

**PEMBUATAN BIOSENSOR UREA BERBASIS
IMMOBILISASI UREASE DALAM KHITIN**

Skripsi

Oleh:

Rezanta Dharmantaka (11630033)



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2016**

ABSTRAK

Dharmantaka, R. **Pembuatan Biosensor Urea berbasis immobilisasi Urease dalam Khitin.** Pembimbing I: Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm.
Pembimbing II: Nur Aini, M.Si. Konsultan: Diana Candra Dewi, M.Si

Kata Kunci: biosensor, immobilisasi, khitin, urea

Biosensor untuk urea dapat dibuat melalui teknik immobilisasi urease dalam suatu material pendukung salah satunya khitin. Penelitian ini bertujuan untuk membuat dan mengkarakterisasi matrik khitin sebagai biosensor berdasarkan limit deteksi, linearitas dan sensitivitas.

Pembuatan Biosensor urea melalui 2 tahap, yaitu pembuatan matrik khitin dan pembuatan sel elektrokimia. Matrik khitin dibuat dengan mencampurkan Polivinil alkohol dengan khitin pada perbandingan 1:4. Larutan dituangkan pada kaca dan dikeringkan pada suhu 25 °C selama 2 hari. Potensial oksidasi diukur pada sel elektrokimia matriks kitin tanpa urease dan matriks khitin dengan urease. Penentuan potensial oksidasi dilakukan dengan mengukur larutan standart urea pada kondisi optimum biosensor. Variasi larutan urea standart yang digunakan mulai 4,167 mM; 3,333 mM; 2,5 mM; 1,67 mM; sampai 1 mM.

Matrik khitin sebagai biosensor memiliki performansi analitik berupa nilai koefisien korelasi (linearitas) sebesar 0,999; sensitivitas sebesar 1,479 mV/mM; dan limit deteksi sebesar 0,117 mM. Matrik khitin-urease sebagai biosensor memiliki performansi analitik berupa nilai koefisien korelasi (linearitas) sebesar 0,990; sensitivitas sebesar 6,904 mV/mM; dan limit deteksi sebesar 0 mM.

ABSTRACT

Dharmantaka, R. **The Making of Urea Biosensor based-on Immobilization of Urease in Chitin.** Advisor I: Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm. Advisor II: Nur Aini, M.Si. Consultant: Diana Candra Dewi, M.Si

Keyword: biosensor, immobilisasi, khitin, urea

Biosensor for urea can be made through immobilized urease in a material support such as chitin. The aim of this research is to make and characterize a matrix of chitin as biosensor based on its limit detection, linearity and sensitivity upon the urea compound.

Urea biosensor has been made through two stages : making a Chitin's matrix and testing of its electrochemical cell. The matrix of chitin made by mixing of polivinil alcohol with chitin in proportion 1:4. Resulted solution then poured on the glass and dried at a 25°C for two days. Standart potential value was measured on mathrix of chitin with urease enzyme and matrix of chitin without urease. Standart potential determined by measuring solution standart urea on condition optimum Variation solution urea standart that used to begin 4,167 mm; 3,333 mm; 2,5 mm; 1,67 mm; until 1 mm.

Matrix chitin as biosensor having analytic performance correlation coefficient (linearity) value of 0,999; sensitivity of 1,479 mV / mM; and limit detection of 0,117 mM. Matrix of Chitin-urease as biosensor having correlation coefficient (linearity) value of 0,990; sensitivity of 6,904 mV / mM; and limit detection of 0 mm.

درمنتك, ر.2016. صنع الرقابة الحيوية يوريا بأساس التثبيت البيورياسي في خطين. مسرفة الاولى: بغوم فوزية الماجستر. مسرفة الثانية: نور عين الماجستر. مسرفة الثالثة: ديانا جندر دوي الماجستر.

الكلمة الرئيسية: رقابة الحيوية, التثبيت, خطين, يوريا

تستطيع ان تصنع رقابة الحيوية ليوريا بطريقة التثبيت بيورياسي في المادة المساعدة احدها خطين. هدف البحث هو للصنع و التمثيل القالب خطين كرقابة الحيوية عن الكشف المقصور و الطولية و حساسية. صنع الرقابة الحيوية يوريا على قسمين, صنع القالب خطين و خلية كهروكيميائية. صنع القالب خطين هو يخلط الكحول الفوليفنيل بخطين بنسبة 1:4. يضع المحلول على الدجاج و يجفف في الدرجة الحرارة 25 سلزيوس لمدة يومان. يقاس الجهد التأكسد في الخلية الكهروكيميائية قالب خطين بيورياسي و دونه.فعل تعيين الجهد التأكسد بمقياس المحلول يوريا المستوى في جملة الرقابة الحيوية العالية. تغيير المحلول يوريا المستوى المستعمل من mM 1, mM 2,5, mM 3,333, mM 4,617 حتى mM 1. القالب الخطين كرقابة الحيوية له تطبيق التحليل المنطقي بشكل القيمة المعامل المرتبط على 0,999؛ حساسية على 1,479 mV/mM؛ و اقتصر الكشف 0,017 mM. القالب الخطين كرقابة الحيوية له تطبيق التحليل بشكل القيمة المعامل المرتبط على 0,990؛ حساسية على 6,904 mV/mM؛ و اقتصر الكشف 0 mM.



KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah rabbil'alamin. Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena hanya berkat rahmat, hidayah dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “**Pembuatan Biosensor Urea Berbasis Immobilisasi Urease dalam Khitin**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dengan semaksimal mungkin, walupun

masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dari apa yang penulis upayakan ini dapat bermanfaat bagi semua, sebagai ilmu yang bermanfaat dan barokah. Amin.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi baik dukungan moral maupun spiritual demi suksesnya penyusunan skripsi ini kepada:

1. Kedua orang tua, adik – adik dan keluarga besar tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang Bapak Prof. H. Mudjia Raharjo, M.Si.
3. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Ibrahim Malang Ibu Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
4. Ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si.
5. Dosen pembimbing Ibu Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm dan Ibu Nur Aini, M.Si, Diana Candra Dewi M.Si, karena atas bimbingan, pengarahan, kesabaran dan motivasinya penyusunan skripsi dapat diselesaikan.
6. Dosen Penguji, Ibu Eny Yulianti, M.Si dan Diana Candra Dewi M.Si atas masukan dan sarannya dalam hasil penelitian ini bisa menjadi lebih baik.
7. Segenap laboran dan staf administrasi kimia yang telah banyak membantu sehingga skripsi ini terselesaikan.
8. Teman - teman kimia angkatan 2011, atas motivasi dan dukungannya selama menuntut ilmu di kampus tercinta.
9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu, yang secara langsung maupun tidak telah membantu penulis menyelesaikan studi.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Malang, 13 Januari 2016

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1	Latar
Belakang	1

1.2	Rumusan Masalah.....	8
1.3	Tujuan Masalah	8
1.4	Batasan Masalah	9
1.5	Manfaat Masalah	9
BAB II TINJAUAN PERUSAHAAN		
2.1	Urea	10
2.2	Khitin.....	11
2.2.1	Pembuatan Biosensor Urea dalam Kajian Islam	15
2.3	Enzim	18
2.4	Biosensor.....	19
2.4.1	Definisi Biosensor	19
2.4.2	Komponen Biosensor	20
2.4.2.1	Komponen Biodeteksi	20
2.4.2.2	Komponen Transduksi	22
2.4.2.3	Komponen Pemrosesan Sinyal	23
2.4.3	Immobilisasi Bioreseptor	24
2.4.3.1	Teknik mikroenkapsulasi	24
2.4.4	Performansi Biosensor	24
2.5	Elektrokimia	26
2.5.1	Sel Elektrokimia.....	26
2.5.1.1	Sel Galvani	26
2.5.1.2	Notasi Sel dan Reaksi sel	27
2.5.1.3	EMF dan Pengukurannya.....	27
2.5.1.4	Potensial Sel dan Potensial Elektroda	28
2.5.1.5	Elektroda membrane Selektif-ion (ISE).....	29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.1.1	Tempat Penelitian.....	30
3.1.2	Waktu Penelitian	30
3.2	Alat dan Bahan	30
3.2.1	Alat.....	30
3.2.2	Bahan	30
3.3	Cara Kerja.....	31
3.3.1	Preparasi Bahan.....	31
3.3.1.1	Pembuatan Larutan induk 0,1 M	31

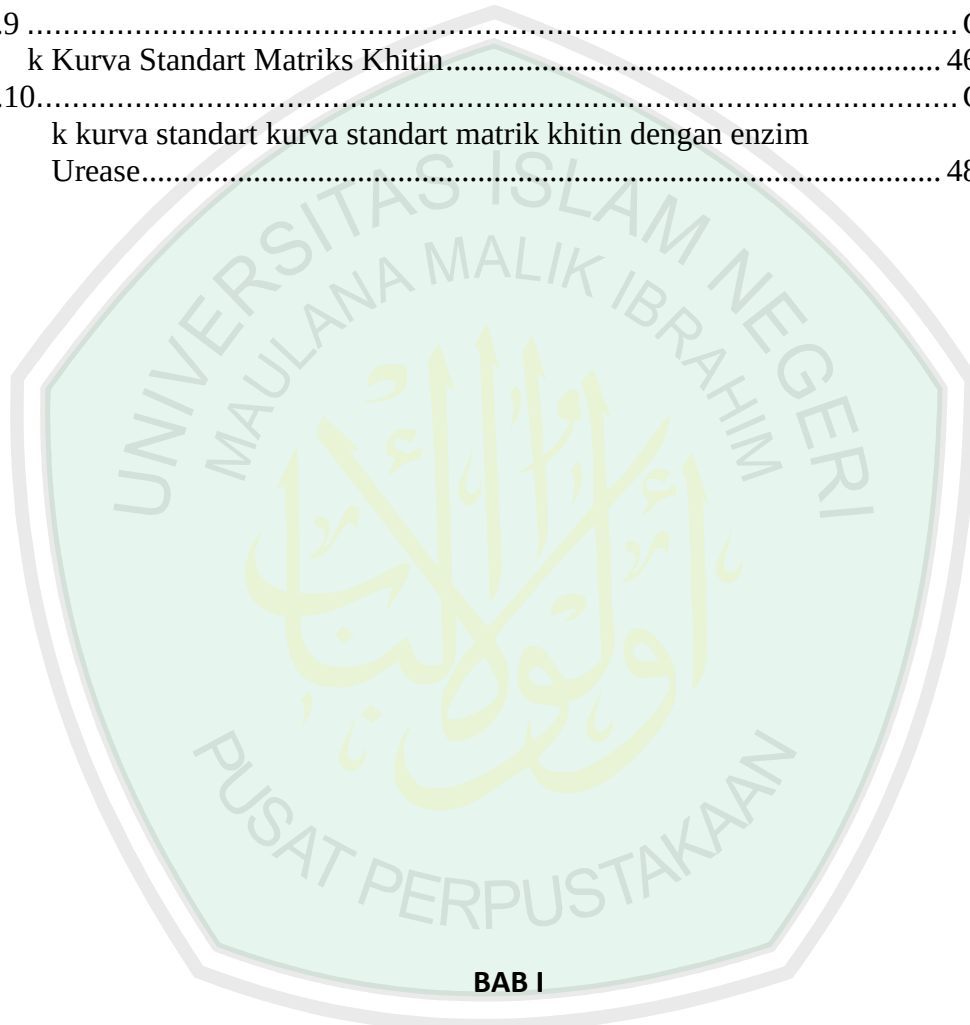
3.3.1.4 Pembuatan Larutan Standar Urea.....	31
3.3.2 Pembuatan khitin	31
3.3.2.1	Penyi
apan kulit udang	31
3.3.2.2	Isolas
i Khitin dari kulit udang	31
3.3.2.2.1 Deproteinasi	31
3.3.2.2.2 Demineralisasi.....	32
3.3.3 Pembuatan Matriks Khitin.....	32
3.3.4 Pembentukan Matrik Khitin	32
3.3.5 Pembuatan Biosensor Urea.....	32
3.3.6 Pembuatan Sel Elektrokimia.....	33
3.3.7. Penentuan Potensial Oksidasi Optimum Biosensor.....	33
3.4	Kara
kterisasi Biosensor Urea	34
3.4.1 Daerah Linear (<i>Linear range</i>)	34
3.4.2 Limit Deteksi.....	34
3.4.3 Sensitivitas	35
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1	Prepa
rasi Sampel.....	36
4.1.1.....	Penyi
apan kulit udang	36
4.1.2.....	Isolas
i Khitin dari kulit udang	37
4.1.2.1 Deproteinasi	37
4.1.2.2 Demineralisasi.....	38
4.2	Pemb
uatan Matrik Khitin	40
4.2.1 Karakterisasi Matrik Khitin	42
4.2.2 Karakterisasi Matrik Khitin-Urease	43
4.3	Pemb
uatan Biosensor Urea	43
4.4	Pene
ntuan Potensial Optimum Biosensor Urea	44
4.5	Perfo
rmansi Analitik Biosensor Urea	45
4.5.1 Matrik khitin	45
4.5.1.1 <i>Linear range</i>	45
4.5.1.2 Limit Deteksi.....	47
4.5.1.3 Sensitivitas	47
4.5.2 Matrik khitin-urease	47
4.5.2.1 <i>Linear range</i>	47
4.5.2.2 Limit Deteksi.....	49
4.5.2.3 Sensitivitas	49
4.6	Pemb
uatan Biosensor Urea dalam Kajian Islam	50
BAB V PENUTUP	

5.1	Kesi
mpulan.....	55
5.2	Saran
.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
Lampiran	59

DAFTAR GAMBAR

2.1	Struk
tur Kimia Khitin.....	12
2.2	Meka
nisme reaksi enzim.....	18
2.3	Reak
si yang Dikatalisis Enzim Sesuai dengan Peningkatan	
Produk dan Waktu.....	19
2.4	Skem
a Kerja Biosensor	20
2.5	Bera
gam Jenis biosensor berdasarkan prinsip kerja biodeteksinya.....	22
2.6	Klasi
fikasi biosensor berdasarkan piranti transduser yang	
Dipergunakan	23
2.7	Elekt
roda membran selektif-ion (ISE)	29
3.1	Biose
nsor Urea	33
3.2	Sel
elektrokimia	33
4.1	Serbu
k kulit udang setelah diblender	37
4.2	Intera
ksi dugaan antara protein dengan NaOH	37
4.3	Reak
si antara Protein, CuSO ₄ , NaOH pada Uji Biuret	38
4.4	Gugu
s NH mendapatkan donor proton dari asam asetat.....	41
4.5	Intera
ksi khitin dengan polivinil alkohol.....	42

4.6	Matrik Khitin	42
4.7	Matrik Khitin-Urease	43
4.8	pH meter (Ion Meter) yang telah telapiskan dengan Matrik Khitin dalam Larutan Urea	44
4.9	Grafik Kurva Standart Matriks Khitin	46
4.10.....	Grafik kurva standart kurva standart matrik khitin dengan enzim Urease.....	48



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Khitin dapat diperoleh dari kulit udang. Udang merupakan salah satu kekayaan alam dalam lautan yang telah ditundukkan oleh Allah SWT untuk kepentingan manusia, Sebagaimana terdapat dalam firman Allah dalam surat Al-Jaatsiyah Ayat 12:

اللّٰهُ الَّذِي سَخَّرَ لَكُمُ الْبَحْرَ لِتَجْرِيَ الْفُلُكُ فِيهِ بِأَمْرِهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ (٢٢)

Artinya: Allah-lah yang menundukkan lautan untukmu supaya kapal-kapal dapat berlayar padanya dengan seizin-Nya dan supaya kamu dapat mencari karunia -Nya dan mudah-mudahan kamu bersyukur (Q.S. Al-Jaatsiyah Ayat 12).

Ayat diatas menerangkan bahwa kita semua harus mensyukuri adanya kekayaan hasil laut yang ada dimuka yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Karena adanya bumi khususnya indonesia letak geografis dari lingkungan hidup setiap lautan, menyebabkan hewan mempunyai manfaat sendiri-sendiri. Udang merupakan salah satu hewan laut, kulit udang yang menjadikan limbah diperairan lautan di indonesia yang dapat dimanfaatkan di berbagai bidang baik itu di bidang ekonomi, kesehatan, dan industri. Salah satu pemanfaatan udang yang mulai berkembang saat ini yaitu di bidang kesehatan yang digunakan sebagai biosensor atau detektor maupun sensor.

Khitin ($C_8H_{13}O_5N$)_n (dalam bahasa Inggrisnya disebut *chitin* (baca: kaitin) adalah polimer berantai panjang dari asetilglukosamin-N, sebuah turunan dari glukosa. Zat ini ditemukan di banyak tempat di seluruh dunia. Khitin adalah komponen utama dari *exoskeleton* (kerangka luar) dari *arthropoda* seperti *crustacea* (udang - udangan seperti kepiting dan udang).

