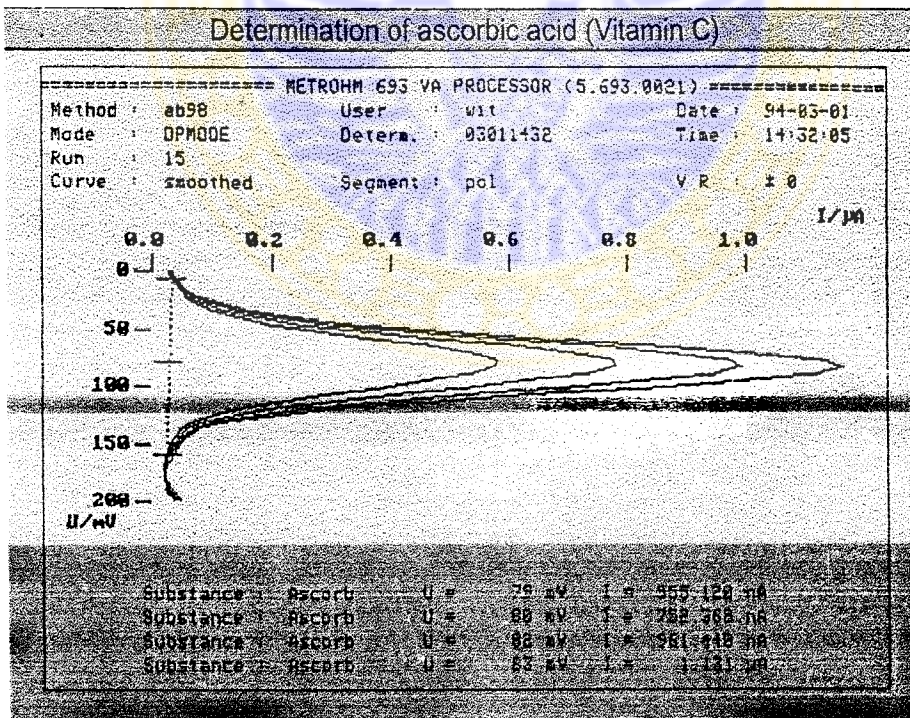
*Stripping Voltammetry* merupakan metode elektrokimia yang sangat sensitif untuk analisis logam dengan konsentrasi yang kecil (Churacek, 1993). Sensitivitas yang tinggi ini dapat dicapai melalui dua langkah. Langkah pertama merupakan prekonsentrasi sebelum analisis yaitu melalui proses elektrolisis. Proses ini menyebabkan analit mengendap sebagai amalgam atau garam merkuri pada elektroda kerja seperti HMDE. Langkah ini menyebabkan analisis secara stripping menjadi lebih sensitif dibandingkan metode polarografi karena konsentrasi analit dalam merkuri 100-1000 kali lebih besar dari konsentrasi analit dalam larutan sampel (Wang, 1985). Langkah kedua yaitu saat elektrolisis berakhir, terjadi



stripping dimana analit dioksidasi kembali ke dalam larutan. Pada langkah kedua ini dilakukan pengukuran. Hasil analisis metode ini berupa voltamogram.



Gambar1. Contoh Voltamogram hasil analisis Cd, Pd dan Cu dalam sampel muara Sungai Minajerwi (Bohari, 1996)



Gambar 2. Contoh Voltamogram hasil analisis asam askorbat (vitamin C) dalam sampel obat(Metrohm)



Dari voltamogram yang dihasilkan dapat diperoleh data kualitatif maupun kuantitatif analit (Harvey, 2000). Data kualitatif diperoleh melalui potensial standar dimana setiap analit memiliki potensial standar yang berbeda dengan analit yang lain. Data kuantitatif diperoleh melalui harga arus atau luas area voltamogram yang identik dengan konsentrasi analit dalam larutan. Semakin besar harga arus atau luas area suatu analit dalam voltamogram, semakin besar pula konsentrasi analit tersebut dan sebaliknya.

#### 2.2.4 Elektrolit Pendukung

Dalam analisis dengan metode *stripping voltammetry*, sampel yang digunakan harus dalam bentuk larutan. Untuk meminimalkan migrasi listrik dari ion analit yang disebabkan oleh medan listrik, diperlukan penambahan elektrolit pendukung ke dalam sampel. Elektrolit pendukung yang dapat digunakan dapat berupa garam, asam, basa ataupun bufer.

Menurut Wang (1985), komposisi elektrolit pendukung berpengaruh terhadap selektivitas dan sensitivitas pengukuran. Elektrolit pendukung yang ideal memberikan pemisahan dan bentuk puncak yang mudah dievaluasi untuk analit yang diukur. Larutan yang digunakan sebagai elektrolit pendukung harus mempunyai tingkat kemurnian yang tinggi untuk menghindari kontaminasi terhadap analit yang dianalisis.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Kimia Analitik FMIPA UNAIR mulai bulan Juli 2006 sampai dengan Desember 2006.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai derajat kemurnian yang tinggi. Bahan-bahan tersebut adalah asam urat, asam askorbat, larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ , asam asetat, natrium asetat, gas  $\text{N}_2$  dan akuadem.

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 797 Voltameter computrace (MVA system-1), PC, pH meter, mikropipet dan alat-alat gelas yang biasa digunakan untuk kimia analitis.

#### **3.3 Tahapan Metode Penelitian**

Penelitian ini dikerjakan oleh tim dengan melibatkan 3 orang mahasiswa skripsi. Mahasiswa skripsi mengerjakan optimasi dan validasi metode sedangkan peneliti mempelajari aplikasi analisis asam urat dalam serum dan urin secara kurva standar dan standar adisi sedangkan dan mempelajari pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat secara voltametri menggunakan HMDE. Penelitian dibagi menjadi beberapa tahapan sebagai berikut.

##### **3.3.1 Pembuatan larutan**

###### **a. Larutan induk dan larutan kerja asam urat**

Dibuat larutan induk asam urat dengan konsentrasi 100 ppm dengan cara melarutkan 100 mg asam urat dengan akuadem dan diencerkan dalam labu ukur 1000 mL sampai tanda batas. Sedangkan larutan kerja asam urat 10 ppm dibuat dengan cara mengencerkan larutan induk asam urat 100 ppm.

**b. Pembuatan larutan induk asam askorbat 100 ppm**

Ditimbang sebanyak 100 mg asam askorbat, dilarutkan dalam akuadem dan diencerkan dalam labu ukur 1000 mL sampai tanda batas.

**c. Larutan bufer fosfat**

Dibuat larutan bufer fosfat dengan pH 7,4 dengan cara mencampurkan larutan natrium dihidrogen fosfat dan larutan NaOH. Untuk mengukur pH larutan yang terbentuk digunakan pH meter.

**d. Larutan bufer asetat**

Dibuat larutan bufer asetat dengan pH 3,6; 4; 5 dan 5,6 dengan cara mencampurkan larutan asam setat dan larutan natrium asetat. Untuk mengukur pH larutan yang terbentuk digunakan pH meter.

**e. Larutan standar asam urat**

Dibuat sederetan larutan standar asam urat dengan konsentrasi 10, 20, 30,40 dan 50 ppb dengan cara mengencerkan dari larutan kerja asam urat 10 ppm. Ke dalam larutan tersebut ditambah bufer.