Khitin mempunyai tekstur yang baik, warna yang lebih putih, protein dan mineral yang tidak terlalu tinggi. Salah satu sifat dari khitin adalah dapat mengikat ion logam (*chelates metal ions*) seperti Fe, Cu, Cd, Hg, serta mempunyai sifat adsorpsi. Khitin sulit dicerna oleh tubuh karena berupa polimer glukosa, namun dapat mengikat racun dan glukosa di dalam tubuh. Glukosa yang terdapat pada khitin tidak berubah menjadi glukosa darah sehingga tidak menambah produksi kolesterol. Khitin adalah polimer yang sangat baik untuk immobilisasi enzim dan banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman

karena polimer tersebut tidak toksik, tersedia dalam berbagai bentuk (*gel*, *powder*, *fiber* dan membran), afinitasnya tinggi terhadap enzim, mudah diderivatisasi, banyak tersedia di alam, dan harganya relatif murah (Spagna dkk., 2001 dalam jurnal Nazaruddin, 2007).

Pengembangan detektor urea dengan menggunakan membran khitin banyak dilakukan untuk memenuhi kebutuhan analisis kadar urea yang mudah dan murah dalam banyak bidang seperti bidang kesehatan, industri, dan pertanian, salah satunya dilakukan melalui biosensor optik. Biosensor urea diperlukan dalam memonitoring diabetes dan memprediksikan indikasi adanya gangguan pada liver. Biosensor urea juga penting diaplikasikan dalam bidang pertanian, perkebunan, kesehatan, dan *hydroponic* dimana pengukuran urea dapat dilakukan pada sampel tanah, air permukaan, urin maupun darah manusia. Biosensor optik untuk urea dikembangkan melalui teknik immobilisasi urease dalam suatu material pendukung atau matrik (Fauziah, 2012).

Urea merupakan biomolekul yang penting untuk manusia. Urea dibentuk dari hasil siklus urea di tubuh dari amoniak atau oleh oksidasi asam amino. Urea dikeluarkan melalui urin atau keringat. Cairan di tubuh mengandung banyak urea. Kadar urea yang melebihi batas normal akan menimbulkan racun. Konsentrasi urea di serum darah atau urin sangat sering digunakan sebagai indikator penyakit ginjal, seperti diabetes, dan untuk analisis laboratorium kesehatan (Fatima, dan Mishra, 2011).

Urea dalam darah atau urin merupakan zat penting untuk diagnosis penyakit hati dan ginjal. Urea merupakan molekul dari amonia yang dibentuk pada proses deaminasi asam amino dalam hati. Menurut Dahliani (1995) bahan

dasar urea adalah ammonia, karbondioksida. Menurut Harper (2003) Kadar urea dalam darah orang dewasa adalah 5 – 25 mg/dL, jika kuantitas urea melebihi batas normal akan mengakibatkan tingginya kandungan urea dalam darah dan umumnya terjadi pada penderita gagal ginjal. Oleh karena itu, sangat dibutuhkan analisis kandungan urea untuk keperluan diagnosa. Salah satu contoh analisis yang dapat dilakukan adalah penentuan kadar urea dalam larutan serum (Khairi, 2005). Penentuan kadar urea dalam larutan serum dapat menggunakan suatu metode bioreseptor, sehingga dapat menciptakan alat biosensor untuk menentukan kadar urea dalam larutan serum.

Bioreceptor merupakan *immobilized sensitive* unsur biologi yang digunakan untuk pengenalan analit seperti substrat enzim, DNA, dan antigen, dimana enzim secara arti luas digunakan untuk biosensor dalam organisme hidup (komponen biologis) seperti antibodi dan enzim yang bekerja sebagai penginderaan dan pengendalian alam. Sebuah transduser digunakan untuk mengubah bio sinyal kimia yang dihasilkan dari interaksi analit dengan *bioreceptor* menjadi satu elektronik. Intensitas sinyal yang dihasilkan secara langsung atau berbanding terbalik dengan konsentrasi analit. Elektrokimia transduser sering digunakan untuk mengembangkan biosensor. Sistem ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya biaya yang relatif rendah, desain yang sederhana atau dimensi kecil. Biosensor juga dapat didasarkan pada deteksi gravimetri, kalorimetrik atau optik. Biosensor dikategorikan sesuai dengan prinsip-prinsip dasar transduksi sinyal dan elemen *biorecognition*. Menurut elemen transducer, biosensor dapat dibagi menjadi empat macam antara lain: elektrokimia, sensor optik, piezoelektrik, dan termal. (Koyun dkk., 2012).

Biosensor elektrokimia juga dapat dibagi menjadi tiga yaitu potensiometri, amperometri dan sensor konduktometrik. Biosensor dapat diterapkan antara lain: klinik, diagnostik penyakit, aplikasi medis, proses kontrol, bioreaktor, kontrol kualitas, pertanian dan kedokteran hewan, bakteri dan virus diagnostik, produksi tarik, kontrol air limbah industri, pertambangan, pertahanan militer industri, dan lain-lain. Beberapa keuntungan biosensor menurut Liu dan Lin, (2005) tentang *Electrochemical Sensor* adalah: untuk dapat mengukur molekul nonpolar yang tidak menanggapi sebagian besar pengukuran perangkat, biosensor adalah spesifik karena sistem bergerak yang digunakan di dalamnya, kontrol yang cepat dan terus-menerus mungkin dengan biosensor, waktu respon yang singkat (biasanya kurang dari satu menit) dan praktis.

Adapun kerugian biosensor yaitu: pemanasan yang steril tidak tepat karena dapat mendenaturasi bahan *biological* (contoh: enzim, antibodi, jaringan). Bahan dasar molekul yang dapat mendenaturasi tergantung pada kondisi lingkungan (suhu, ion, dan pH), pada membran biosensor dapat menjadi pencampuran oleh molekul yang menyebarkan melewati membrane (Liu dan Lin, 2005). Sensor *Bioelectroanalytical* memungkinkan analisis spesies dengan kekhususan besar, sangat cepat, biaya yang sangat selektif dan murah sensitif pada prinsipnya, dapat digunakan dalam analisis klinis, proses kontrol untuk industri dan lingkungan, atau bahkan in vivo.

Enzim adalah protein dengan aktivitas katalitik yang tinggi dan selektivitas terhadap substrat. Para peneliti telah selama puluhan tahun untuk mengukur konsentrasi analit beragam (Guibault, G.G. 1976). Komersial ketersediaan di

tingkat kemurnian tinggi membuat mereka sangat menarik untuk produksi massal sensor enzim. Keterbatasan utama dari menggunakan enzim adalah bahwa pH, kekuatan ion, kimia inhibitor, dan suhu mempengaruhi aktivitas enzim. Enzim biasanya digabungkan dengan elektrokimia dan serat optik transduser. Komersial ketersediaan di tingkat kemurnian tinggi membuat mereka sangat menarik untuk produksi massal sensor enzim.

Penggunaan khitin pada penerapan biosensor sebagai elektroda kerja untuk elektrokimia. Selain elektrokimia adapula metoda spektrofotometri, urea juga dapat ditentukan secara potensiometri. Para ahli kimia telah mencoba beberapa metode sederhana untuk mengukur kadar urea dengan menggunakan metode potensiometri dengan piranti biosensor urea. Prinsip kerja biosensor adalah berdasarkan immobilisasi komponen biologi (enzim, bakteri, dan lainlain) pada matriks membrane polimer yang diintegrasikan dengan sinyal transduser pada analit (Hall, 1990). Komponen biologi berfungsi sebagai sensor elektroaktif yang berperan pada reaksi setengah sel elektrokimia sehingga potensial yang ditimbulkan sensitive dan selektif terhadap ion tertentu yang menghasilkan suatu grafik (Brett dan Brett, 1993). Kelemahan dari penelitian menggunakan spektrofotometer yaitu reagen dan larutan yang digunakan mahal.

Elektroda pH berfungsi untuk memantau perubahan pH dari reaksi urea yang dikatalisis oleh urease, dimana hasil reaksinya adalah NH_4^+ dan OH^- . Perubahan konsentrasi OH^- dalam larutan akan merubah pH analit dan dikonversikan dengan potensial. Besarnya potensial yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi urea dalam analit. Nilai faktor Nernst (sensitivitas) dan

trayek pengukuran biosensor urea berbasis membran khitin diperoleh tingkat kestabilan dengan daerah linier potensial elektroda yang konstan pada konsentrasi urea sebesar $10^{-4} - 10^{-8} \text{M}$. Faktor Nernst yang diperoleh pada percobaan adalah 19,11 mV/dekade dengan trayek pengukuran $10^{-4} - 10^{-8} \text{M}$. Kondisi ini menandakan bahwa analisis hanya dapat dilakukan pada selang konsentrasi tersebut. Pada konsentrasi urea lebih kecil dari 10^{-4}M , elektroda tidak mampu lagi merespon perubahan konsentrasi urea secara linear. Limit deteksi merupakan batas konsentrasi terendah yang dapat diukur oleh elektroda diperoleh dengan membuat garis singgung pada fungsi linier dan non linier, antara $-\log [\text{urea}]$ dengan potensial (mV). Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit (Kateman dan Buydens, 1993 dalam jurnal fauziyah, 2012).

Limit deteksi biosensor yang diperoleh berkisar pada 10^{-8}M . Waktu respon adalah waktu yang diperlukan suatu elektroda untuk mencapai potensial konstan, hal ini disebabkan oleh terjadinya kesetimbangan reaksi yang terjadi pada elektroda. Bahwa semakin kecil konsentrasi urea, potensial yang ditimbulkan semakin besar. Pada konsentrasi urea yang rendah, ion dalam larutan bebas bergerak sehingga interaksi ion menjadi kecil dan migrasi ion lebih cepat. Pengukuran waktu respon dilakukan dengan dua cara yaitu penentuan waktu pertama sekali potensial konstan dan penentuan kestabilan potensial selama 300 detik. waktu respon rata-rata biosensor urea berbasis membrane khitin adalah 3 – 6 menit. Pengukuran koefisien selektifitas dilakukan dengan melihat respon suatu elektroda terhadap ion asing. Koefisien selektifitas pada

percobaan dilakukan dengan metode larutan terpisah. bahwa ion yang mempunyai nilai koefisien selektifitas lebih besar dari satu adalah NaCl dan NH_4Cl , dengan demikian NaCl dan NH_4Cl mengganggu pengukuran terhadap biosensor urea berbasis membran khitin (Nazaruddin, 2007).

Elektrokimia, amperometrik, dan transduser potensiometrik merupakan sebagian besar pada umumnya yang digunakan dalam transduser elektrokimia. Pada amperometrik, potensial antara dua elektroda menempati dan terjadi oleh adanya oksidasi atau reduksi dari sejenis elektro yang aktif untuk mengukur dan menghubungkan ke meningkatkan konsentrasi analit. Sebagian elektroda terbuat dari platinum, emas, perak, dan baja, atau bahan dasar karbon yang inert di potensial yang mengakibatkan terjadinya reaksi elektrokimia. Akan tetapi, karena jenis reaksi di potensial dimana satu dengan yang lain menunjukkan, kedua membran selektif digunakan atau media elektron yang memberikan reaksi di potensial yang paling rendah yaitu saat menyatukan matrik immobilisasi atau sampel yang mengandung analit. Potensial ukuran transduser suatu potensial sel elektrokimia dengan arus sangat rendah. Efek dasar radio (*field effect transistors*) adalah dasar alat *potentiometric* pada ukuran potensial saat berada di bahan isolasi – menghubungkan dengan elektrolit. Kekurangan dari elektrokimia adalah dasar alat yang digunakan platinum, emas, perak, dan baja, atau bahan dasar karbon yang inert dengan harga yang mahal (Kress-Rogers, Chemosensors, 1998 dalam artikel Corcuera dan Cavalieri, 2003).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti memandang perlu untuk mengembangkan biosensor urea menggunakan matriks berbahan khitin udang.

Pada penelitian ini, alat didesain untuk dapat mengukur kadar urea dalam serum darah. Karakteristik analitik biosensor yang diamati adalah Daerah Linear, Limit Deteksi, dan sensitivitas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana performansi analitik biosensor matrik khitin yang meliputi linear range, sensitivitas, dan limit deteksi biosensor dalam membaca urea secara potensiometri?
2. Bagaimana performansi analitik biosensor matrik khitin-urease yang meliputi linear range, sensitivitas, dan limit deteksi biosensor dalam membaca urea secara potensiometri?

1.3 Tujuan Masalah

1. Untuk dapat mengetahui hasil pembuatan dan karakterisasi matrik khitin dari adanya penentuan potensial optimum oksidasi untuk biosensor urea.
2. Untuk dapat mengetahui karakteristik analitik dari biosensor yaitu Limit deteksi, daerah linier dan sensitivitas.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah optimasi khitin terhadap kinerja biosensor dengan penambahan larutan standart urea sebagai sampel simulasi yang diukur dengan menggunakan sel elektrokimia.

1.5 Manfaat Masalah

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang optimasi membran khitin sebagai matriks immobilisasi terhadap sensitivitas, selektif, limit deteksi, dan waktu respon pada kinerja biosensor urea.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Urea

Krebs dan Henseleit (1932) berpendapat bahwa urea terbentuk dari ammonia dan karbondioksida melalui serangkaian reaksi kimia yang berupa siklus, yang disebut siklus urea. Pembentukan urea ini terutama berlangsung dalam hati. Urea adalah suatu senyawa yang mudah larut dalam air, bersifat netral yang terdapat dalam urine yang dikeluarkan dari dalam tubuh. Biosintesis urea terdiri atas beberapa tahap reaksi yang merupakan suatu siklus sebagai berikut (Poedjiadi, 2012):

- a) Sintesis karbamil fosfat
- b) Pembentukan sitrulin
- c) Pembentukan asam arginino suksinat
- d) Penguraian asam arginino suksinat
- e) Penguraian arginin

Urea merupakan senyawa kimia yang terbentuk secara biologis dalam tubuh makhluk hidup adalah produk akhir dari siklus nitrogen dalam hati. Urea dalam darah atau dalam urin merupakan zat penting untuk diagnosis penyakit hati dan ginjal. Konsentrasi normal urea dalam darah berkisar pada 5 – 25 mg/dL (Harper, 2003). Pada pasien yang mengalami kegagalan ginjal kadar urea dalam serum berkisar pada konsentrasi 30-80 mg/dL, sehingga pasien tersebut harus menjalani hemodialisis. Berdasarkan hal tersebut maka urea menjadi bagian dari analisis rutin dalam dunia kesehatan (Huang dkk., 2007 dalam jurnal Nazaruddin, 2007).

Urease merupakan enzim yang spesifik mengkatalisis reaksi hidrolisis urea sehingga dapat digunakan sebagai biosensor. Pengembangan biosensor urea, urease dapat diimmobilisasi dalam suatu matrik dengan berbagai teknik seperti adsorpsi, *entrapment*, ikatan kovalen, *cross linking*, dan enkapsulasi. Barhoumi *et al.*, (2004) dalam fauziah, (2012) menyatakan biosensor urea dapat dikembangkan dengan mengimmobilisasi urease dalam polimer lateks menggunakan teknik *entrapment*. Antonia dan Toressi, (1999) dalam jurnal fauziah, (2012) menggunakan polipirrol untuk mengimmobilisasi urease dengan teknik *cross linking* dan *entrapment*.

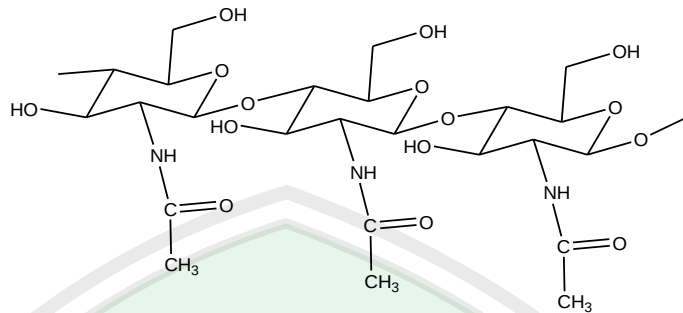
Atmoko, (2004) dalam jurnal fauziah, (2012) mengimmobilisasi urease dengan teknik sol gel menggunakan *Tetra methoksi silicate* (TMOS) sebagai matrik. Biosensor urea yang dihasilkan digunakan untuk mengukur laju hidrolisis urea pada range konsentrasi 1-5 ppm. Pemilihan teknik immobilisasi tersebut

disesuaikan dengan kriteria utama immobilisasi yaitu tidak terjadinya perubahan konformasi enzim dan tidak terganggunya gugus fungsi aktif biomolekul. Hal ini bergantung pada interaksi yang diharapkan antara gugus fungsional dalam biomolekul dan matrik pendukung yang digunakan pada immobilisasi.