**3.3.2 Optimasi parameter penelitian****a. Pengaruh pH larutan**

Dipelajari pengaruh pH larutan terhadap sinyal (arus) yang dihasilkan pada analisis asam urat dengan cara memvariasi pH larutan yaitu 3,6; 4; 5; 5,6; 7,4 dan 8 dengan cara menambahkan sebanyak 1 mL bufer dengan pH yang bervariasi tersebut ke dalam larutan baku asam urat konsentrasi tertentu.

**b. Laju pengadukan**

Dimasukkan 25 mL larutan standar asam urat 20 ppb ke dalam wadah sampel kemudian dilakukan analisis dengan metode *stripping voltammetry* dengan potensial deposisi 400 mV selama 60 detik. Laju pengadukan divariasi mulai 4000 – 3000 rpm dengan rentang 400 rpm. Dilakukan replikasi 3 kali. Dibuat kurva arus vs laju pengadukan, dan ditentukan laju pengadukan optimum.

c. Potensial elektrolisis(deposisi)

Dimasukkan 25 mL larutan standar asam urat 20 ppb ke dalam wadah sampel kemudian dilakukan analisis dengan metode *stripping voltammetry* dengan laju pengadukan optimum selama 60 detik. Potensial divariasikan dari -1100 mV sampai -300 mV dengan rentang 100 mV. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva arus vs potensial, dan ditentukan potensial optimum.

d. Waktu elektrolisis

Dimasukkan 25 mL larutan standar asam urat 20 ppb ke dalam wadah sampel kemudian dilakukan analisis dengan metode *stripping voltammetry* dengan laju pengadukan dan potensial optimum. Waktu elektrolisis divariasikan dari 10 detik -60 detik dengan rentang waktu 10 detik. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dibuat kurva arus vs waktu elektrolisis, dan ditentukan waktu elektrolisis optimum.

### 3.3.3 Pembuatan kurva standar asam urat

Sebanyak 50 mL larutan standar asam urat 10, 20, 30, 40 dan 50 ppb dengan pH 5,6 dianalisis secara voltametri menggunakan kondisi laju pengadukan, potensial dan waktu elektrolisis optimum. Masing-masing konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Kemudian dibuat kurva arus vs konsentrasi asam urat.

### 3.3.4 Penentuan linieritas, limit deteksi, sensitivitas dan ketelitian(presisi)

Data hasil analisis larutan standar prosedur 3 diolah secara statistik untuk menentukan linieritas, harga limit deteksi(LOD), sensitivitas dan ketelitian metode (%KV).

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

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

Limit deteksi (LOD) dihitung dengan persamaan

$$LOD = \frac{3 S_b}{\text{slope}}$$

dengan ketentuan  $S_b$  adalah deviasi blanko



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

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

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

### 3.3.5 Penentuan % recovery

Sebanyak 5 mL sampel serum ditambah dengan 20 mL akuabides dan dispiking dengan 100 $\mu$ L larutan kerja asam urat 1 ppm. Larutan dianalisis secara voltametri. Dilakukan pula spiking dengan 200, 250  $\mu$ L larutan asam urat 1 ppm. Konsentrasi yang diperoleh kembali (x) dan konsentrasi yang seharusnya ( $\mu$ ) digunakan untuk menghitung % recovery. Dilakukan prosedur yang sama untuk sampel urin.

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

### 3.3.6 Pengaruh asam askorbat pada analisis asam urat

Dibuat sederetan larutan asam urat dengan konsentrasi 40 ppb yang di dalamnya mengandung asam askorbat dengan perbandingan konsentrasi asam urat dan asam askorbat berturut-turut 1:0,5 ; 1:1 ; 1:2; 1:3, 1:4; 1:5. Larutan dianalisis secara voltametri dengan kondisi optimum sehingga diperoleh harga arus untuk tiap-tiap konsentrasi asam askorbat yang digunakan. Dihitung penyimpangan harga arus untuk tiap-tiap konsentrasi askorbat dibandingkan arus yang timbul pada analisis asam urat 40 ppb tanpa penambahan asam askorbat. Asam askorbat dianggap mengganggu apabila penyimpangan sebesar 2% atau lebih.

## 3.4. Aplikasi Metode Stripping Voltammetry menggunakan HMDE untuk Analisis Asam Urat dalam Sampel

### 3.4.1 Sampling dan preparasi sampel

Sampel serum dan urin diambil dari 2 orang penderita (yang diduga mengalami kelainan kandungan asam urat). Sebanyak 1 mL sampel serum ditambah dengan bufer asetat dan diencerkan dengan akuadem sampai volume tertentu.

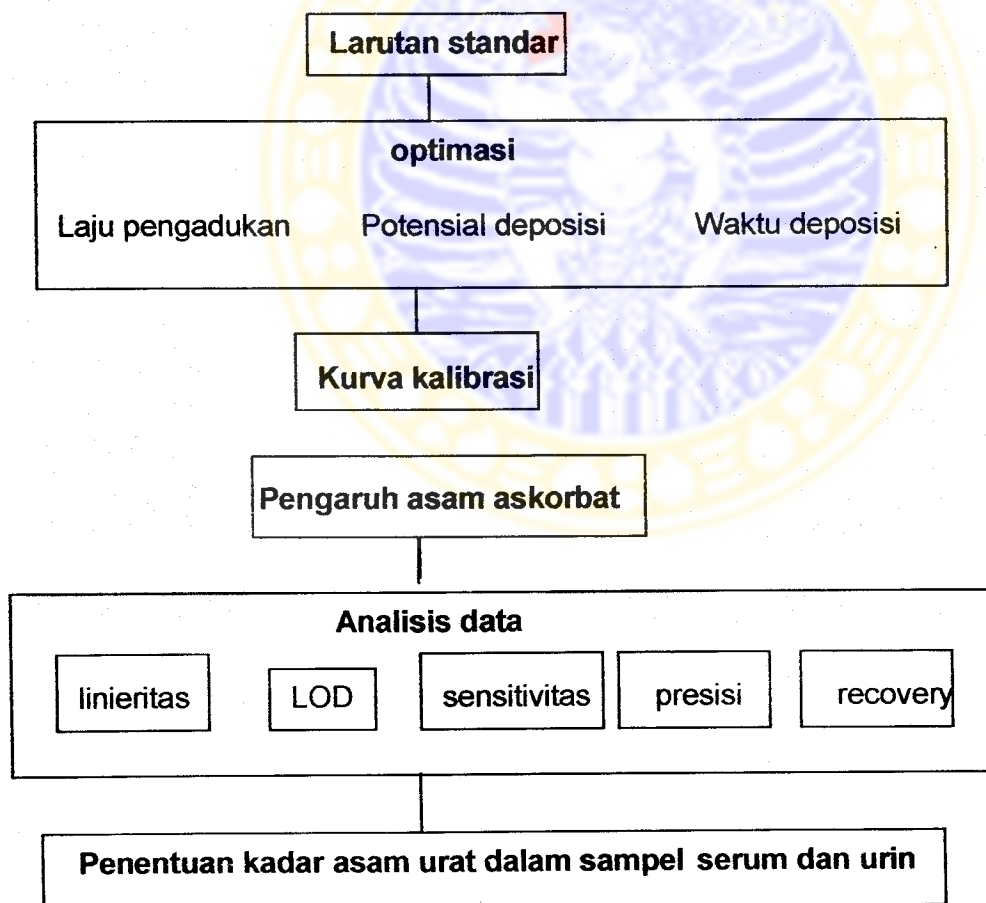
Sebanyak 5 mL sampel urin disaring dengan kertas saring ukuran pori 0,45  $\mu$ m, ditambah bufer asetat dan diencerkan dengan akuadem sampai volume tertentu.