2.2 Khitin

Menurut Johnson dan Peniston (1982) kulit udang dan kepiting merupakan limbah pengolahan yang besarnya mencapai 50-60 % berat utuh, dengan kandungan khitin sebesar 20-30 %. Jika limbah ini dapat dimanfaatkan, maka selain dapat mengatasi masalah polusi perairan, juga akan memberikan nilai tambah pada usaha pengolahan perikanan. Komponen utama yang terdapat dalam limbah krustacea adalah protein, khitin dan mineral. Terdapat pula sejumlah kecil protein berflavor, pigmen karotenoid, dan lemak. Sejauh ini produk-produk dalam limbah krustacea tersebut belum dimanfaatkan. Khitin adalah senyawa kedua terbanyak di alam setelah selulosa. Khitosan dapat dihasilkan dari khitin dengan proses deasetilasi. Struktur kimia khitin dapat dilihat pada Gambar 2.1

Khitosan dan khitin terutama digunakan dalam pemurnian air dan treatment air limbah. Khitosan dan khitin juga digunakan untuk recovery protein dan mengikat logam-logam berat, pewarna dan pestisida. Khitosan digunakan dalam bidang kosmetik, komoditi pemeliharaan kesehatan, obat-obatan, pertanian dan pangan.



Gambar 2.1 Struktur kimia khitin

Khitin terbentuk dari komponen struktural kulit luar (cangkang) krustacea seperti kepiting dan udang (Lab. Protan, 1987). Menurut Rha (1984) khitin merupakan senyawa terbesar kedua di dunia setelah selulosa. Khitin banyak ditemukan pada kulit dan kepala hewan kelompok avertebrata berkulit keras (krustacea), serangga dan beberapa mikroorganisme. Knorr (1984) menyatakan bahwa dari sekian banyak sumber khitin dan khitosan, hanya kulit udang dan kepiting yang sudah dimanfaatkan secara komersial. Kulit udang dan rajungan merupakan limbah pengolahan udang dan rajungan yang mencapai 50%-60% berat utuh. Kandungan khitin pada limbah udang dan rajungan sebesar 20%-30% (berat kering). Khitin dapat ditemukan pada limbah udang dan rajungan masing-masing sebesar 13%-15% dan 14%-17% (berat kering) tergantung jenis spesies. Dari 40.000 ton limbah industri dengan menggunakan kapang, mampu menghasilkan 10.000 ton khitin.

Khitin merupakan biopolimer polisakarida dengan rantai lurus, yang tersusun dari 2000 - 3000 monomer N-asetil-D-glukosamin, monomer-monomer tersebut tersusun dengan ikatan β - 1,4. Khitin berbentuk kristal, tidak larut dalam pelarut biasa, tetapi larut dalam larutan asam kuat (Bastaman, 1989). Ornum (1992) menyatakan bahwa khitin mudah mengalami degradasi secara biologis,

tidak beracun, tidak larut dalam air, asam anorganik encer dan asam-asam organik, tetapi larut dalam dimetil asetamida dan lithium klorida. Sifat lain dari khitin adalah mampu mengikat logam seperti Fe, Cu, Cd dan Hg, serta mempunyai sifat adsorpsi.

Khitin sulit dicerna oleh tubuh, dapat mengikat racun, kolesterol dan glukosa dalam tubuh (Ditjen Perikanan, 1989). Khitin dari kulit krustacea tidak terdapat dalam keadaan murni, tetapi mengandung bahan mineral atau kalsium karbonat dan protein (Blair dan Ho, 1980). Dalam proses pembuatannya khitin diisolasi atau diekstrak bahan baku dengan memisahkan mineral (demineralisasi) dan protein (deproteinasi). Deproteinasi dapat dilakukan sebelum dan sesudah demineralisasi. Deproteinasi akan dilakukan lebih dulu apabila protein yang terlarut akan dimanfaatkan lebih lanjut (Knorr, 1984).

Secara umum larutan NaOH 2 - 3 % dengan suhu 63-65 °C dan waktu 1 - 2 jam dapat mengurangi kadar protein dalam kulit krustacea secara efektif (Bough, 1975; Johnson dan peniston, 1982; Knorr, 1984). Kalsium karbonat lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein, karena hanya terikat secara fisik. Knorr (1984) menyatakan bahwa HCl dengan konsentrasi lebih dari 10 % secara efektif dapat melarutkan Kalsium klorida dalam kulit krustacea. Kandungan Khitin dari beberapa sumber dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan khitin dari Beberapa sumber (Naczk dan Shiroshi, 1981 dalam Knorr, 1984)

Jenis	Kandungan Khitin
1. Gol. Crustacea	
Kepiting biru	14 ^a
Kepiting merah	1,3 – 1,8 ^b
Lobster : <i>Nephros</i>	69.8 ^c
<i>Nomarus</i>	60.8 – 77.0 ^c
Udang	69.1 ^c
2. Gol. Insecta	
Kecoak/Lipas	35 ^c
Kumbang	27 – 35 ^c
Belalang	20 ^c
Ulat sutra	33.7 ^c
3. Golongan Mollusca	
Cangkang	6.1
Kulit kerang	3.6
Rangka dalam cumi-cumi	41.0
4. Golongan Mikroorganisme	
<i>Aspergillus niger</i>	42.0 ^d
<i>Penicillium notatum</i>	18.5 ^d
<i>P. chrysogenum</i>	20.1 ^d
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.9 ^d

Keterangan : a = Berdasarkan berat basah

b = Berdasarkan berat kering

- c = Berdasarkan berat bahan organik pada kulit udang
d = Berdasarkan berat kering dari dinding sel

Khitin berbentuk kristal, tidak larut dalam pelarut biasa tetapi larut dalam larutan asam kuat. Khitin mudah mengalami degradasi secara biologis, tidak beracun, tidak larut dalam air, asam anorganik encer dan asam-asam organik tetapi larut dalam larutan dimetil asetamida dan lithium klorida. Khitin mempunyai tekstur yang baik, warna yang lebih putih, protein dan mineral yang tidak terlalu tinggi. Glukosa yang terdapat pada khitin tidak berubah menjadi glukosa darah sehingga tidak menambah produksi kolesterol. Adapun sifat dan mutu khitin dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Sifat dan mutu Khitin

Sifat – Sifat	Nilai
Ukuran Partikel	Butiran bubuk
Kadar air (%berat kering)	≤ 10.0
Kadar abu (%berat kering)	≤ 2.0
Derajat deasetilasi	≥ 15
Kelarutan	
• air	Tidak
• pelarut organik	Tidak
• LiCl_2 / dimetilasetamida	Sebagian
• Biodegrasi organic profile	Lisozim dan khinitase

Sumber: Protan Laboratories Inc. dalam Suptijah dkk., (1992).

2.2.1 Pembuatan Biosensor Urea dalam Kajian Islam

Urea merupakan biomolekul yang sangat penting. Urea yang terbentuk merupakan hasil dari siklus urea dalam tubuh yang berasal dari ammonia atau dari asam amino. Kemudian diekskresikan melalui urin atau cairan tubuh pada manusia. Selain itu urea juga akan teradsorpsi dalam ginjal sehingga terdapat dalam darah dengan batas normal 5-25 mg/dL.

Apabila karena suatu hal kadar urea dalam darah dapat meningkat, maka kesetimbangan dalam darah akan terganggu dan hal tersebut dapat dijadikan dugaan awal bahwasannya salah satu organ tubuh manusia bermasalah. Indikasi kesetimbangan dalam tubuh yang tidak normal ini dapat diketahui dengan cara mendeteksi kadar urea yang diekskresikan oleh tubuh manusia salah satunya dengan menggunakan biosensor.

Allah SWT memerintahkan manusia untuk mempelajari kandungan al-Quran dan menelaah lebih lanjut mengenai tujuan firman-Nya. Di dalam al-Quran telah memberikan penjelasan mengenai pemanfaatan kelautan, demi rahmat-Nya kepada hamba-Nya agar manusia harusnya bersyukur dan mau memikirkan segala nikmat-nikmat-Nya. Sehingga manusia mendapatkan kejelasan makna dan tujuan mengenai isi ayat tersebut dan dapat menentukan langkah dan tujuan dengan baik dan benar sesuai ajaran al-Quran.

Salah satu senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai biosensor urea adalah khitin. Khitin dapat diperoleh dari cangkang udang dan cangkang kepiting yang biasanya dibuang ke lingkungan sebagai limbah. Dalam surat an-nahl (16): 14 Allah kembali berfirman tentang manfaat ciptaan-Nya sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۚ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

Artinya:.. dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.

Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah Swt. menyebutkan tentang laut yang luas dengan ombaknya yang gemuruh, dia telah menundukkannya. Allah

menyebutkan pula karunia-Nya kepada hamba-hamba-Nya, bahwa Dia telah menundukkan laut untuk mereka sehingga mereka dapat mengaranginya; Dia telah menciptakan padanya ikan-ikan kecil dan ikan-ikan besar, lalu menghalalkannya bagi hamba-hamba-Nya untuk dimakan dagingnya, baik dalam keadaan hidup maupun telah mati, baik mereka dalam keadaan tidak ihram maupun sedang ihram. Allah telah menciptakan padanya mutiara-mutiara dan berbagai macam perhiasan yang berharga, serta memudahkan bagi hamba - hamba-Nya dalam mengeluarkannya dari tempatnya untuk perhiasan yang mereka pakai.

Menurut buku tafsir ibnu katsir, Allah memberinya balasan berupa perhiasan dan hewan buruan laut. Ayat tersebut menjelaskan tentang berbagai kekayaan hasil laut yang ada dimuka yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Karena adanya bumi khususnya indonesia letak geografis dari lingkungan hidup setiap lautan, menyebabkan hewan mempunyai manfaat sendiri-sendiri. Udang merupakan salah satu hewan laut, daging udang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Berbeda dengan daging, kulit udang kurang dimanfaatkan dan cenderung menjadi limbah. Kulit udang yang banyak mengandung khitin dapat dimanfaatkan sebagai biosensor.

Pada penelitian ini senyawa khitin yang diisolasi adalah berasal dari kulit udang. Senyawa khitin yang diperoleh dapat diidentifikasi dengan FTIR yang mana senyawa tersebut sangat bermanfaat terutama sebagai matriks yang melapiskan pada elektroda. Seperti pada penelitian-penelitian sebelumnya

bahwa senyawa khitin dapat sebagai membran semipermeabel yang mana dapat mengalirkan elektron-elektron melalui pori-porinya. Pemanfaatan ini sangat penting, bila dikembangkan lebih lanjut karena dapat memantau dan menjaga kesehatan umat manusia. Kesehatan sangatlah penting bagi umat manusia, hal ini telah diterangkan dalam sabda Rasulullah SAW sebagai berikut:

قَالَ النَّبِيُّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ " نِعْمَتَانِ مَغْبُورٌ فِيهِمَا كَثِيرٌ مِنَ النَّاسِ الصِّحَّةُ وَالْفَرَاغُ " (رواه البخاري)

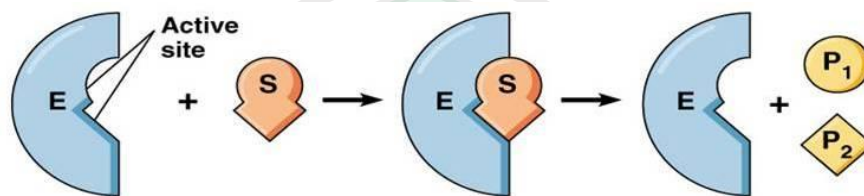
Muhammad SAW bersabda “Dua kenikmatan yang banyak manusia menjadi rugi (karena tidak diperhatikan), yaitu kesehatan dan waktu luang” (HR. al Bukhari)

Hadist di atas menerangkan bahwa mensyukuri nikmat yang diberikan oleh Allah SWT merupakan hal yang wajib dilakukan setiap manusia. Bila manusia tidak mensyukuri (tidak diperhatikan) maka kerugian yang akan didapat. Kesehatan merupakan salah satu kenikmatan yang mahal harganya. Untuk itu, kesehatan wajib dijaga karena merupakan salah satu wujud syukur atas nikmat yang diberikanNya kepada manusia.

2.3 Enzim

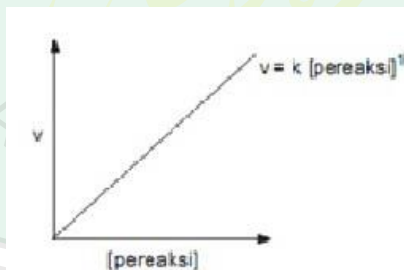
Enzim adalah katalis dalam sistem biologi yang mampu merespon dan mendukung hampir seluruh reaksi kimia yang menunjang kehidupan. Enzim mampu mempercepat reaksi dengan berikatan secara sementara dengan molekul substrat dan menurunkan energi aktivasi yang diperlukan untuk mengubah menjadi produk. Kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim dapat dipelajari dengan menggunakan kinetika enzim (Colby, 1996).

Enzim adalah kompleks makromolekul yang sebagian besar tersusun atas protein dan suatu gugus prostetik yang mengandung satu atau lebih atom logam. Mekanisme katalitik enzim dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Mekanisme reaksi enzim.

Kecepatan berlangsung suatu reaksi sebagai penurunan konsentrasi reaktan atau peningkatan konsentrasi produk. Bila suatu enzim di inkubasi dengan substratnya dan timbulnya produk yang dicatat dalam grafik, garis yang diperoleh pada kasus sederhana akan mempengaruhi bentuk hiperbolik yang ditunjukkan dalam gambar 2.3 (Lehninger, 1997).



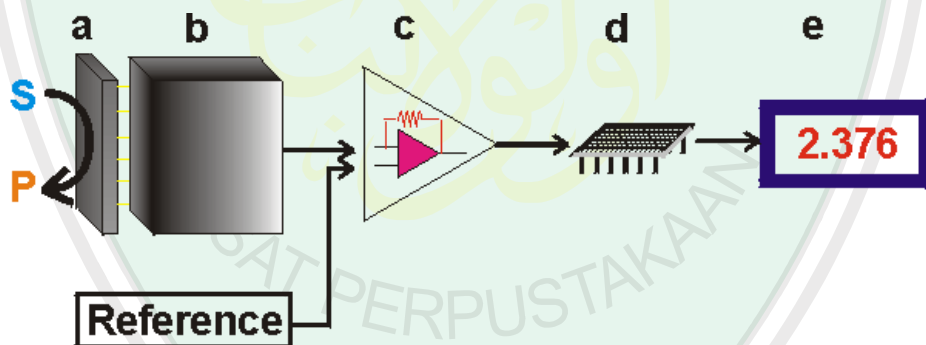
Gambar 2.3 Kecepatan Reaksi yang Dikatalisis Enzim Sesuai dengan Peningkatan Produk dan Waktu

2.4 Biosensor

2.4.1 Definisi Biosensor

Terminologi biosensor biasanya digunakan untuk peranti / peralatan yang digunakan memonitor sistem metabolisme atau menggunakan elemen biomolekul, biasanya yang digunakan untuk merujuk sebuah sensor yang

menggunakan sebuah element biologi seperti enzim, anti bodi, DNA, mikroorganisme atau cell. Oleh karena itu biosensor didefinisikan sebagai peralatan analisis yang menggunakan material biologi atau biomolekul (misalnya jaringan, mikroorganisms, organella, sel, enzim, anti bodi, DNA dsb), secara terintegrasi dengan sebuah transducer fisika – kimia, yang bisa berupa optik, elektrokimia, termometrik, piezoelektrik atau magnetic, yang dapat menghasilkan sinyal elektronik secara diskret atau kontinyu yang proporsional dengan jumlah suatu analit atau kelompok tertentu dapat di gambarkan pada Gambar [2.4, 2.5]. Secara skematis dapat diberikan pada gambar 2.4 (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.4 Biosensor adalah piranti analitis yang menggunakan interaksi biologi untuk menghasilkan sinyal baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

2.4.2 Komponen Biosensor

Bagian – bagian yang ada dalam sebuah biosensor dapat dibagi dalam tiga komponen, antara lain (Kuswandi, 2010):

1. Komponen bio – rekognisi (biosensor) misalnya enzim, anti bodi, DNA, sel dsb)

2. Komponen transduksi (pengubah sinyal), biasanya berupa transduksi elektrokimia atau optik
3. Bagian pemerosesan sinyal (signal processing).

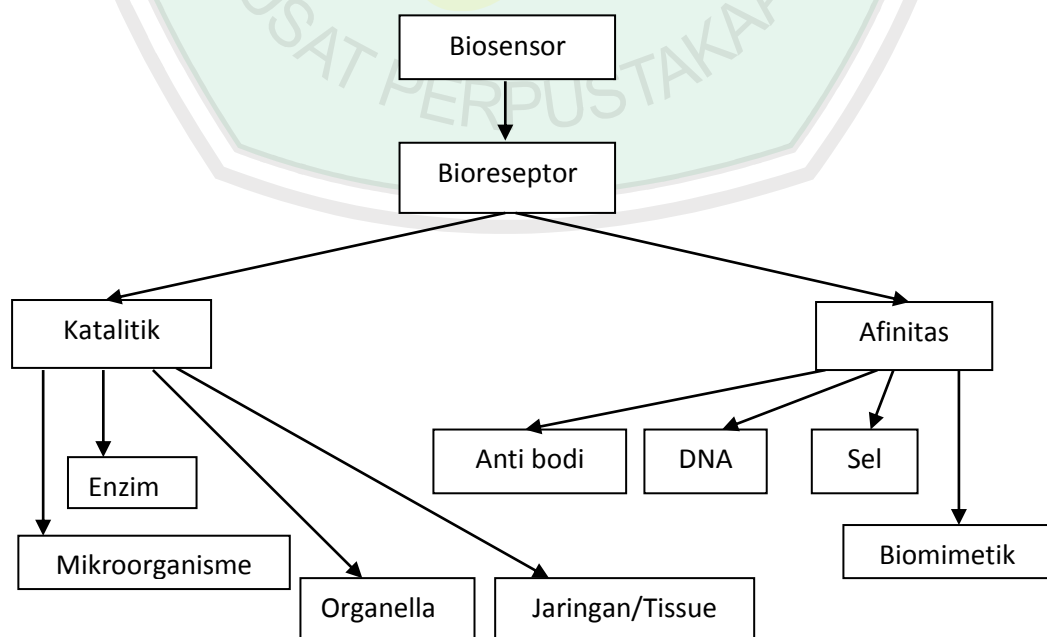
2.4.2.1 Komponen Biodeteksi

Komponen pendeteksi atau komponen pengenalan (*recognition element*) analit ini merupakan komponen kunci dari setiap piranti sensor. Dalam biosensor komponen ini biasanya disebut biodeteksi (*biological recognition element / bioreceptor*) yang dapat berupa enzim, antibodi, DNA, dan *receptor* lainnya. Secara garis besar, berdasarkan prinsip kerja biodeteksi yang digunakan yaitu katalisis dan afinitas, maka biosensor dapat dibagi menjadi 2 bagian besar yaitu katalitik biosensor (*catalytic biosensors*) dan afinitas biosensor (*affinity biosensors*). Pada *catalytic biosensors* (sering disebut metabolit biosensor) yang merupakan piranti biosensor yang mengukur konsentrasi analit baik yang berupa produk, atau reaktan / substrat atau inhibitor yang terlibat dalam sebuah reaksi biokatalitik. Salah satu yang digunakan untuk komponen biodeteksi yaitu jaringan/tissue samples. Jaringan/lapisan tisu sebagai sumber enzim yang dapat mengkatalisis sebuah reaksi yang spesifik. Oleh karena itu, keunggulan menggunakan tisu/jaringan tanaman dalam biosensors adalah sebagai berikut (Kuswandi,2010):

- Stabilitas dan aktivitas yang tinggi dihasilkan dari enzim yang berada dalam lingkungan alaminya yaitu dalam jaringan tanaman.
- Waktu pakai biosensors yang relatif lama, karena stabilitasnya yang tinggi.

- Reprodusibilitas responya yang tinggi.
- Ketersediaanya dan harganya yang murah dari jaringan tanaman.
- Terhindar dari waktu dan prosedur ekstraksi dan pemurnian enzim yang berarti penurunan biaya operasional.
- Keberadaan kofaktor dalam jaringan tanaman yang sama diperlukan enzim, sehingga menyederhanakan fabrikasi biosensor
- Beragam jaringan tanaman dan biosensor terkait dapat dikembangkan sesuai dengan analit yang akan dideteksi.

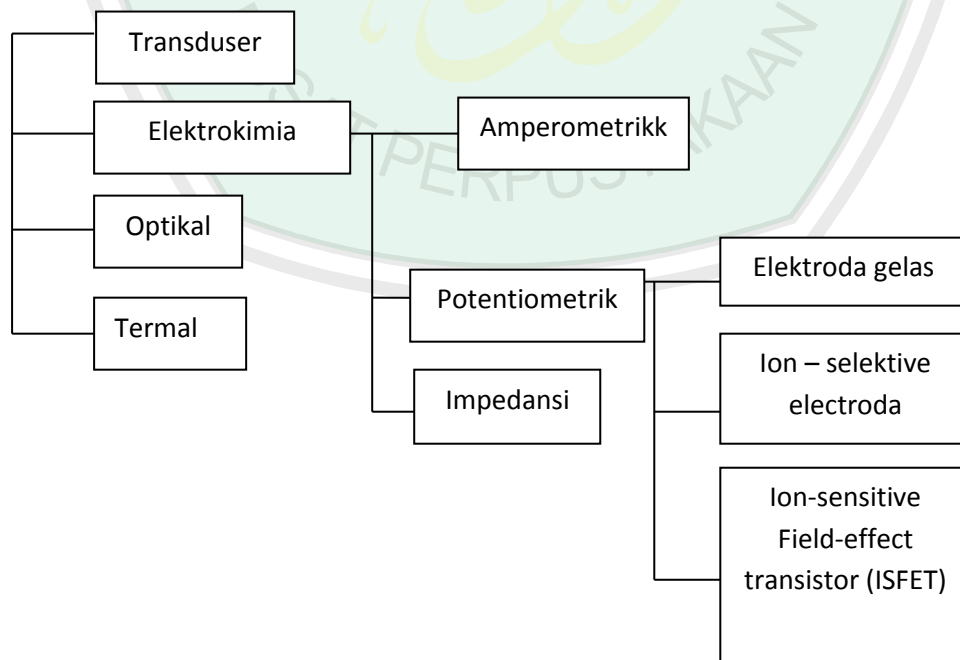
Sedangkan *affinity biosensors* merupakan piranti biosensor yang menggunakan reseptor molekul yang untuk berikatan (binding) dengan molekul analit secara “irreversibly”, sehingga menghasilkan perubahan fisika – kimia yang dapat dideteksi oleh sebuah transduser. Macam – macam jenis biosensor berdasarkan prinsip kerja biodeteksi dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.5 Beragam Jenis biosensor berdasarkan prinsip kerja biodeteksinya.

2.4.2.2 Komponen Transduksi

Dalam pengembangan biosensor banyak menggunakan piranti atau sering disebut pula biosensor optik (*optical biosensors*), sebagian besar biosensor dikembangkan juga menggunakan transduksi elektrokimia, yang sering disebut biosensor elektrokimia (*electrochemical biosensors*), karena simplisitas dan biaya fabrikasinya yang relatif murah. Oleh karenanya piranti transduksi ini dapat dibagi menjadi 4 (empat) golongan utama, salah satunya yaitu potensiometrik. Klasifikasi biosensor berdasarkan piranti transduser yang dipergunakan pada potensiometrik dapat dilihat pada Gambar 2.6 (Kuswandi, 2010):



Gambar 2.6 Klasifikasi biosensor berdasarkan piranti transduser yang dipergunakan pada potensiometrik.

a) Potensiometrik

Teknik ini melibatkan pengukuran potensial (emf) dari suatu sel elektrokimia pada arus nol (*zero current*). Sehingga potensial (emf) yang dihasilkan akan sebanding dengan logaritm konsentrasi dari analit yang sedang diukur (Kuswandi, 2010).

2.4.2.3 Komponen Pemerosesan Sinyal (*Sinyal Prosessing*)

Pada bagian ini, terjadi proses konversi dari perubahan parameter fisika–kimia terjadi pada permukaan sensor karena reaksi / interaksi antara analit dengan biomolekul / bioreseptor menjadi sinyal listrik yang dapat diukur. Proses yang terjadi umumnya melibatkan transduksi fisika – kimia menjadi sinyal elektrik, kemudian sinyal elektrik tersebut diubah dalam bentuk sinyal analog atau digital didalamnya melibatkan proses amplifikasi, filtrasi atau korelasi, sehingga nilai sinyal yang dihasilkan dapat diukur dan dikorelasikan dengan konsentrasi analit yang dianalisa baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Kuswandi, 2010).

2.4.3 Immobilisasi Bioreseptor

Dalam pengembangan sebuah biosensor, maka bioreseptor / biomolekul yang selektif dan sensitive terhadap analit tertentu harus ditempatkan / dihubungkan dengan sebuah transduser, yang merupakan tahap kunci dan keberhasilan sebuah biosensor dalam mendeteksi analit tersebut. Untuk mencapai hal ini, maka dilakukan immobilisasi dari bioreseptor tersebut pada permukaan

sensor baik secara langsung maupun tak langsung. Salah satu teknik yang akan digunakan yaitu teknik *encapsulasi* (Kuswandi, 2010):

2.4.3.1 Teknik mikroenkapsulasi

Pada teknik ini bioaktif molekul diperangkap dalam membran yang inert yang selanjutnya dilekatkan pada transduser. Membran dapat melindungi bioaktif molekul sehingga teknik ini menghasilkan performa biosensor yang cukup baik dan secara langsung membran sendiri memiliki pori-pori dengan ukuran yang relatif kecil sehingga hanya dapat dilewati oleh molekul yang berukuran kecil, gas, dan ion (Chaplin, 2004), biasanya teknik immobilisasi dengan *encapsulasi* cukup stabil terhadap perubahan temperatur, pH, kekuatan ion dan komposisi kimia. Sehingga teknik immobilisasi ini banyak digunakan dalam pengembangan biosensor.

2.4.4 Performansi Biosensor

Dalam pengembangan biosensor, hal yang harus diperhatikan adalah performansi / unjuk kerja dari biosensor tersebut dalam mendeteksi analit. Performansi biosensor tersebut meliputi (Kuswandi, 2010).

- i. Selektivitas

Kemampuan biosensor untuk membedakan analit yang berbeda dari target analit.

- ii. Sensitivitas

Biosensor biasanya memiliki sensitivitas yang sangat baik, berkisar sub-milimolar (μM), hingga pada konsentrasi yang sangat rendah yaitu femtomolar (10^{-15}M).

iii. Akurasi

Biosensor biasanya memiliki akurasi yang baik, yaitu dibawah $\pm 5\%$.

iv. Kondisi larutan

Biosensor biasanya mendeteksi suatu analit sangat dipengaruhi oleh kondisi larutan seperti pH, temperature dan kekuatan ion (*ionic strength*) dari larutan tersebut.

v. Waktu respon

Waktu respon dari sebuah biosensor biasanya berkisar Antara 30 detik atau lebih tergantung dari bioreseptor dan transduser yang digunakan.

vi. Waktu recoveri / waktu regenerasi

Waktu yang dibutuhkan oleh sebuah biosensor dari satu pengukuran ke pengukuran berikutnya.

vii. Waktu pakai

Biasanya biosensor memiliki waktu pakai yang ditentukan oleh stabilitas dari biomolekul/bioreseptor yang digunakan didalamnya.

2.5 Elektrokimia

Elektrokimia adalah bagian ilmu dari ilmu kimia yang mempelajari antara reaksi kimia dan aliran listrik. Aliran listrik merupakan aliran sesuatu yang bermuatan seperti elektron. Reaksi yang berhubungan dengan adanya aliran elektron adalah reaksi yang melibatkan pelepasan dan penerimaan elektron atau yang kita kenal dengan reaksi oksidasi dan reduksi atau reaksi redoks (Mulyani, dan Hendrawan, 2003).

Reaksi redoks ada yang spontan ($\Delta G < 0$) dan ada yang tidak spontan ($\Delta G > 0$). Reaksi spontan dapat dirancang untuk menghasilkan arus listrik yang dapat digunakan untuk menghasilkan kerja mekanik, cahaya dan sebagainya. Reaksi redoks tidak spontan dapat dilangsungkan dengan menambahkan energi listrik dari luar. Alat yang dapat digunakan untuk melangsungkan keduanya disebut sel elektrokimia (Mulyani, dan Hendrawan, 2003).

2.5.1 Sel elektrokimia

Sel elektrokimia terdiri-dari sepasang elektroda yang dicelupkan ke dalam suatu lelehan atau larutan ion dan dihubungkan dengan penghantar logam pada rangkaian luar. Sel galvanik atau sel volta merupakan sel elektrokimia yang dapat menghasilkan energi listrik yang disebabkan oleh terjadinya reaksi redoks yang spontan (Mulyani, dan Hendrawan, 2003).

2.5.1.1 Sel Galvani

Sel galvanik mensyaratkan terjadinya reaksi redoks spontan yang kemudian dirangkai sedemikian rupa agar menghasilkan arus listrik yang dapat menghasilkan kerja. Elektron tidak berkesempatan untuk menghasilkan arus listrik yang dapat menghasilkan kerja. Dalam sel galvanik, elektron dirancang untuk mengalir pada rangkaian luar sehingga dapat menghasilkan kerja. Anoda adalah elektroda tempat terjadinya reaksi oksidasi dan katoda merupakan elektroda tempat terjadinya reaksi reduksi.

2.5.1.2 Notasi sel dan Reaksi sel

Pada notasi sel, setengah-sel anoda dituliskan terlebih dahulu, diikuti dengan setengah-sel katoda. Satu garis vertikal menggambarkan batas fasa. Garis

vertikal putus-putus sering digunakan untuk menyatakan batas antara dua cairan yang saling melarutkan. Dua spesi yang ada dalam fasa yang sama dipisahkan dengan tanda koma. Garis vertikal rangkap dua digunakan untuk menyatakan adanya jembatan garam. Untuk larutan, konsentrasinya dinyatakan di dalam tanda kurung setelah penulisan rumus kimianya (Mulyani, Sri, dan Hendrawan, 2003).

2.5.1.3 EMF dan Pengukurannya

Elektron mengalir melalui rangkaian luar karena adanya beda potensial diantara kedua beda potensial diantara kedua elektrodanya. Sel ini dapat dibuat berperilaku reversibel dengan cara mengimbangi potensialnya dengan suatu potensial eksternal sehingga tidak ada aliran arus. Saat potensial listrik tersebut diimbangi, sel tersebut bereaksi reversibel dan potensialnya dirujuk sebagai *emf* (*electromotive force*) atau *potensial sel* (*cell voltage*). Hal itu bisa dilakukan dengan menggunakan suatu potensiometer (Mulyani, Sri, dan Hendrawan, 2003).

Karena potensial sel merupakan beda potensial antara kedua elektroda pada sel saat sel tersebut bereaksi reversibel dan reaksi reversibel dapat dicapai saat arus yang lewat saat sama dengan nol, maka arus listrik yang keluar dari sel harus diimbangi oleh arus dari sel kerja yang mempunyai potensial yang lebih besar dari potensial sel yang akan diukur. Jadi kutub sel galvani harus dipasang sedemikian rupa sehingga arusnya berlawanan dengan kutub-kutub listrik. Sel kerja dihubungkan dengan kawat yang homogen (BC) yang mempunya tahanan yang lebih tinggi. Sel yang akan diukur, S_x dihubungkan dengan B dan galvanometer G. Kontak peluncur (tanda panah) digeser sedemikian rupa sampai galvanometer menunjukkan tak ada arus yang mengalir. Dengan mengetahui kuat arus yang

mengalir (diukur dengan ammeter di titik A), dan tahanan jenis (ρ) serta luas penampang kawat tahanan BC maka potensial sel X dapat dihitung melalui persamaan (Mulyani, dan Hendrawan, 2003) :

$$\begin{aligned}E_x &= IR_x \\ &= I \rho (l/A)\end{aligned}$$

2.5.1.4 Potensial Sel dan Potensial Elektroda

Potensial elektroda tidak dapat diukur. Yang dapat diukur adalah potensial selnya, yakni perbedaan potensial dari kedua elektroda penyusun sel tersebut. Berdasarkan konvensi IUPAC, potensial sel yang didefinisikan sebagai (Mulyani, dan Hendrawan, 2003):

$$E_{sel} = E_{kanan} - E_{kiri}$$

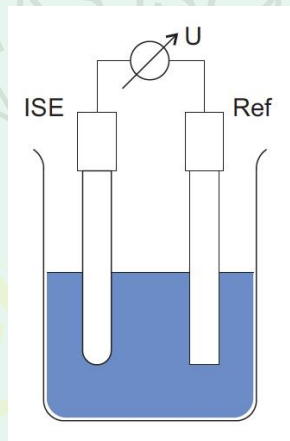
Dengan E_{sel} potensial sel, E_{kanan} potensial elektroda sebelah kanan (dalam bentuk reduksi), E_{kiri} potensial elektroda (oksidasi) untuk elektroda sebelah kiri seperti yang tercantum dalam notasi selnya. Karena elektroda sebelah kanan merupakan katoda dan elektroda sebelah kiri merupakan anoda maka potensial sel dapat dituliskan sebagai:

$$E_{sel} = E_{katoda} - E_{anoda}$$

2.5.1.5 Elektroda membran selektif-ion (ISE)

Elektroda ini mengandung membran gelas, kristal atau cairan yang mempunyai sifat berikut: perbedaan potensial antara membran dan elektrolit yang kontak dengan membran tersebut ditentukan oleh aktivitas dari ion tertentu. Elektroda membran yang paling banyak digunakan adalah elektroda gelas. Elektrod ini dikatakan selektif-ion karena hanya spesifik untuk ion H^+ . Elektroda ini dapat dilihat pada gambar 2.7 (Mulyani, dan Hendrawan, 2003).