### 3.4.2 Analisis asam urat dalam serum dan urin

Sebanyak 50 mL sampel serum hasil preparasi menurut prosedur 3.4.1 dianalisis dengan *stripping voltammetry* menggunakan kondisi parameter hasil optimasi prosedur sebelumnya. Terhadap larutan tersebut dilakukan adisi dengan 50  $\mu\text{L}$  larutan standar asam urat 1 ppm dan dilakukan analisis secara voltametri. Sederetan 50 mL larutan sampel serum berturut-turut dilakukan penambahan standar asam urat 1 ppm sebanyak 100, 150, 200 dan 250  $\mu\text{L}$  dan dianalisis secara voltametri. Dari data yang diperoleh dibuat kurva arus vs konsentrasi larutan standar yang ditambahkan dan ditentukan konsentrasi asam urat dalam sampel.

Dilakukan prosedur yang sama untuk sampel urin, dan sebagai perbandingan dilakukan uji klinis kandungan asam terhadap sampel serum dan urin tersebut.

### 3.5. Skema kerja



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

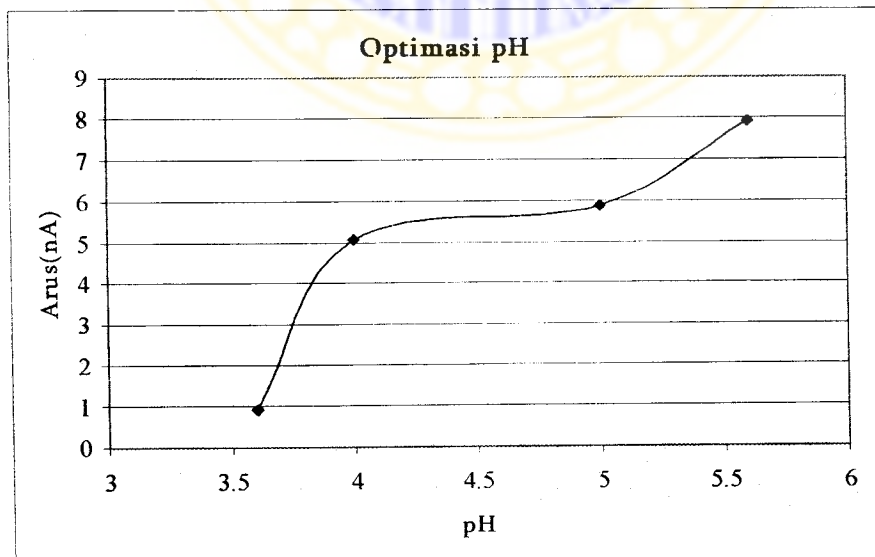
### 4.1. Optimasi pH Larutan

Pada analisis secara voltametri, suatu analit akan mengalami reduksi atau oksidasi pada pH tertentu. Analisis asam urat secara voltametri dilakukan pada pH 7,4 -7,7 dengan penambahan bufer fosfat ( Ren, 2006).

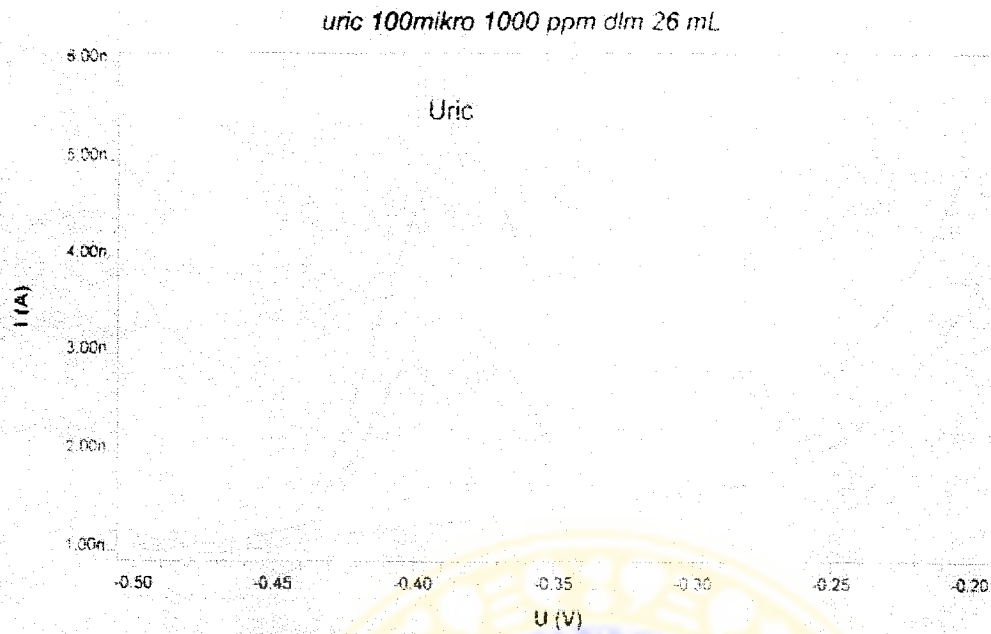
Pada penelitian dilakukan analisis terhadap standar asam urat menggunakan pH 7,4. Dengan pH tersebut tidak diperoleh sinyal arus pada voltamogram. Kemudian dilakukan optimasi pH larutan. Hasil yang diperoleh ditampilkan pada Tabel 1 dan Gambar 3, 4 dan 5 berikut.

Tabel 1. Pengaruh pH terhadap hasil analisis asam urat secara voltametri

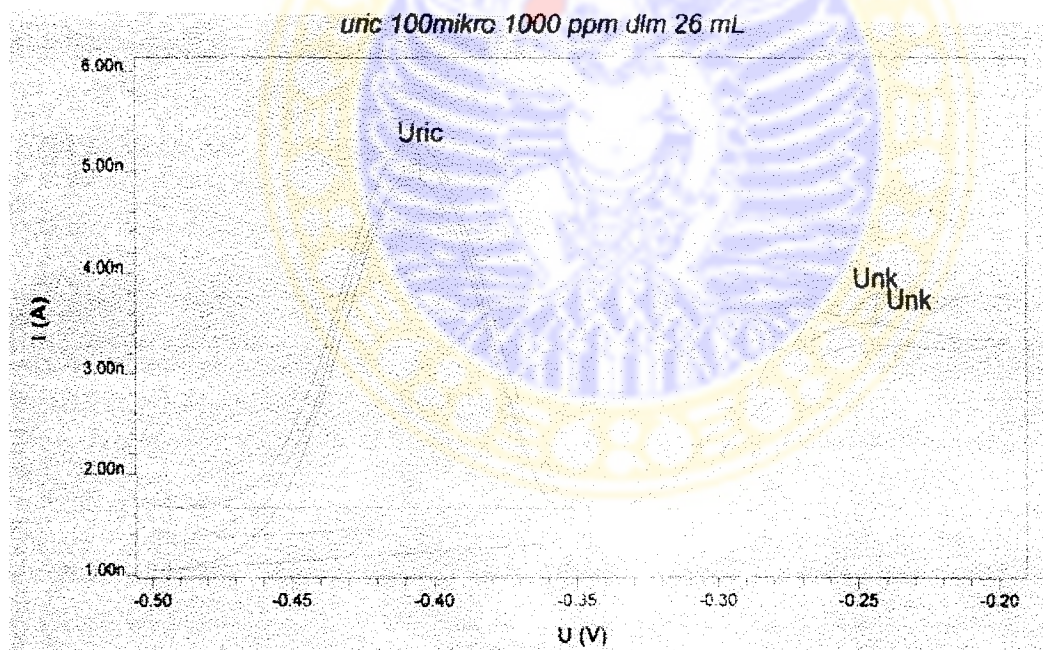
pH larutan	Arus(nA)				SD	RSD(%)
	1	2	3	rata-rata		
3,6	1.049	0.917	0.816	0.927	0.12	12.60
4	5.19	4.967	5.028	5.062	0.12	2.28
5	3.959	4.188	4.105	4.084	0.12	2.84
5,6	7.913	7.535	8.29	7.913	0.38	4.77
7,4	tidak ada sinyal					