Elektroda gelas terdiri-dari membran yang sangat tipis yang terbuat dari gelas yang permeabel terhadap ion H^+ . Elektroda Ag | AgCl dicelupkan ke dalam larutan buffer yang mengandung ion Cl^- . Kadang-kadang digunakan juga elektroda kalomel untuk menggantikan elektroda Ag | AgCl. Elektroda gelas terutama digunakan pada pengukuran pH (Mulyani, dan Hendrawan, 2003).



Gambar 2.7 Elektroda membran selektif-ion (ISE)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang.

3.1.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilaksanakan pada tanggal April 2015 – Desember 2015.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *beaker glass*, gelas ukur, pipet volume, pipet ukur, labu ukur, erlenmeyer, dengan berbagai ukuran, pipet tetes, pengaduk, gelas arloji, kaca press transparan, corong gelas, spatula, stirer, bola hisap, botol semprot, neraca analitik *OHAUS pioneer*, *consort c861* *potensiostat*, *hot plate*, dan stirer magnetik, lemari asam, voltmeter dan pH meter.

3.2.2 Bahan

Bahan kimia yang digunakan adalah urease type IX 66000 IU/g (sigma), khitin, asam asetat p.a (CH_3COOH), urea p.a *sigma aldrich* ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), buffer fosfat p.a, aqudest, polivinil alkohol p.a, asam klorida (HCl) 37%, NaOH p.a.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Preparasi Bahan

3.3.1.1 Pembuatan larutan induk urea 0,1 M.

Larutan induk 0,1 M dibuat dengan menggunakan mencampurkan 0,6 gram urea dengan aquades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

3.3.1.2 Pembuatan larutan standar urea

Pembuatan urea standar 4,167 mM; 3,333 mM; 2,5 mM; 1,67 mM; 1 mM dilakukan dengan pengenceran larutan urea induk.

3.3.2 Pembuatan Khitin

3.3.2.1 Penyiapan Kulit Udang

Kulit udang dikumpulkan dari para penjual udang yang ada di pasar lawang terlebih dahulu dicuci dengan air agar kotoran yang melekat hilang, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 110-120°C selama 1 jam. Diblender dan diayak 120 mesh. Serbuk yang lolos ayakan digunakan untuk proses selanjutnya.

3.3.2.2 Isolasi Khitin dari Kulit Udang

3.3.2.2.1 Deproteinasi

Sebanyak 50 g serbuk kulit udang dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 L, lalu ditambahkan 500 mL larutan NaOH 3,5%, sehingga perbandingan serbuk dan pelarut 1:10 (b/v) lalu dipanaskan pada suhu 65°C selama 2 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnet. Selanjutnya padatan disaring dengan penyaring kain, dicuci dengan aquadest hingga pH netral. Filtrat yang diperoleh diuji dengan pereaksi biuret, bila filtrat berubah jadi biru berarti protein sudah hilang. Padatan yang diperoleh (khitin kasar) dikeringkan dalam oven pada suhu 65°C selama 24 jam.

3.3.2.2 Demineralisasi

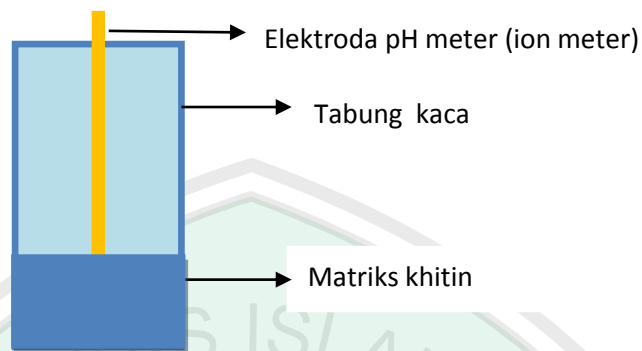
Khitin kasar yang diperoleh diatas dimasukkan ke dalam larutan HCl 1 M, dengan perbandingan khitin dengan pelarutnya 1 : 10 (b/v). Campuran dipanaskan pada suhu 65°C selama 2 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnet, kemudian disaring. Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquadest. Filtrat yang diuji dengan AgNO₃. Kemudian dicuci dengan aseton, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 65°C selama 24 jam.

3.3.3 Pembuatan Matrik Khitin

Polivinil alkohol 2 gram dilarutkan 280 ml air panas pada perbandingan 1:10 (b/v) dengan suhu 100 °C. Khitin sebanyak 1 gram dicampur dengan asam asetat yang konsentrasinya 2% pada perbandingan 1:10 (b/v), kemudian diaduk selama 6 jam. Campuran kitosan dimasukkan ke dalam PVA pada perbandingan 1:4. Larutan dituangkan pada meja yang dilapiskan kaca sambil dikeringkan pada suhu 25 °C selama 2 hari. Matriks khitin yang diperoleh kemudian dipotong sesuai dengan ukuran elektroda. Cara untuk mendapatkan matrik yang memiliki ketebalan yang sama, masing-masing matriks yang diperoleh diukur ketebalannya dengan mikrometer pada beberapa titik.

3.3.4 Pembuatan Biosensor Urea

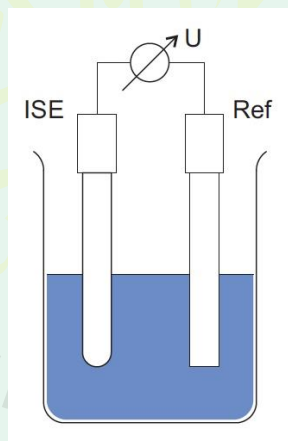
Matriks khitin yang telah dibuat ditempelkan pada permukaan bawah elektroda Platina dan diikat menggunakan O-ring dapat dilihat di gambar 3.1.



Gambar 3.1 Biosensor Urea

3.3.5 Pembuatan Sel Elektrokimia

Sel elektrokimia standart yang digunakan dibuat dari bahan gelas (*beaker glass*), seperangkat elektroda pH meter (ion meter) dengan Larutan Standar urea.



Gambar 3.2 Sel elektrokimia

3.3.6 Penentuan Potensial Optimum Biosensor Urea

Penentuan potensial oksidasi optimum biosensor. Dalam pengukuran ini, digunakan larutan urea standart 3,333 mM dan penentuan potensial oksidasi tanpa enzim urease dilakukan dengan mengukur larutan standart urea pada kondisi jumlah biosensor optimum menggunakan pH meter. Pengukuran ini dilakukan pada potensial oksidasi optimum biosensor pada penambahan urease.

Variasi larutan urea standart yang digunakan mulai 4,167 mM; 3,333 mM; 2,5 mM; 1,67 mM; 1 mM.

3.4 Karakterisasi Biosensor Urea

3.4.1 Linear range

Linear range merupakan daerah (range konsentrasi analit tertentu pada grafik beda potensial terhadap konsentrasi yang memberikan respon linear dimana kenaikan beda potensial yang ditimbulkan arus berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi (Skoog,1985). Respon yang linier ditunjukkan melalui persamaan garis berikut:

$$y = mx + c \dots\dots\dots (3.1)$$

Dimana: y = arus
 m = Slope atau kemiringan dari kurva standart
 c = Intersep atau perpotongan terhadap sumbu y (Caulcutt dan Boddy, 1983)

3.4.2 Limit Deteksi

Ketika sampel mengandung suatu senyawa dengan konsentrasi kecil / rendah, maka harus diukur dengan menggunakan prosedur analitis. Limit deteksi menyatakan konsentrasi terkecil dari suatu analit yang masih dapat dideteksi / diukur (Kateman, 1993). Limit deteksi diperoleh melalui rumus:

$$Y_{LOD} = y_B + 3 SD \dots\dots\dots (3.2)$$

Dimana:
 Y_{LOD} = limit deteksi,
 $y_B = c$ = intersep kurva kalibrasi
 $SD = S_{y/x}$ = standart devisiasi kurva kalibrasi (Miller *et al*, 1993).

Untuk menghitung nilai SD, digunakan rumus:

$$SD = S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (3.3)$$

Dimana:

$\bar{x}$ = rerata (mean)

x_i = data ke 1, 2, 3,...dsb.

n = jumlah pengukuran / banyaknya ulangan.

Berdasarkan persamaan 3.1 akan diperoleh intersep kurva kalibrasi c (y_B) kemudian dicari standart deviasi kurva kalibrasi (persamaan 3.3). nilai SD dan y_B dimasukkan ke persamaan 3.2 sehingga diperoleh nilai Y_{LOD} . Langkah terakhir adalah memasukkannya ke dalam persamaan

$$x = \frac{Y_{LOD} - c}{m} \dots\dots\dots 3.4$$

3.4.3 Sensitivitas

Sentivitas merupakan rasio perubahan output sensor terhadap nilai stimulus (Vaezi-najad (Ed), 2000). Menurut IUPAC sensitivitas merupakan slope dari kurva kalibrasi pada konsentrasi tertentu (Skoog, 1985). Nilai sensitivitas tinggi menandakan perubahan konsentrasi yang kecil dari analit dapat memberikan respon yang besar. Sensitivitas (m) dapat diperoleh dari persamaan garis yang dapat dilihat pada persamaan 3.1.

Sensitivitas yang digunakan pada penelitian ini adalah sensitivitas kalibrasi. Pengukuran sensitivitas ini berdasarkan dari kurva kalibrasi yang dihasilkan dengan mengukur respon biosensor urea pada setiap konsentrasi urea. Semakin besar harga gradien grafik (persamaan 3.1) maka semakin baik sensitivitas biosensor urea tersebut.

BAB IV

PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul “Pembuatan Biosensor Urea Berbasis Immobilisasi Urease dalam Khitin dengan menggunakan metode potensiometri dilakukan dalam beberapa tahap. Pertama, dilakukan preparasi sampel kulit udang, dilanjutkan isolasi khitin dari kulit udang, pembuatan matrik khitin dan karakterisasinya, pembuatan biosensor urea dari matriks khitin dan urease dan diakhiri dengan pengukuran parameter analitis berupa linearitas, limit deteksi, dan sensitivitas dari sensor.

4.1 Preparasi Sampel

4.1.1 Penyiapan kulit udang

Kulit udang yang dikumpulkan dari para pedagang udang windu di pasar lawang, terlebih dahulu dicuci dengan air agar kotoran yang melekat hilang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 110-120°C selama satu jam agar mudah dihancurkan dengan blender (gambar 4.1). Setelah kering lalu digiling dengan menggunakan blender yang bertujuan untuk menghasilkan serbuk kulit udang dan selanjutnya diayak menggunakan ayakan 120 mesh. Serbuk yang lolos ayakan digunakan untuk tahapan penelitian selanjutnya.

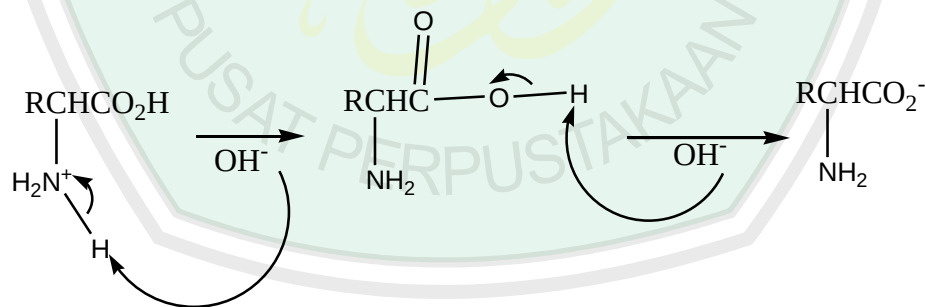


Gambar 4.1 Serbuk kulit udang setelah diblender

4.1.2 Isolasi Khitin dari kulit udang

4.1.2.1 Deproteinasi

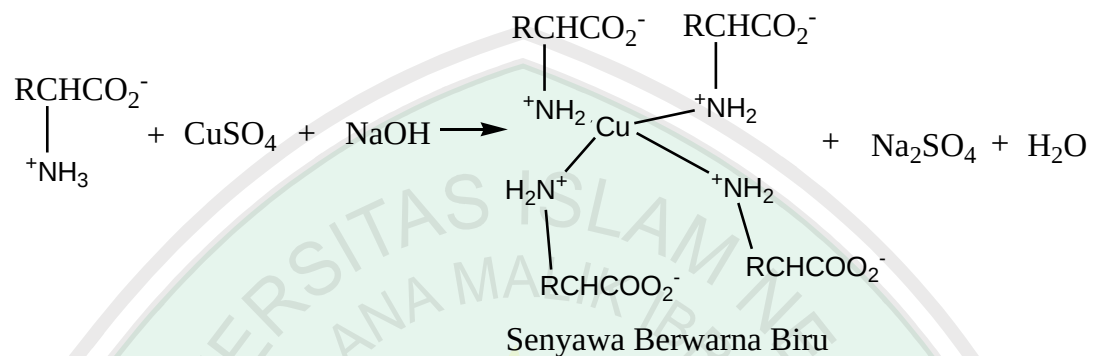
Tahap deproteinasi merupakan salah satu proses pembuatan khitin dengan cara penghilangan protein yang terdapat pada cangkang udang menggunakan larutan NaOH. Penambahan larutan NaOH melarutkan protein menghasilkan warna orange keputihan terpisahnya protein yang terikat pada khitin.



Gambar 4.2 Interaksi dugaan antara protein dengan NaOH (Fessenden dan Fessenden, 1992)

Selanjutnya, padatan disaring dengan kertas saring halus dicuci dengan aquades hingga pH netral yang bertujuan untuk mempermudah mengamati perubahan saat akan diuji dengan metode biuret. Filtrat yang diperoleh diuji dengan pereaksi Biuret, bila filtrat berubah jadi biru berarti protein sudah hilang dapat dilihat di lampiran (6). Padatan yang diperoleh (khitin kasar) dikeringkan

dalam oven pada suhu 65°C selama 24 jam. Rendemen yang diperoleh dari hasil deproteinasi ialah 82,82% dengan isolat yang diperoleh sebanyak 14.9076 g.

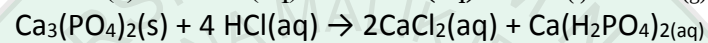


Gambar 4.3 Reaksi antara Protein, CuSO₄, NaOH pada Uji Biuret (Astuti, 2009).

4.1.2.2 Demineralisasi

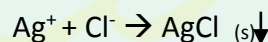
Komponen utama yang terdapat dalam limbah krustacea adalah protein, khitin dan mineral, sedangkan kandungan mineral yang paling banyak terdapat dalam kulit udang ialah kalsium (Johnson dan Peniston. 1982). Kandungan mineral dalam kulit udang dapat mempengaruhi aktivitas enzim yang dapat menghambat aktivitas enzim, apabila kulit udang mengalami proses demineralisasi, maka dapat meningkatkan kinerjanya dari biosensor. Tahap demineralisasi merupakan tahap penghilangan mineral-mineral yang terdapat pada kulit udang dengan menggunakan larutan HCl. Khitin yang diperoleh dilarutkan dalam larutan HCl 1 M, dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran dipanaskan pada suhu 65°C, selama 2 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnet, kemudian disaring. Pemanasan bertujuan untuk mempercepat lepasnya mineral dari khitin. Proses isolasi kitin dari kulit udang dilakukan melalui 3 tahap yaitu deproteinasi, demineralisasi dan dekolorisasi. Pada tahap demineralisasi,

mineral-mineral yang terkandung pada cangkang udang (CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) dihilangkan dengan menambahkan asam klorida (HCl) encer membentuk garam-garam klorida dengan melepaskan CO_2 yang berbentuk gelembung-gelembung gas yang dapat larut dalam air. Proses demineralisasi dapat dilihat pada lampiran (6).



Reaksi antara mineral pada cangkang udang dengan HCl . (Manurung, 2011)

Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquades untuk menghilangkan HCl yang tersisa. Untuk memuktikan ada / tidaknya Cl^- yang tersisa, maka ditambah pereaksi AgNO_3 . Sisa ion Cl^- yang ada akan bereaksi dengan dengan Ag maka AgCl , sebagaimana reaksi berikut:



Apabila tidak terbentuk endapan putih, maka sisa ion Cl^- yang terkandung sudah hilang (Weska, 2006), sebagaimana ditampilkan di lampiran (6).

Kandungan pigmen dalam kulit udang adalah karotenoid. Karotenoid pada kulit udang berada dalam bentuk kompleks karotenoprotein yang apabila diberi perlakuan panas dapat menyebabkan renggangan ikatan yang mengikat karotenoid dengan protein, sehingga warna udang dapat mengalami perubahan dari gelap menjadi merah terang (Hendry, dan Houghton, 1996). Karotenoid dapat mempengaruhi aktivitas enzim dengan mengganggu sisi aktif enzim sehingga aktivitas enzim menurun dan menghambat reaksi enzimatik, hal ini

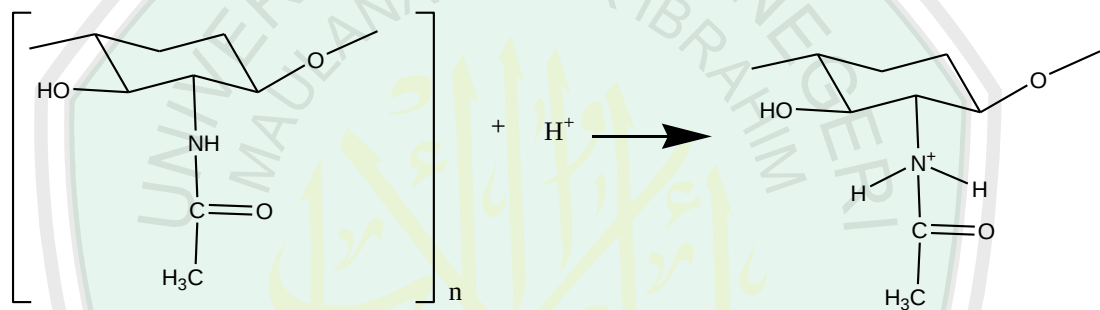
dapat dicegah dengan tahapan dekolorisasi. Tahap dekolorisasi merupakan proses penghilangan zat warna atau pigmen dari isolat khitin. Salah satu cara untuk menghilangkan warna tersebut adalah dengan metode sokletasi menggunakan pelarut aseton. Dari hasil isolasi kitin yang dilakukan, maka diperoleh isolat khitin sebanyak 14,624 gram dari 17 gram serbuk kulit udang windu dengan rendemen 27%. Menurut Johnson dan Peniston (1982) rendemen khitin dari cangkang udang sebesar 20-30 %.

4.2 Pembuatan Matrik Khitin

Polivinil alkohol dilarutkan dalam air panas pada perbandingan 1:10 (w/v) dengan suhu 100 °C. Polivinil alkohol memiliki sifat perekat, dan memiliki kekuatan tarik yang tinggi dan fleksibilitas. Pada suhu kamar PVA berwujud padat. Berdasarkan kemampuan sebagai perekat PVA digunakan dalam proses pembuatan matrik khitin.

Khitin merupakan biopolimer polisakarida dengan rantai lurus, yang tersusun dari 2000–3000 monomer N-asetil-D-glukosamin, monomer-monomer tersebut tersusun dengan ikatan β -1,4. Khitin berbentuk kristal, tidak larut dalam pelarut biasa, tetapi larut dalam larutan asam kuat (Bastaman, 1989) (dapat dilihat pada lampiran 11 gambar 3.2 Khitin dalam asam asetat 2%) Khitin dalam asam asetat 2% sambil distirer 600 rpm selama 6 jam). Ornum (1992) menyatakan bahwa khitin mudah mengalami degradasi secara biologis, tidak beracun, tidak larut dalam air, Tingkat solubilitas khitin terhadap asam asetat

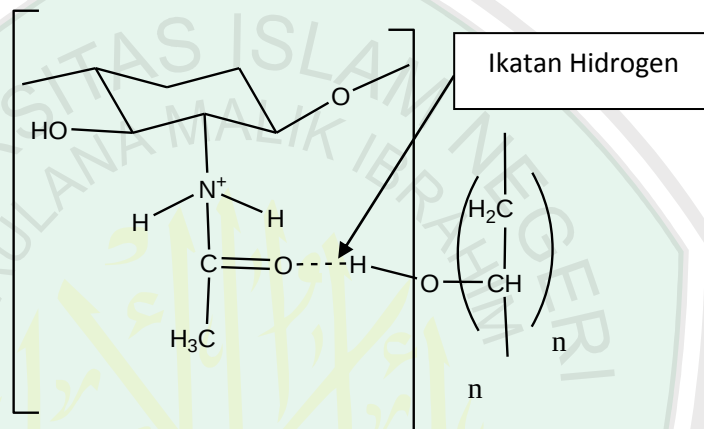
merupakan parameter yang dipengaruhi oleh keadaan alami dari asam asetat sebagai agen pemberi proton (H^+). Gugus NH akan mendapatkan donor proton (H^+) dari asam asetat dan akan menjadi NH_2^+ dalam suasana asam (dapat dilihat pada gambar 4.9 gugus NH mendapatkan donor proton dari asam asetat) (Neburchilov, V.,dkk.2007).



Gambar 4.4 Gugus NH mendapatkan donor proton dari asam asetat (Istiana, 2014)

Campuran khitin dimasukkan ke dalam PVA pada perbandingan 1:4 (b%). Gugus $C=O$ yang terdapat dari khitin berinteraksi dengan gugus OH^- yang terdapat dari polivinil alkohol melalui ikatan hidrogen sehingga membentuk komposit (dapat dilihat pada lampiran 11 gambar 3.4 Campuran khitin dan Polivinil Alkohol yang dilapiskan diatas Kaca). Larutan dituangkan pada meja yang terlapiskan kaca sambil dikeringkan pada suhu $25^{\circ}C$ (dapat dilihat pada lampiran 11 Gambar 3.5 matrik khitin tanpa enzim urease). Matriks khitin yang diperoleh kemudian dipotong sesuai dengan ukuran elektroda, ukuran ini disesuaikan dengan elektroda pH meter (ion meter). Cara untuk mendapatkan matrik yang

memiliki ketebalan yang sama, masing-masing matriks yang diperoleh diukur ketebalannya dengan mikrometer pada beberapa titik (dapat dilihat pada lampiran 6 gambar 4.3.5). Adapun interaksi antara khitin dengan polivinil alkohol dapat dilihat pada gambar.4.5



Gambar 4.5 Interaksi khitin dengan polivinil alkohol (Istiana, 2014)

4.2.1 Karakterisasi Matrik Khitin

Karakterisasi matrik khitin, meliputi karakterisasi fisik berupa warna, ketebalan, dan ukuran. Warna coklat muda matrik khitin bersifat elastis. matrik khitin yang diperoleh memiliki ukuran sebesar 8 cm x 5 cm. Ketebalan matrik khitin sebesar 0,314 mm.



Gambar 4.6 Matrik Khitin

4.2.2 Karakterisasi Matrik Khitin-Urease

Karakterisasi matrik khitin-urease meliputi karakterisasi fisik berupa warna, ketebalan, dan ukuran. Warna coklat keputihan matrik khitin-urease bersifat elastis. matrik khitin-urease yang diperoleh memiliki ukuran sebesar 8 cm x 5 cm. Ketebalan matrik khitin-urease sebesar 0,314 mm.



Gambar 4.7 Matrik Khitin-Urease

4.3 Pembuatan Biosensor Urea

Bioreseptor yang digunakan menggunakan 2 macam matrik yaitu matrik khitin dengan matrik khitin-urease. Matriks khitin ataupun matrik khitin-urease yang telah dibuat dilapiskan pada permukaan bawah elektroda pH meter (ion meter) yang mana ion NH_2^+ dan diikat menggunakan O-ring yang bertujuan agar tidak mudah terlepas (dapat dilihat pada gambar 4.13 pH meter (Ion Meter)). Elektroda pH meter (Ion Meter) yang telah dilapiskan dengan Matrik Khitin dicelupkan ke dalam larutan urea. Larutan standart urea merupakan sampel yang diukur untuk menentukan kadar urea dilakukan menggunakan metode sel elektrokimia dengan menggunakan variasi konsentrasi larutan standart urea.

Hasil interaksi yang berupa besaran fisik potensial listrik atau lainnya akan dimonitor oleh transduser. Besaran tersebut kemudian diproses sebagai sinyal sehingga diperoleh hasil yang dapat dipahami pada suatu layar monitor pada seperangkat elektroda pH (ion meter).



Gambar 4.8 pH meter (Ion Meter) yang telah dilapiskan dengan Matrik Khitin dalam Larutan Urea

4.4 Penentuan Potensial Optimum Biosensor Urea

Biosensor Urea dibuat menggunakan enzim dan tanpa adanya penambahan enzim sebagai mediator transfer elektron, selama pengukuran matrik khitin akan teroksidasi terlebih dahulu menjadi ion NH_4^+ sebelum menangkap elektron dari hasil oksidasi enzim urease. Penentuan potensial oksidasi optimum matriks khitin dilakukan menggunakan metode sel elektrokimia dengan menggunakan variasi konsentrasi larutan standart urea. Peningkatan beda potensial yang dihasilkan disebabkan banyak ion NH_4^+ (dapat dilihat pada grafik 4.3)

4.5.1 Performansi Analitik Matrik Khitin sebagai Biosensor

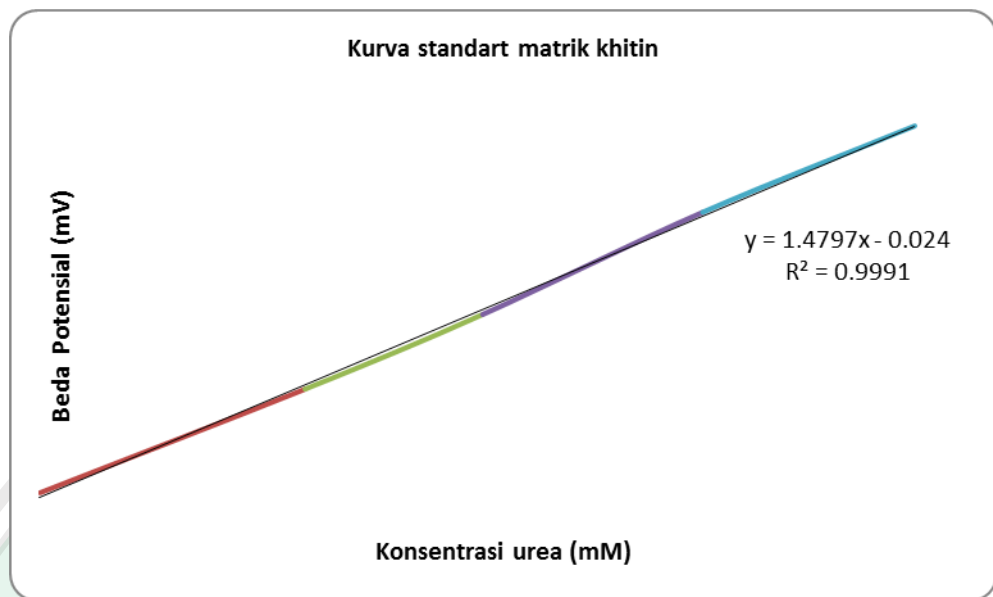
4.5.1.1 *Linear range*

Linear range biosensor urea ditentukan berdasarkan pengukuran larutan standart urea dengan menggunakan metode potensiometrik. Kurva kalibrasi dibuat dengan menentukan beda potensial dari larutan standart urea pada potensial oksidasi dan konsentrasi urea standart mulai 0 mM; 1 mM; 1,67 mM; 2,5 mM; 3,333 mM; 4,167 mM. *linear range* dapat digambarkan dengan cara memplotkan konsentrasi glukosa sebagai sumbu x dan beda potensial sebagai sumbu y.

Pengukuran beda potensial dilakukan pada konsentrasi 0 mM (blanko) sebesar 0,033 mV; konsentrasi 1 mM sebesar 1,4 mV; konsentrasi 1,67 mM sebesar 2,383 mV; konsentrasi 2,5 mM sebesar 3,73 mV; konsentrasi 3,333 mM sebesar 4,87 mV, sehingga didapatkan persamaan garis dari adanya kurva standart adalah

$$y = 1,479x - 0,0024. \dots\dots\dots (1)$$

Respon merupakan kemampuan suatu matrik dilewati oleh ion dalam seperangkat elektroda pH (ion meter) dari adanya potensial optimum oksidasi. Respon dilambangkan dengan symbol y. Respon matrik khitin dapat dilewati oleh ion NH_4^+ sebesar 0,1491 mV.



Gambar 4.9 Grafik Kurva Standart Matriks Khitin

Berdasarkan gambar 4.9 diketahui bahwa beda potensial meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi urea. Hubungan linear ini menunjukkan bahwa konsentrasi sebanding dengan kenaikan arus yang terukur. Semakin tinggi konsentrasi urea maka semakin tinggi kenaikan arus yang dihasilkan karena urea yang dioksidasi oleh adanya donor proton (ion H^+) semakin banyak dan elektron yang ditransfer selama pengukuran menjadi semakin besar, ditunjukkan dengan arus, sehingga beda potensial semakin tinggi. Koefisien regresi yang diperoleh berdasarkan gambar 4.3 adalah sebesar 0,999 artinya $\pm 99,9\%$ perubahan beda potensial dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi urea, sedangkan $\pm 0,1\%$ dipengaruhi oleh faktor lain. Daerah linier untuk biosensor selulosa asetat adalah 0 mM sampai dengan 3,333 mM.

4.5.1.2 Limit Deteksi

Limit deteksi suatu metode pengukuran adalah konsentrasi terkecil dari analit yang dapat diukur oleh alat yang baik. Semakin kecil konsentrasi yang bisa

dideteksi maka semakin baik karakteristik sensor tersebut. Batas terkecil dari suatu analit yang masih dapat ditentukan atau dideteksi oleh membran khitin ditentukan dari grafik beda potensial terhadap konsentrasi pada kurva kalibrasi dengan menentukan standart deviasi terlebih dulu. Standart deviasi matrik khitin tanpa enzim urease yang diperoleh adalah 0,0577, konsentrasi terkecil yang bisa diukur oleh matrik khitin tanpa enzim urease adalah 0,117 mM.

4.5.1.3 Sensitivitas

Sensitivitas biosensor urea ditentukan berdasarkan nilai slope / kemiringan (m) dari kurva kalibrasi. Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit. Berdasarkan gambar 4.3 Grafik Kurva Standart Matriks Khitin tanpa enzim Urease didapatkan nilai sensitivitas sebesar 1,479 mV/mM.

4.5.2 Performansi Analitik Matrik Khitin-Urease sebagai Biosensor

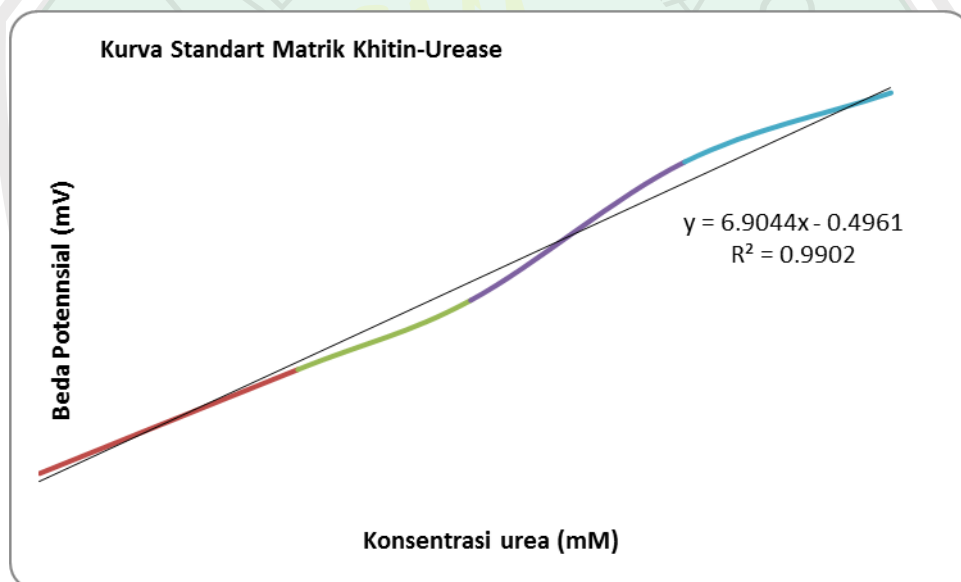
4.5.2.1 Linear range

Linear range biosensor urea ditentukan berdasarkan pengukuran larutan standart urea dengan menggunakan metode potensiometrik. Kurva kalibrasi dibuat dengan menentukan beda potensial dari larutan standart urea pada potensial oksidasi dan konsentrasi urea standart mulai 1 mM; 1,67 mM; 2,5 mM;

3,333 mM; 4,167 mM. *linear range* dapat digambarkan dengan cara memplotkan konsentrasi glukosa sebagai sumbu x dan beda potensial sebagai sumbu y.