Gambar 3. Kurva hasil optimasi pH pada analisis asam urat secara voltametri



Gambar 4. Voltamogram larutan asam urat dengan pH 3,6



Gambar 5. Voltamogram larutan asam urat dengan pH 5,6

Analisis asam urat pada pH asam (di bawah 7) menghasilkan sinyal yang bagus namun semakin tinggi pH sinyal (arus) yang dihasilkan semakin tinggi pula dan pada pH netral – basa voltamogram pecah dan tidak diperoleh sinyal pada



potensial asam urat. Dari hasil penelitian ini diambil pH optimum 5,6, sehingga untuk penelitian selanjutnya digunakan pH 5,6.

#### 4.2. Potensial Deposisi ( $E_{dep}$ )

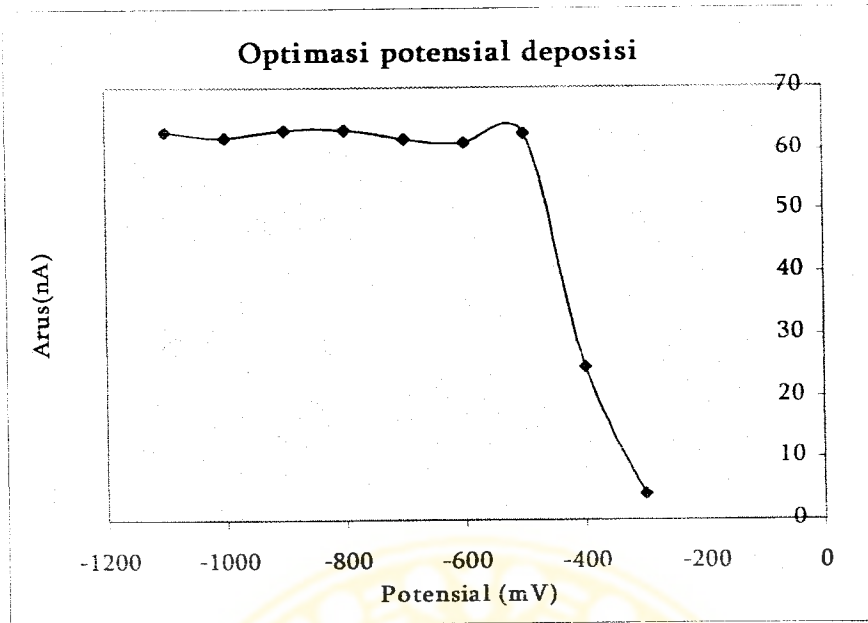
Pada saat proses elektrolisis, potensial deposisi diberikan untuk mengelektrolisis analit yang akan dianalisis pada permukaan elektroda kerja (HMDE). Analit dalam bentuk oksidan mengalami reduksi pada permukaan elektroda. Reaksi yang terjadi pada elektroda tersebut adalah



Hasil optimasi potensial deposisi ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 6, 7 dan 8. Menurut Wang (1985), pemilihan potensial deposisi yang paling baik didasarkan pada potensial yang memberikan puncak arus tertinggi dan sedapat mungkin tidak memberikan reaksi samping. Dengan waktu deposisi 30 detik pada penelitian ini diperoleh potensial deposisi optimum -900 mV. Alasan pemilihan nilai optimum ini adalah kenyataan bahwa pada potensial tersebut, tinggi puncak yang diberikan maksimum dan voltamogram yang dihasilkan bagus (tidak pecah).

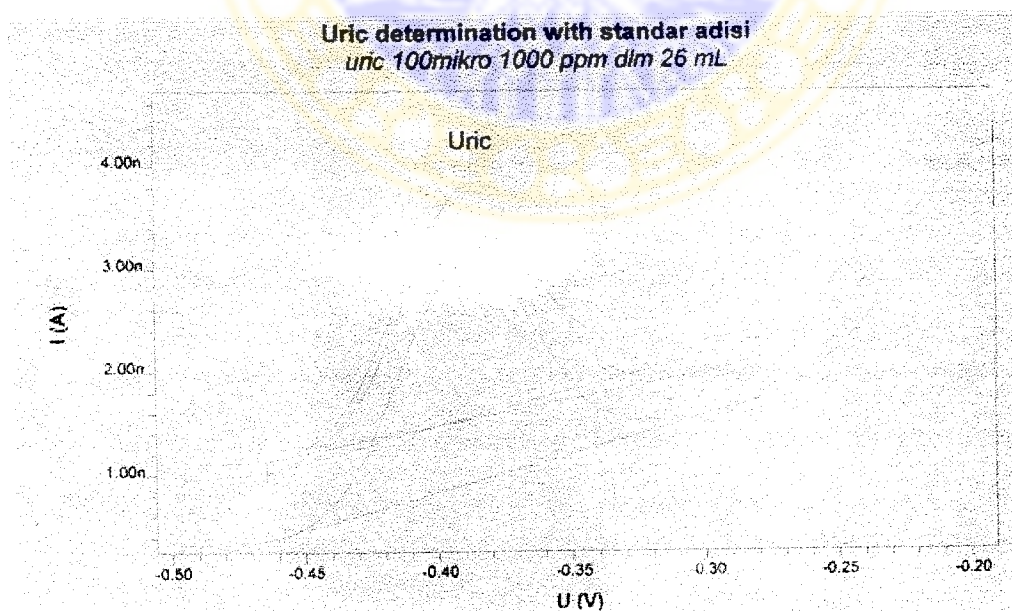
Tabel 2. Hasil optimasi potensial deposisi pada analisis asam urat secara voltametri

$E_{dep}$ (MV)	Arus (nA)				SD	RSD (%)
	1	2	3	rata-rata		
-300	4.04	4.045	3.995	4.027	0.03	0.68
-400	24.5	24.68	24.37	24.517	0.16	0.63
-500	61.69	64.26	62.11	62.687	1.38	2.20
-600	61.01	62.33	59.76	61.033	1.29	2.11
-700	61.38	64.44	59.55	61.790	2.47	4.00
-800	61.57	64.26	63.78	63.203	1.43	2.27
-900	63.41	62.87	63.1	63.127	0.27	0.43
-1000	62.19	62.87	61.05	62.037	0.92	1.48
-1100	63.44	61.83	63.18	62.817	0.86	1.38