Pengukuran beda potensial dilakukan pada konsentrasi 0 mM (blanko) sebesar 0 mV; konsentrasi 1 mM sebesar 6 mV; konsentrasi 1,67 mM sebesar 10 mV; konsentrasi 2,5 mM sebesar 18 mV; konsentrasi 3,333 mM sebesar 22 mV, sehingga didapatkan persamaan garis dari adanya kurva standart adalah

$$y = 6,904x - 0,496. \dots\dots\dots (1)$$



Gambar 4.10 Grafik kurva standart kurva standart matrik khitin-urease

Berdasarkan gambar 4.10 diketahui bahwa beda potensial meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi urea. Hubungan linear ini menunjukkan bahwa konsentrasi sebanding dengan kenaikan arus yang terukur. Semakin tinggi konsentrasi urea maka semakin tinggi kenaikan arus yang dihasilkan karena urea yang dioksidasi oleh reaksi hidrolisis dengan adanya penambahan enzim urease, semakin banyak dan elektron yang ditransfer selama pengukuran menjadi

semakin besar, ditunjukkan dengan arus, sehingga beda potensial yang semakin tinggi. Koefisien regresi yang diperoleh berdasarkan gambar 4.10 adalah sebesar 0,99 artinya $\pm 99,0\%$ perubahan beda potensial dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi urea, sedangkan $\pm 1\%$ dipengaruhi oleh faktor lain. Daerah linear untuk biosensor urea adalah 0 mM sampai dengan 3,333 mM.

4.5.2.2 Limit deteksi

Limit deteksi suatu metode pengukuran adalah konsentrasi terkecil dari analit yang dapat diukur oleh alat yang baik. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi maka semakin baik karakteristik sensor tersebut. Batas terkecil dari suatu analit yang masih dapat ditentukan atau dideteksi oleh membran khitin ditentukan dari grafik beda potensial terhadap konsentrasi pada kurva kalibrasi dengan menentukan standart deviasi terlebih dulu.

Standart deviasi matrik khitin tanpa enzim urease yang diperoleh adalah 0,0577, konsentrasi terkecil yang bisa diukur oleh matrik khitin tanpa enzim urease adalah 0,117 mM. Standart deviasi matrik khitin menggunakan enzim diperoleh adalah 0. Sedangkan Konsentrasi terkecil yang bisa diukur oleh matrik khitin menggunakan enzim urease adalah 0 mM, Matriks khitin menggunakan enzim urease merupakan batas yang paling kecil yang dapat diukur oleh alat (biosensor), jika dibandingkan dengan matrik khitin tanpa enzim urease. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi maka semakin baik kinerja sensor.

4.5.2.3 Sensitivitas

Sensitivitas biosensor urea ditentukan berdasarkan nilai slope / kemiringan (m) dari kurva kalibrasi. Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit. Berdasarkan gambar 4.4. grafik kurva standart kurva standart matrik khitin-urease adalah 6,904 mV/mM Nilai sensitivitas yang semakin besar menunjukkan semakin sensitive metode analisis tersebut.

4.5 Pembuatan Biosensor Urea dalam Kajian Islam

Urea merupakan biomolekul yang sangat penting. Urea yang terbentuk merupakan hasil dari siklus urea dalam tubuh yang berasal dari ammonia atau dari asam amino. Kemudian diekskresikan melalui urin atau cairan tubuh pada manusia. Selain itu urea juga akan teradsorpsi dalam ginjal sehingga terdapat dalam darah dengan batas normal 5-25 mg/dL. Proses tersebut terjadi secara teratur dan seimbang didalam tubuh dengan atas izin Allah Swt sebagaimana firmanya dalam surat al-a'la ayat 3,

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ۖ

Artinya: “dan menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk”

Dalam ayat tersebut disebutkan kata قَدَّرَ (kadar) dan فَهَدَىٰ (memberi petunjuk). قَدَّرَ disini bukan hanya sekedar kadar saja, akan tetapi termasuk pula ukuran yang dengannya dapat diukur segala sesuatu. فَهَدَىٰ disini juga bukan hanya sekedar memberi petunjuk, memberi petunjuk untuk dapat mengetahui kadar dengan cara mengukur sesuatu yang belum jelas dan hakikat yang dengannya

dipisahkan diantara makhluk serta ditegakkan keadilan diantara mereka. Oleh karena itulah, Allah Swt berfirman di ayat sebelumnya, “yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya).” Hal itu, karena jika Allah menciptakan dan menyempurnakan untuk menciptakan keseimbangan dan menyerahkan perkara tersebut kepada akal dan pendapat mereka yang terbatas, tentu akan terjadi kerusakan yang besar yang hanya diketahui oleh Allah Swt, dan tentu langit dan bumi akan hancur (Shihab, 2002).

Urea didalam darah normalnya adalah 5-25 mg/dL. Apabila karena suatu hal kadar urea dalam darah dapat meningkat, maka kesetimbangan dalam darah akan terganggu dan hal tersebut dapat dijadikan dugaan awal bahwasannya salah satu organ tubuh manusia bermasalah. Indikasi kesetimbangan dalam tubuh yang tidak normal ini dapat diketahui dengan cara mendeteksi urea salah satunya dengan menggunakan biosensor berbasis khitin. Allah SWT berfirman dalam surat al Baqarah (2): 164.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ

مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ

السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupakan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. al Baqarah (2): 164).

Dalam surat al Baqarah (2): 164 juga dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di bumi ini tidaklah sia-sia (tidak main-main) baik itu di daratan maupun di lautan. Hal tersebut juga dijelaskan dalam firman Allah SWT surat al Anbiyaa' (21): 16.

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَٰعِبِينَ ﴿١٦﴾

“Dan tidaklah kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan bermain-main” (QS. al Anbiyaa' (21): 16)

Semua yang diciptakan oleh Allah SWT mempunyai manfaat masing-masing, sehingga dapat diekplorasi sesuai dengan kegunaannya. Salah satu hewan diciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat adalah udang, salah satu bagian udang yang dapat dimanfaatkan adalah kulit udang.

Ayat tersebut menjelaskan tentang berbagai kekayaan hasil laut yang ada dimuka yang dapat dimanfaatkan oleh manusia antara lain udang. Dalam kulit udang terdapat kandungan senyawa khitin yang ikut berperan dibidang kesehatan. Pada penelitian ini senyawa khitin telah berhasil diisolasi dari kulit udang dan dibuat matrik khitin sebagai bahan dasar biosensor. Hasil uji linieritas, limit deteksi, dan sensitivitas, diperoleh bahwa sensor yang dihasilkan memiliki rentang kerja pada matrik khitin konsentrasi 0 mM - 3,333 mM dengan koefisien regresi sebesar 0,999 artinya $\pm 99,9\%$ perubahan beda potensial dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi urea, sedangkan $\pm 0,1\%$ dipengaruhi oleh faktor lain, limit deteksi sebesar 0,018 mM, sedangkan matrik khtin memiliki rentang kerja

kerja pada matrik khitin konsentrasi 0 mM - 3,333 mM dengan koefisien regresi yang diperoleh berdasarkan gambar 4.3 adalah sebesar 0,99 artinya $\pm 99,0\%$ perubahan beda potensial dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi urea, sedangkan $\pm 1\%$ dipengaruhi oleh faktor lain, limit deteksi 0,496 mM.

Hal tersebut menunjukkan sensor yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik dibandingkan dengan biosensor selulosa asetat yang dilakukan Cik, Muhammad Arifin dkk., (2007) memiliki koefisien yang berbeda. Daerah linier untuk biosensor selulosa asetat adalah 10^{-1} M sampai dengan 10^{-6} M koefisien regresi yang dimiliki selulosa asetat sebesar 0,8058, sedangkan selulosa asetat-urea memiliki koefisien regresi sebesar 0,9407, limit deteksi 10^{-6} M, dan sensitivitas 46,4 mV.

Berdasarkan hal tersebut telah dibuktikan secara ilmiah bahwa kulit udang yang berpotensi sebagai limbah lingkungan memiliki aktifitas yang baik sebagai bahan biosensor. Hal ini merupakan keuntungan buat manusia yang harus disyukuri karena bukan hanya udang saja yang bisa dimanfaatkan oleh manusia, namun juga kulit udang.

Masyarakat dapat menjaga lingkungan agar tetap terjaga kelestarian ataupun memanfaatkan limbah lingkungan yang dapat digunakan untuk kegiatan penelitian, membuang sampah pada tempatnya, melakukan penghematan listrik, menghemat Bahan Bakar Minyak dan masih banyak lagi, sesuai firman Allah pada surat Al-an'am (6): 99. Bahwa "supaya kamu" bersyukur.

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِيَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۚ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

Artinya: dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.



PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Matrik khitin sebagai biosensor memiliki performansi analitik berupa nilai koefisien korelasi (linearitas) sebesar 0,999; sensitivitas sebesar 1,479 mV/mM; dan limit deteksi sebesar 0,117 mM.

Matrik khitin-urease sebagai biosensor memiliki performansi analitik berupa nilai koefisien korelasi (linearitas) sebesar 0,990; sensitivitas sebesar 6,904 mV/mM; dan limit deteksi sebesar 0 mM.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan adanya optimasi konsentrasi HCl dan NaOH pada proses isolasi khitin dalam kulit udang. Identifikasi khitin dengan spektrofotometer Infra-Red untuk mengetahui berhasil / tidaknya proses isolasi khitin dan immobilisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Antonia, L.H.D dan Toressi, S.I.C. 1999. *Amperometric Urea Biosensor Using Polypyrrole with Different Dopants*. Brazil : Universidade de Sao Paulo.
- Atmoko, E.W. 2004. *Studi Immobilisasi Urease dengan Teknik Sol-Gel untuk Biosensor Urea*. Skripsi . Jember : Universitas Jember.
- Ahmet Koyun, Esma Ahlatciogluand, and Yeliz Koca Ipek. 2012. *A Roadmap of Biomedical Engineers and Milestones*. ISBN: 978-953-51-0609-8. Turkey: InTech Europe.
- Ar-Rifa'I, Muhammad Nasid. 1999. *Kemudahan dari Allah: ringkasan ibnu katsir jilid 1*. Jakarta: Gema Insani.
- Astuti, Rini Nafsiati. 2009. *Konsep Dasar Kimia*. Malang: UIN-Malang Press
- Brett, C. M., Brett, M. O. (1993). *Electro – chemistry Principles, Methods and Applications*. New York: Oxford University Press.
- Cik, Muhammad Arifin, Hadiman, H.R., Sutardjo, Supriyatatna, dan Suratno, Wawang. 2007. Pengaruh Komposisi Membran Elektroda Terhadap Kinerja Elektroda Penentu Urea. ISSN: 1978-1873. *J. Sains MIPA, Edisi khusus Tahun 2007*. Vol. 13 nomor 2: 114-118.
- Dahlioni, R. A., 1995, Pengaruh Hemodialisis terhadap Kadar Ureum pada Penderita Gagal Ginjal di Bagian Instalasi Patologi Klinik Rumah Sakit Hasan Sadikin, Bandung.
- Fatimah, Iram and Swati, Mishra. 2011. Development of Potentiometric Urea Biosensor For Clinical Purposes. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol 1 nomor 4: 300-303
- Fauziah, Begum. 2012. Optimasi Parameter Analitik Biosensor Urea Berbasis Immobilisasi Urease dalam Membran Polianilin. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Maliki Ibrahim.
- Fessenden, Ralp J. dan Fessenden, Joan S., 1992. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Harper, 2003. *Harper's Biochemistry 25 Edition*, ISBN: 979-448-593-4. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Huang, C. P, Li, Y. K., Chen, T. M. 2007. A highly sensitive system for urea detectionby using CdSe/ZnS core – shell quantumdots. *Biosensors and Bioelectronics*. Vol 22: 1835-1838.
- Indarti, Dwi, Mulyono, Tri, Kesuma, Gembong B., dan Asnawati. 2013. Biosensor Amperometri Untuk Deteksi Glukosa Berbasis Immobilisasi Glukosa Oksidase Dalam Membran Selulosa Asetat Dengan Ferrocene Sebagai Mediator. *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol 14 nomor 1: 42-48.
- Johnson, E.I dan Q.P. Peniston. 1982. Chemistry and Biochemistry of Marine Food Product. *The AVI Publ. Company*. Connecticut.
- Kateman, G. dan Buydens, L. 1993. *Quality Control In Analytical Chemistry*. USA : John Wiley and Sons, Inc.
- Kress-Rogers, E. Chemosensors, Biosensors and Immunosensors. *In Instrumentation and Sensors for the Food Industry*; Kress-Rogers, E., Ed.; Woodhead Publishing Lmted.: Cambridge, England, 1998; 599–611, 636–639.
- 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 Berbasis Urea dengan Metode Spektrofotometri untuk Penentuan Urea. *Jurnal Sains Kimia*. Vol 9 No.2, 2005: 68-72
- Kuswandi, Bambang. 2010. *Biosensor dan Sensor*. Jember: Universitas Jember Press.
- Kuswandi, Bambang. 2010. *Sensor*. Jember: Universitas Jember Press.
- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid I.Jakarta: Erlangga
- Liu G, and Lin Y.2005. *Electrochemical Sensor for Organophosphate Pesticides and Nerve Agents Using Zirconia Nanoparticles as Selective Sorbents*, *Anal. Chem.* Vol 77: 58945901.
- Manurung, Manuntun. 2011. Potensi Khitin / Khitosan dari Kulit Udang sebagai biokoagulasi penjernih air. *Jurnal Kimia* 5(2): 182-188
- Mascini, dan Tombelli. 2008. Biosensors for biomarkers in medical diagnostics. Italy: Italy and 2Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi (INBB). *Biomarkers*. Vol 13 nomor 7 – 8: 637 – 657.

Mulyani, Sri, dan Hendrawan. 2003. *Kimia Fisika II*. Bandung: Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI

Nazaruddin. 2007. Biosensor Urea Berbasis Biopolimer Khitin Sebagai Matriks Immobilisasi. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. Vol. 6, No. 1: 41-44.

Neburchilov, V., Martin, J., Wang, Wang, H., Zang, J. 2007. Review of Polymer Electrolyte Membranes for Direct Methanol Fuel Cell. *J. Power Source*, 169:221-238

Reyes De Corcuera, Jose'I, and Ralph P, Cavalieri. 2003. Biosensors. New York: *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*.

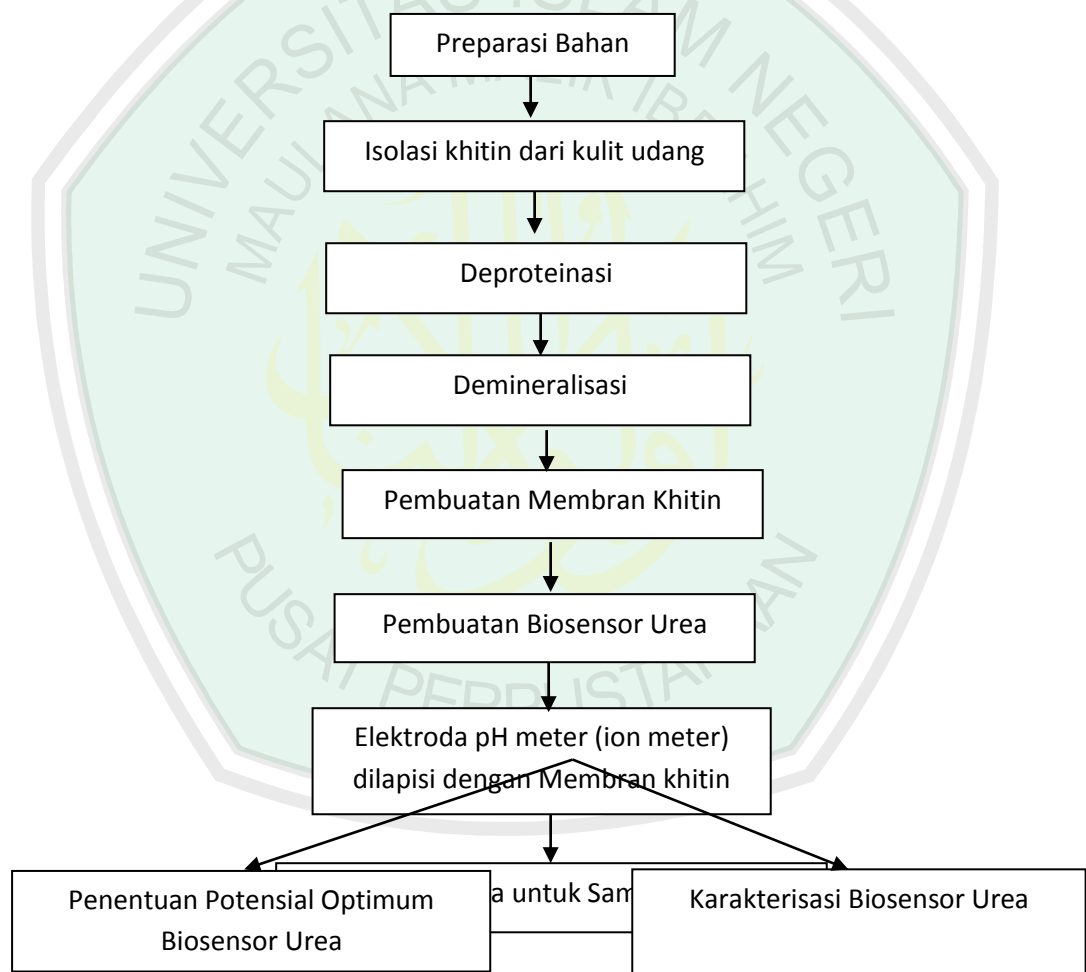
Spagna, G., Barbagallo, R. N., Casarini, D. Pifferi, P. G. 2001. A novel chitosan derivative to immobilize α -L-rhamnopyranosidase from *aspergillus niger* for application in beverage technologies, *Enzym and Microbial Technology*, 28, 427 - 438.