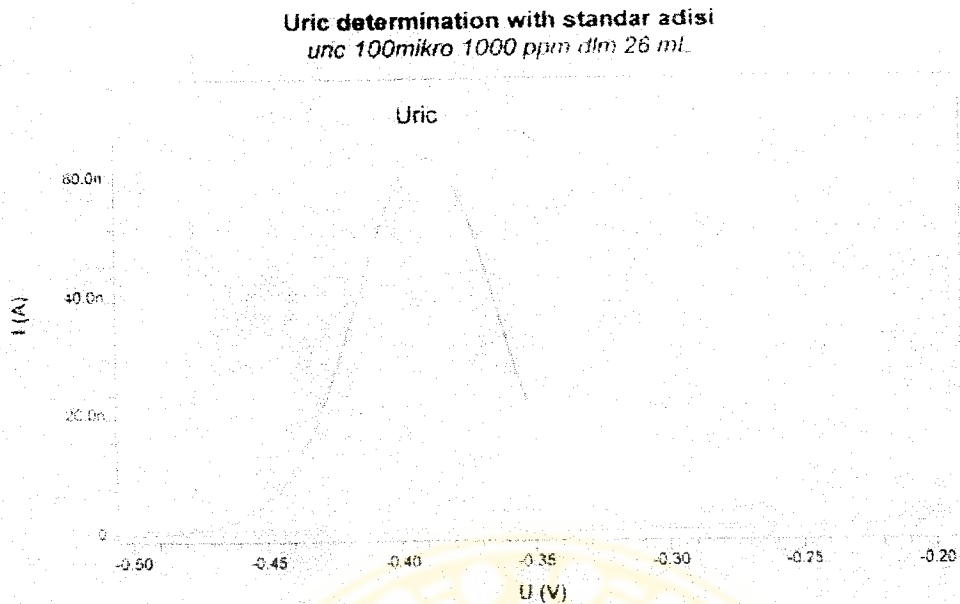


Gambar 6. Kurva pengaruh potensial deposisi terhadap arus

Potensial deposisi tidak bersifat spesifik terhadap setiap analit yang dianalisis tetapi sangat berperan dalam proses elektrolisis, voltamogram dihasilkan pada saat *sweeping* (stripping) dimana potensial bergeser ke potensial yang lebih positif. Dari hasil penelitian diperoleh potensial stripping asam urat antara -0,400 volt sampai -0,417 volt.



Gambar 7. Voltammogram asam urat dengan potensial deposisi -300 mV



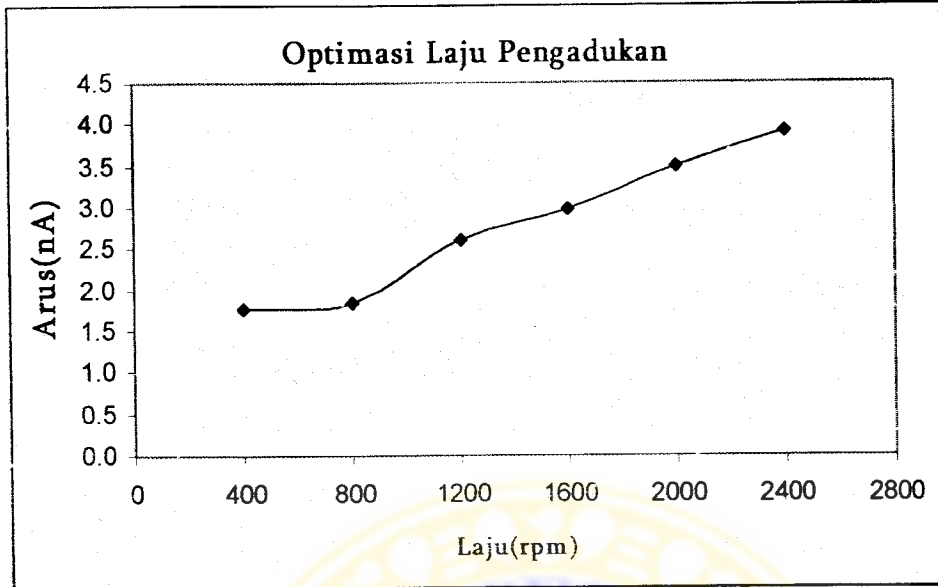
Gambar 8. Voltamogram asam urat dengan potensial deposisi -900 mV

#### 4.3. Laju Pengadukan

Dari hasil penelitian diperoleh semakin tinggi laju pengadukan, maka sinyal yang diperoleh semakin tinggi, dan voltamogram yang dihasilkan semakin bagus. Pengadukan diperlukan untuk memperoleh deposisi yang bagus dari analit ke elektroda kerja. Pada tahap deposisi pengadukan larutan berpengaruh terhadap transport konveksi (Wang, 1985), dengan demikian akan berpengaruh pula pada tinggi puncak arus yang dihasilkan. Data hasil optimasi laju pengadukan ditampilkan pada Tabel 3 dan kurva Gambar 9 berikut.

Table 3. Data hasil optimasi laju pengadukan pada analisis asam urat secara voltametri

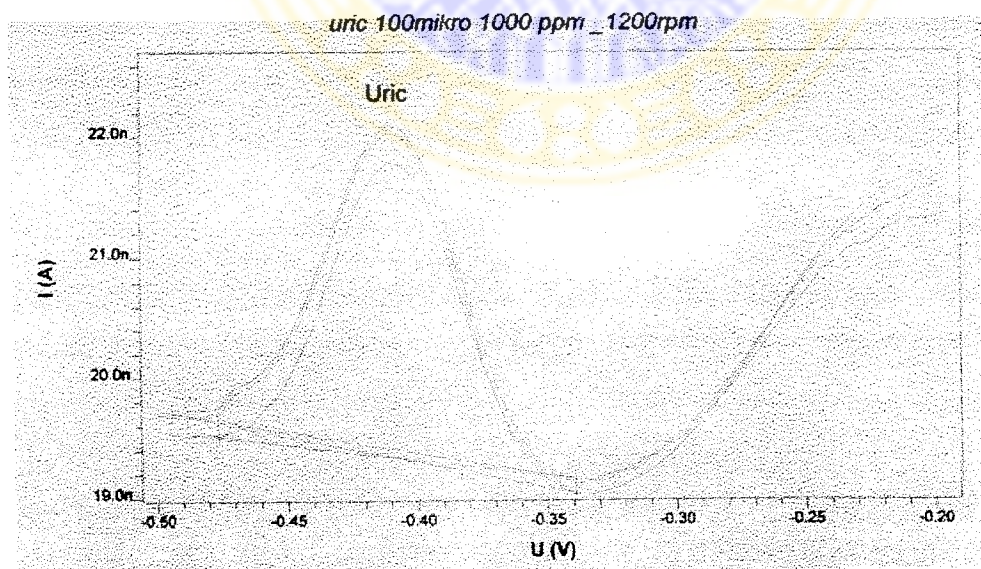
Laju pengadukan (rpm)	Arus(nA)				SD	RSD(%)
	1	2	3	rata-rata		
400	2.726	1.393	1.200	1.773	0.83	46.87
800	1.935	1.843	1.762	1.847	0.09	4.69
1200	2.693	2.449	2.696	2.613	0.14	5.43
1600	2.709	3.276	2.958	2.981	0.28	9.53
2000	3.819	3.323	3.366	3.503	0.27	7.85
2400	3.926	3.901	-	3.914	0.02	0.45
2800	Tidak ada sinyal					



Gambar 9. Kurva hubungan laju pengadukan dengan arus yang dihasilkan pada analisis asam urat

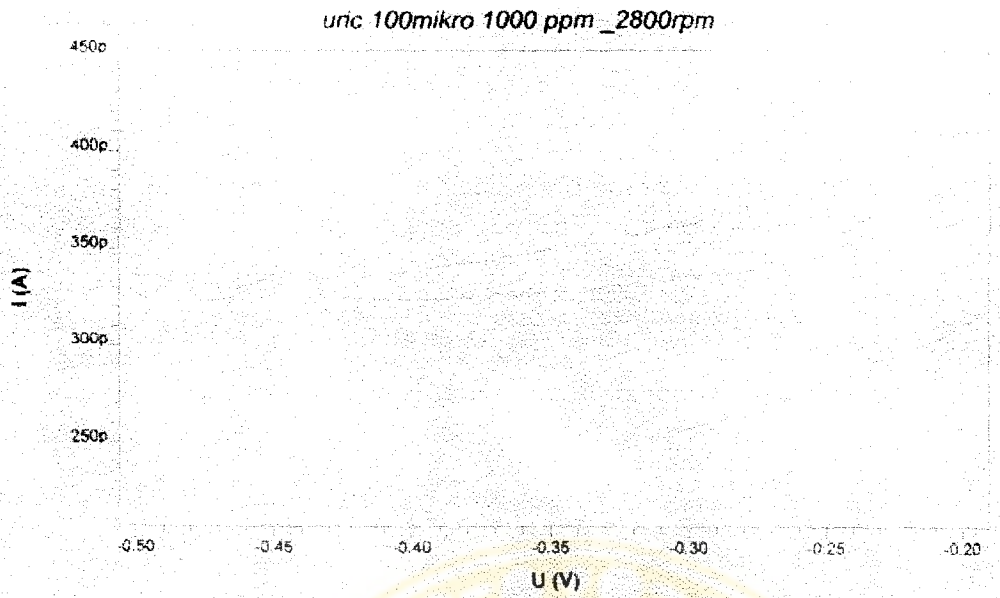
Semakin tinggi laju pengadukan semakin cepat kondisi homogen diperoleh. Namun pada laju pengadukan yang terlalu tinggi dimungkinkan terjadinya tetesan elektroda sebelum proses stripping sehingga tidak dihasilkan voltamogram saat stripping.

Contoh voltamogram hasil analisis asam urat dengan variasi laju pengadukan ditampilkan pada Gambar 10 dan 11 berikut



Gambar 10. Voltamogram asam urat dengan laju pengadukan 1200 rpm





Gambar 11. Voltamogram asam urat dengan laju pengadukan 2800 rpm

#### 4.4. Waktu Deposisi

Waktu deposisi merupakan waktu yang digunakan selama proses elektrolisis berlangsung. Menurut Wang (1985), semakin lama waktu deposisi yang diberikan semakin banyak jumlah analit yang terdeposisi pada elektroda merkuri. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan waktu deposisi adalah efisiensi waktu analisis dan menghindari terjadinya *interferensi* yang disebabkan oleh analit lain yang mempunyai potensial deposisi berdekatan atau oleh penjuanan analit pada merkuri.

Pengaruh waktu deposisi terhadap konsentrasi analit pada elektroda kerja dapat dipelajari berdasarkan hukum Faraday pada persamaan berikut.

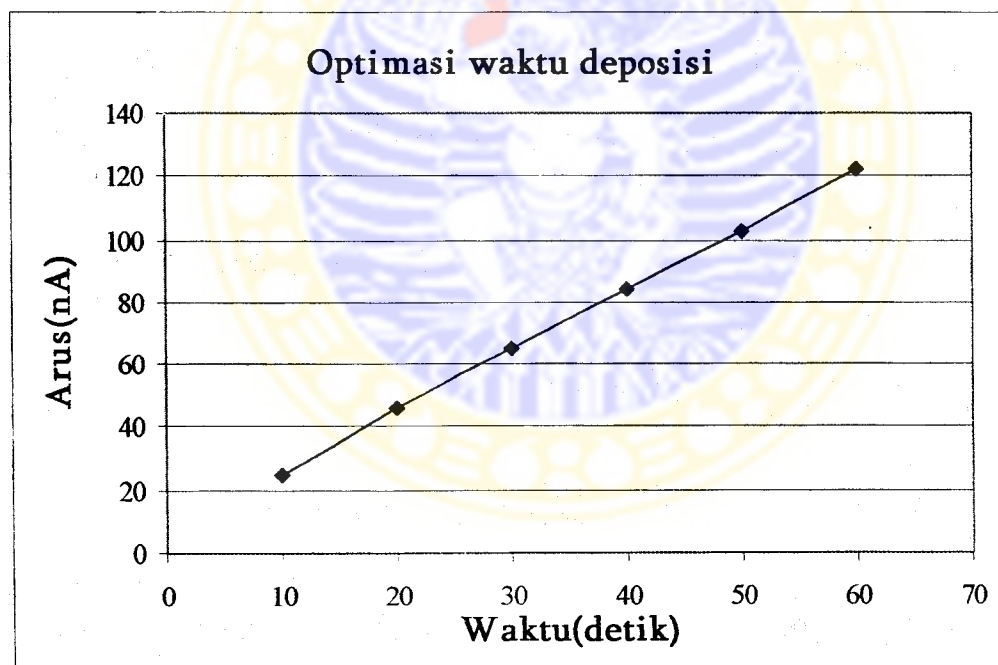
$$C_{\text{Hg}} = \frac{i_l t_d}{n F V_{\text{Hg}}}$$

Dengan ketentuan  $i_l$  adalah arus batas pada deposisi analit,  $t_d$  adalah waktu deposisi,  $n$  adalah jumlah elektron yang terlibat dalam proses deposisi,  $F$  adalah bilangan Faraday, dan  $V_{\text{Hg}}$  adalah volume elektroda merkuri (Wang, 2000). Persamaan tersebut menunjukkan bahwa semakin besar waktu deposisi yang diberikan semakin besar pula konsentrasi analit yang menempel pada elektroda merkuri.

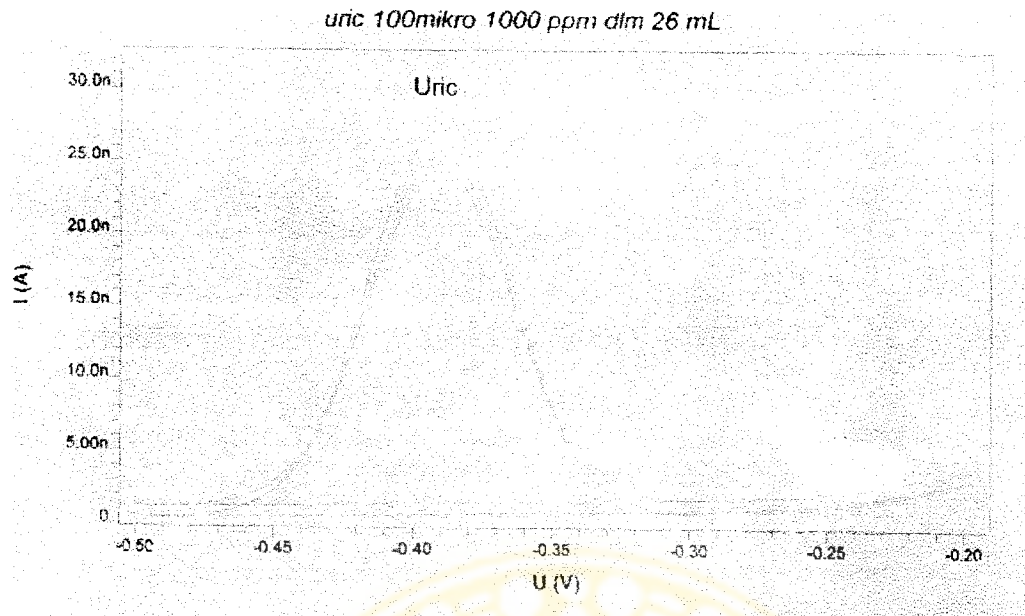
Hasil optimasi waktu deposisi ditampilkan pada Tabel 4 dan Gambar 12, sedangkan contoh voltamogram ditampilkan pada Gambar 13.

Tabel 4. Data pengaruh waktu deposisi terhadap arus yang dihasilkan pada analisis asam urat

waktu (dt)	Arus(nA)				SD	RSD(%)
	1	2	3	rata-rata		
10	22.89	26.69	24.73	24.770	1.90	7.67
20	44.04	45.78	47.04	45.620	1.51	3.30
30	65.19	66.55	63.61	65.117	1.47	2.26
40	80.94	86.51	85.47	84.307	2.96	3.51
50	99.2	102.7	106.6	102.833	3.70	3.60
60	115.8	127.8	124.2	122.600	6.16	5.02



Gambar 12. Kurva pengaruh waktu deposisi terhadap arus



Gambar 13. Voltamogram asam urat dengan waktu deposisi 10 detik

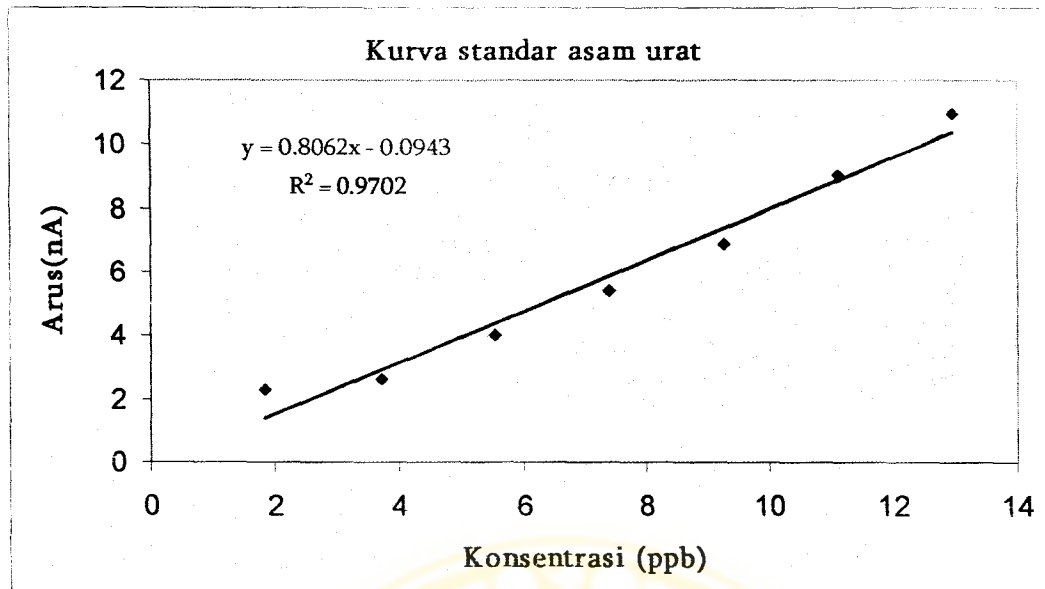
#### 4.5. Kurva standar

Kurva standar dibuat dari hasil analisis larutan standar asam urat dengan konsentrasi bervariasi menggunakan kondisi optimum parameter instrumen dan pH yang telah diperoleh dari penelitian sebelumnya. Hasil analisis terhadap larutan standar asam urat ditampilkan pada Tabel 5 dan Gambar 14.

Tabel 5. Hasil analisis larutan standar asam urat

Konsentrasi (ppb)	Arus(nA)				SD	RSD(%)
	1	2	3	rata-rata		
blanko	na	na	na	-	-	-
1.85	1.682	2.645	2.538	2.288	0.53	23.07
3.74	2.575	2.645	2.604	2.608	0.04	1.35
5.55	3.750	4.167	4.069	3.995	0.22	5.46
7.4	5.343	5.515	5.329	5.396	0.10	1.92
9.25	6.617	7.132	6.890	6.880	0.26	3.75
11.1	8.594	9.319	9.088	9.000	0.37	4.12
12.95	10.840	11.080	10.980	10.967	0.12	1.10

Ket : na = tidak ada sinyal



Gambar 14. Kurva standar larutan asam urat

Dari kurva tersebut diperoleh persamaan regresi  $y = 0,8062x - 0,0943$  dengan harga koefisien korelasi( $r$ ) sebesar 0,985.

#### 4.6. Linieritas, Batas Deteksi, Sensitivitas dan Ketelitian

Linieritas menggambarkan seberapa jauh sinyal berhubungan linier dengan konsentrasi. Linieritas pada penelitian ini dinyatakan sebagai harga koefisien korelasi( $r$ ) sebesar 0,985.

Batas deteksi merupakan konsentrasi minimum yang masih dapat terdeteksi dengan batas kepercayaan yang diinginkan (Skoog, 1992). Batas deteksi yang diperoleh untuk analisis asam urat menggunakan metode ini adalah sebesar 0,418 ppb.

Sensitivitas alat dapat dipelajari berdasarkan slope pada kurva standar. Pada penelitian ini dihasilkan kurva standar yang memiliki slope sebesar 0,8062 nA/ppb. Slope pada kurva standar tersebut menunjukkan bahwa sedikit saja perubahan pada nilai konsentrasi ( $x$ ) mengakibatkan perubahan yang cukup besar pada nilai puncak arus ( $y$ ) yang dihasilkan (Miller, 1988). Hal ini menunjukkan alat yang digunakan sangat sensitif.

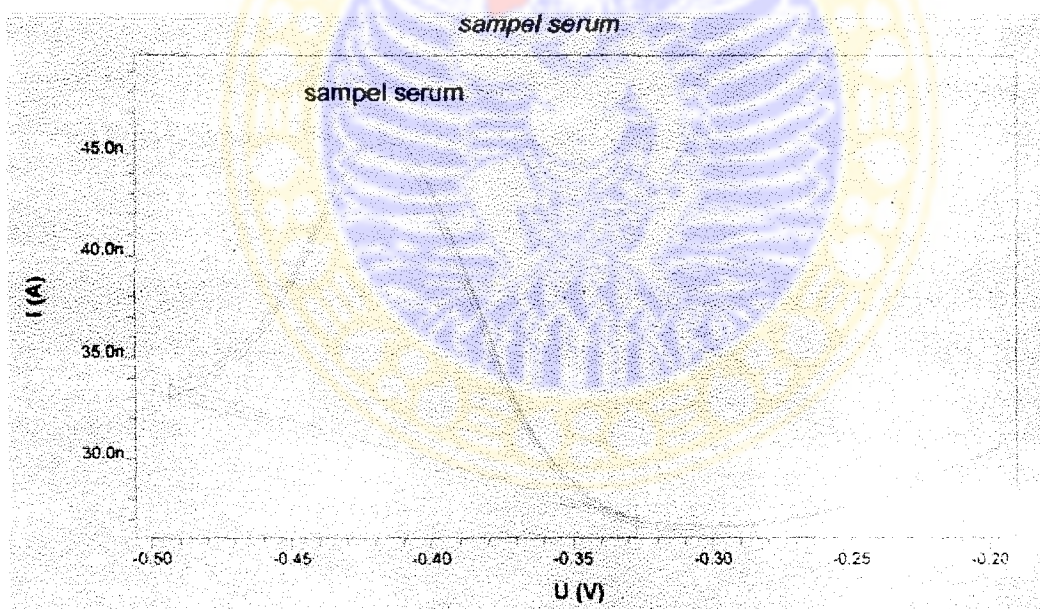
Pada penelitian ini diperoleh ketelitian untuk larutan standar asam urat 0,85 – 12,95 ppb berkisar antara 1,1 – 23,7%.



#### 4.7. Analisis Kadar Asam Urat dalam Sampel

Setelah dilakukan optimasi dan pembuatan kurva standar maka metode voltametri stripping digunakan untuk analisis kadar asam urat dalam sampel serum. Dilakukan sentrifuge terhadap sampel darah (kode sampel MY), kemudian diambil serumnya dengan pipet tetes. Dipipet secara kuantitatif 1,0 mL sampel serum, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diperlakukan sama seperti larutan standar asam urat yaitu ditambah dengan 1 mL bufer pH 5,6 dan diencerkan sampai tanda batas. Larutan tersebut dianalisis secara voltametri menggunakan kondisi optimum yang sudah diperoleh sebelumnya.

Hasil analisis kadar asam urat dalam sampel serum (Kode sample MY) secara voltametri diperoleh kadar  $0,356 \text{ ppm}$  ( $3,56 \times 10^{-2} \text{ mg/dL}$ ). Voltamogram hasil penentuan kadar asam urat dalam serum sampel tersebut ditampilkan pada Gambar 15 berikut.



Gambar 15 Voltamogram asam urat dalam sampel serum (Kode MY)

Analisis kadar asam urat dalam sampel urin belum diperoleh hasil karena matrik dalam sampel urin mengganggu ditandai dengan pecahnya *peak* voltamogram.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Kondisi optimum analisis asam urat secara voltametri adalah pH larutan 5,6, laju pengadukan 2000 rpm, potensial deposisi -900 mV dan waktu deposisi 60 detik.
2. Linieritas dinyatakan sebagai harga koefisien sebesar 0,985, batas deteksi 0,418 ppb, sensitivitas 0,8062 nA/ppb sedangkan ketelitian metode untuk konsentrasi 1,87 – 12,95 ppb sebesar 1,1 – 23,7%. Sedangkan untuk recovery belum diperoleh hasil.
3. Aplikasi metode untuk analisis kadar asam urat dalam sampel dilakukan terhadap sampel serum (kode MY) dan diperoleh kadar asam urat sebesar 0,356 ppm ( $3,56 \times 10^{-2}$  mg/dL) dan hasil analisis kadar asam urat pada sampel urin belum diperoleh.
4. Pada saat laporan ini dibuat sedang dipelajari pengaruh penambahan asam askorbat pada analisis asam urat secara voltametri

#### 5.2. SARAN

Saran yang dapat diajukan dari hasil penelitian ini adalah perlu dipelajari pengaruh matriks lain yang berada dalam sampel urin dan serum terhadap analisis kadar asam urat.



## DAFTAR PUSTAKA

- Bohari, 1996, Analisis Kadmium, Timbal dan Tembaga dengan Metoda Voltametri Pelarutan Kembali Anodik Pulsa Diferensial, *Tesis*, PPS Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Chen, J.C., Chung, H.H., Hsu, C.T., Tsai, D.M., Kumar, A.S., and Zen, J.M., 2005, A disposable single-use electrochemical sensor for the detection of uric acid in human whole blood, *Sensors and Actuators B* 110:364
- Churacek, J., 1993, *Advanced Instrumental Methods of Chemical Analysis*, Ellis Horwood, England
- Day, J.R. dan Underwood, A.L., 2001, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi keenam, Penerjemah Sopyan, lis, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Drabaek, L., Madsen, PP., and Sorensen, J., 1983, *Analysis of Sea Water by Potentiometric Stripping Analysis*, Science Publisher Inc., New York
- EI-Maali, N.A., 2004, Voltammetric analysis of drugs, *Biochemistry*, 64: 99-107
- George, S.K., Dipu, M.T., Mehra, U.R., Singh, P., Verma, A.K., and Ramgaokar, J.S., 2006, Improved HPLC method for the simultaneous determination of allantoin, uric acid, and creatinine in cattle urine, *Journal of Chromatography B* 832: 134
- Harvey, D., 2000, *Modern Analytical Chemistry*, Mc Graw-Hill International Edition, Singapore
- Lawrence, N.S., beckett, E.L., Davis J and Compton, R.G., 2002, Advances in the Voltammetric Analysis of Small Biologically Relevant Compound, *Analytical Biochemistry*, 303: 1-16.
- Martinez, S., valek, L., Resetic, J., and Ruzic, D.F., 2006, Cyclic Voltammetry study of plasma antioxidant capacity – comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 588:68 – 73.
- Mendham, J., denney, R.C., bames, J.D., and Thomas, MJK., 2000, *Vogel's: Textbook of Quantitative Chemical Analysis*, sixth edition, Prentise Hall, London
- Metrohm, *Applications Notes Polarography and Voltammetry*, 797 Computrace Voltmeter MVA System 1, V-56
- Miland, E., Ordieres, A.J.M., Blanco, P.T., Smyth, M.R., and Fagain, C.O., 1996, Poly(o-aminophenol)-modified bienzyme carbon paste electrode for the detection of uric acid, *Talanta* 43: 785

- Miller, J.C and Miller, J.N., 1988, *Statistics for Analytical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> edition, Ellis Horwood Limited, New York.
- Ren, W., Luo, H.Q., and Li, N.B., 2006, Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at glassy carbon electrode modified with caffeic acid, *Biosensors and Bioelectronics*, 21:1086 – 1092.
- Shahrokhian, S. and Ghalkhani, M., 2006, Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and uric acid at a carbon-paste modified electrode incorporating thionine-nafion ion-pair as an electron mediator, *Electrochimica Acta* 51: 2599
- Skoog, DA and Leary, JJ., 1992, *Principles of Instrumental Analysis*, fourt edition, A Harcourt Brace Jovanovich College Publisher, United States of America
- Smyth and Vos, JG., 1992, *Analytical Voltammetry*, Elsevier Science Publisher, Netherland
- Wang, J., 1985, *Stripping Analysis: Principle*, VCH Publisher, Derfield Beach
- Wang, J., 2000, *Analytical Electrochemistry*, Wiley-VCH, Canada
- Zare, H.R., Rajabzadeh, N., and Ardakani, M.M., 2006, Voltammetric studies of an oracet blue modified glassy carbon electrode and its application for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, in press
- Zen, J.M., and Hsu, C.T., 1998, A selective voltammetric method for uric acid detection at Nafion-coated carbon paste electrode, *Talanta* 46: 1363