Weska, R. F dan Moura, J. M., 2006, Optimalisasi of Deacetylation in the Production of Chitosan from Shrimp Waste, *Journal food engineering*, 80 : 749-753

Zhao, Zhiwei and Helong Jiang. 2010. *Enzyme – based Electrochemical Biosensors*. Chinese : Southeast University, State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences.

LAMPIRAN

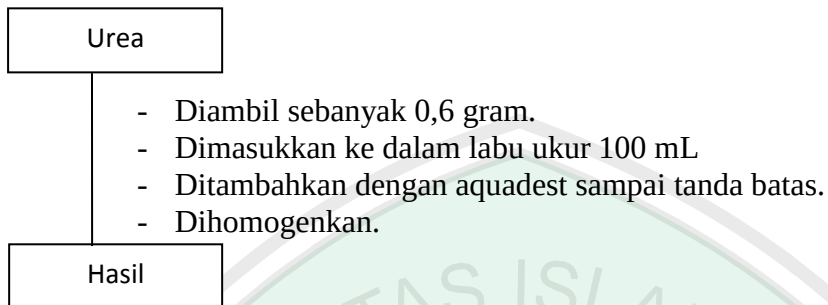
Lampiran 1. Rancangan Penelitian



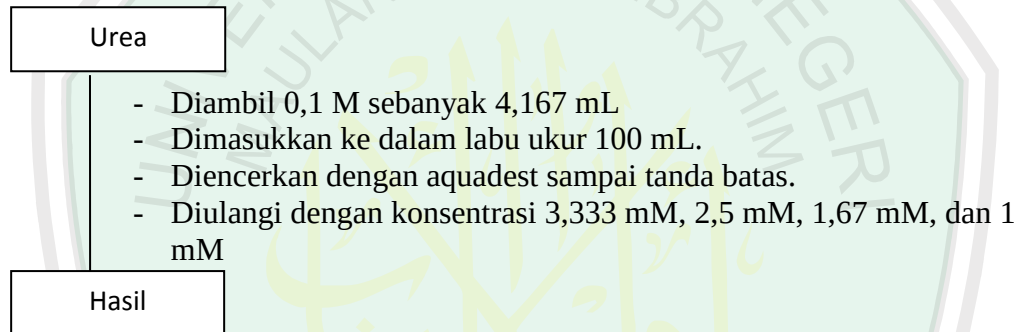
Lampiran 2. Skema Kerja

1. Preparasi Bahan

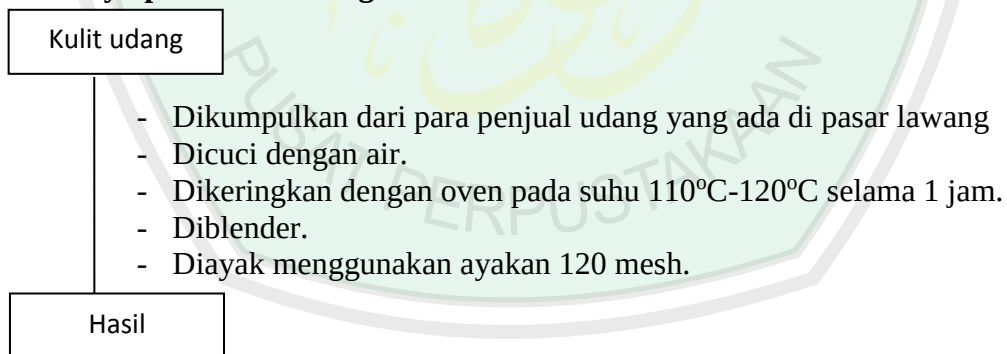
1.1 Pembuatan Larutan induk 0,1 M.



1.2 Pembuatan Larutan Standart Urea

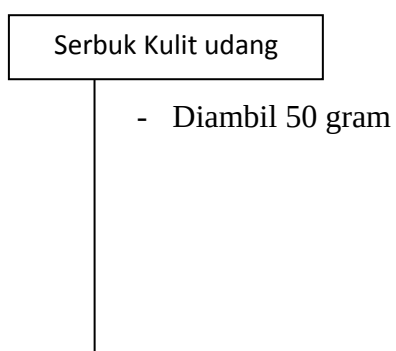


1.3 Penyiapan Kulit Udang



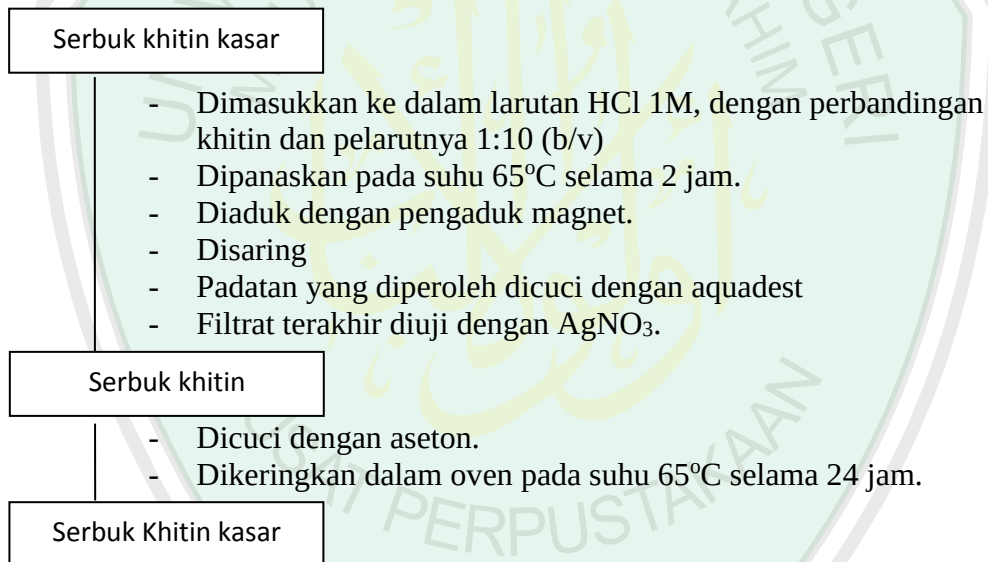
1.4 Isolasi khitin dari kulit udang

1.4.1 Deproteinasi

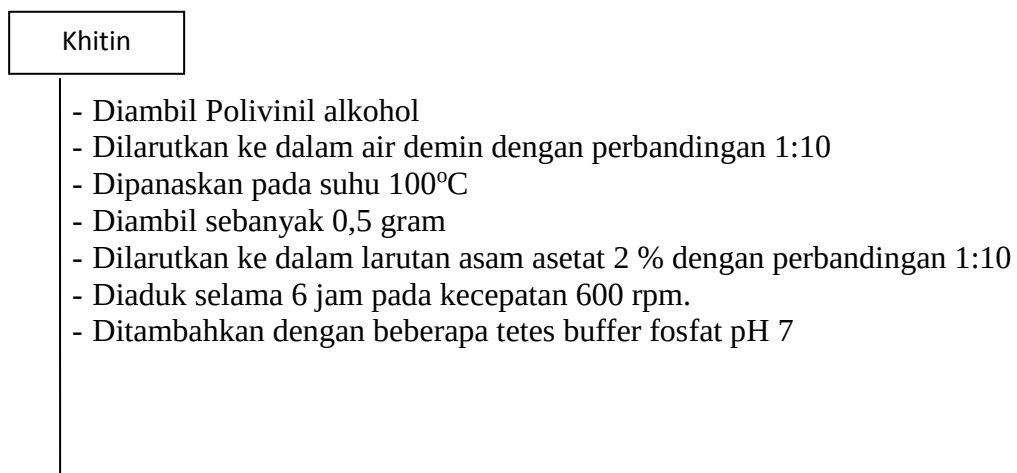


- Ditambahkan 500 mL larutan NaOH 3,5%.
 - Dipanaskan pada suhu 65°C selama 2 jam
 - Diaduk
 - disaring dengan penyaring kertas saring.
 - Dicuci dengan aquadest hingga pH netral.
 - Diuji dengan pereaksi biuret
-
- Dikeringkan dalam oven 65°C selama 2 jam

1.4.2 Demineralisasi



2. Pembuatan Matriks Khitin



- Ditambahkan 2,5 mg urease.
- Larutan campuran diaduk.
- Dituangkan pada meja yang diapiskan pada suhu 25°C selama 2 hari

Hasil

3. Pembentukan matriks khitin

Matrik Khitin

- Dipotong dengan sesuai ukuran elektroda
- Diukur ketebalan matriks khitin dengan mikrometer.

Hasil

4. Pembuatan Biosensor Urea

Elektroda pH

- Direndam dalam aquadest
- Diukur beda potensial pada aquadest

Biosensor

- Dilapisi dengan membran khitin
- Diukur beda potensial pada larutan urea dengan konsentrasi 4,167 mM; 3,333 mM; 2,5 mM; 1,67 mM; 1 mM.
- Diulangi langkah (untuk membran khitin yang telah terimmobilisasi enzim)

Biosensor urea

Lampiran 3. Pembuatan Reagen

1. Pembuatan Larutan Induk Urea 0,1 M

$$\begin{aligned}
 \diamond n &= \frac{gr}{Mr} \\
 &= \frac{0,6 \text{ gr}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= 0,01 \text{ mol} \\
 \diamond M &= \frac{n}{V} \\
 &= \frac{0,01 \text{ mol}}{0,1L} \\
 &= 0,1 \text{ M.}
 \end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Standart Urea 4,167 mM; 3,333 mM; 2,5 mM; 1,67 mM; 1 mM.

$$\begin{aligned}
 \text{❖ } 25 \text{ mg / dL setara dengan} &= \frac{25 \text{ mg}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= \frac{0,4167 \text{ mmol}}{0,1 \text{ L}} \\
 &= 4,167 \text{ mM} \\
 \text{❖ } 20 \text{ mg / dL setara dengan} &= \frac{20 \text{ mg}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= \frac{0,3333 \text{ mmol}}{0,1 \text{ L}} \\
 &= 3,333 \text{ mM} \\
 \text{❖ } 15 \text{ mg / dL setara dengan} &= \frac{15 \text{ mg}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= \frac{0,25 \text{ mmol}}{0,1 \text{ L}} \\
 &= 2,5 \text{ mM} \\
 \text{❖ } 10 \text{ mg / dL setara dengan} &= \frac{10 \text{ mg}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= \frac{0,167 \text{ mmol}}{0,1 \text{ L}} \\
 &= 1,67 \text{ mM} \\
 \text{❖ } 6 \text{ mg / dL setara dengan} &= \frac{6 \text{ mg}}{60 \text{ gr/mol}} \\
 &= \frac{0,1 \text{ mmol}}{0,1 \text{ L}} = 1 \text{ mM}
 \end{aligned}$$

i. Pengenceran 4,167 mM

$$\begin{aligned}
 \text{➤ } M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 100 \text{ mM} \times V_1 &= 4,167 \text{ mM} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 4,167 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

ii. Pengenceran 3,333 mM

$$\begin{aligned}
 \text{➤ } M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 100 \text{ mM} \times V_1 &= 3,333 \text{ mM} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 3,333 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

iii. Pengenceran 2,5 mM

$$\begin{aligned}
 \text{➤ } M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 100 \text{ mM} \times V_1 &= 2,5 \text{ mM} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 2,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

iv. Pengenceran 1,67 mM

$$\begin{aligned}
 \text{➤ } M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 100 \text{ mM} \times V_1 &= 1,67 \text{ mM} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 1,67 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

v. Pengenceran 1 mM

$$\text{➤ } M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ mM} \times V_1 = 1 \text{ mM} \times 100 \text{ mL.}$$

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

3. Pembuatan larutan NaOH 3,5%

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi \% (b:v)} &= \frac{\text{massa NaOH gram}}{1000 \text{ ml}} \\ &= \frac{35 \text{ gr}}{1000} \\ &= 3,5\% \end{aligned}$$

4. Pembuatan HCl 1 M

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi (M)} &= \frac{\rho \left(\frac{\text{gr}}{\text{ml}} \right) \times \text{konsentrasi (\%)} \times 10}{M_r} \\ &= \frac{1,18 \left(\frac{\text{gr}}{\text{ml}} \right) \times 37\% \times 10}{36,5 \left(\frac{\text{gr}}{\text{mol}} \right)} \\ &= 11,96 \text{ M} \end{aligned}$$

➤ Pengenceran dari 11,96 M

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$11,96 \text{ M} \times V_1 = 1 \text{ M} \times 100 \text{ mL.}$$

$$\begin{aligned} V_1 &= \frac{100 \text{ mM}}{11,96 \text{ M}} \\ &= 83,6 \text{ mL} \end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil pengukuran beda potensial matrik khitin

1. Matriks khitin tanpa enzim urease dan tanpa urea (blanko)

Konsentrasi	Pengulangan Pengukuran Beda Potensial (mV)			Rerata (mV)
	U ₁	U ₂	U ₃	
0	0	0	0,1	0,033
1 mM	1,4	1,4	1,4	1,4
1,67 mM	2,4	2,4	2,35	2,383
2,5 mM	3,8	3,7	3,7	3,73
3,3 mM	4,6	5	5	4,87
Rerata (mV)				2.497

1.1 Linear range

$$y = mx + c$$

$$= 1,479x + (-0,024)$$

$$r = 0,999$$

Dimana: y = arus

m = Slope atau kemiringan dari kurva standart

c = Intersep atau perpotongan terhadap sumbu y (Caulcutt dan Boddy, 1983)

1.2 Limit deteksi

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0-0,033)^2 + (0-0,033)^2 + (0,1-0,033)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{0,001089 + 0,001089 + 0,004489/2} \\ &= \sqrt{0,006667/2} \\ &= 0,0577 \end{aligned}$$

Dimana:

$\bar{x}$ = rerata (mean)

x_i = data ke 1, 2, 3,...dsb.

n = jumlah pengukuran / banyaknya ulangan.

$$\begin{aligned} Y_{LOD} &= y_B + 3SD \\ &= (-0,024) + (3 \times 0,0577) \\ &= 0,1491 \text{ mV} \end{aligned}$$

Dimana:

Y_{LOD} = limit deteksi,

$y_B = c$ = intersep kurva kalibrasi

$SD = S_{y/x}$ = standart devisiasi kurva kalibrasi (Miller *et al*, 1993).

$$\begin{aligned} X &= \frac{Y_{LOD} - c}{m} \\ &= \frac{0,1491 - (-0,024)}{1,479} \end{aligned}$$

$$= \frac{0,1731}{1,479}$$

$$= 0,117 \text{ mM}$$

2. Matrik khitin dengan penambahan enzim urease dan tanpa urea (blanko)

Konsentrasi	Pengulangan Pengukuran Beda Potensial (mV)			Rerata (mV)
	U ₁	U ₂	U ₃	
0	0	0	0	0
1 mM	6	6	6	6
1,67 mM	10	10	10	10
2,5 mM	18	18	18	18
3,3 mM	22	22	22	22
Rerata (mV)				11,2

2.1 Linear range

$$y = mx + c$$

$$= 6,904x + (-0,496)$$

$$r = 0,990$$

Dimana: y = arus

m = Slope atau kemiringan dari kurva standart

c = Intersep atau perpotongan terhadap sumbu y (Caulcutt dan Boddy, 1983)

2.2 Limit deteksi

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{0}{2}}$$

$$= \sqrt{0}$$

$$= 0$$

Dimana:

x = rerata (mean)

x_i = data ke 1, 2, 3,...dsb.

n = jumlah pengukuran / banyaknya ulangan.

$$Y_{LOD} = y_b + 3SD$$

$$= (-0,496) + 3 \times 0$$

$$= -0,496 \text{ mM}$$

$$x = \frac{Y_{LOD} - c}{m}$$

$$= \frac{-0,496 - (-0,496)}{6,904}$$

$$= 0 \text{ mM}$$

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

1. Deproteinasi Khitin dari Kulit Udang

Berat serbuk kulit udang hasil blender (berat sampel) = 88,9857 gram

Berat hasil deproteinasi = 73,698 gram

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat hasil deproteinasi}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{73,698 \text{ gr}}{88,9857 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 82,82\%$$

2. Demineralisasi Khitin dari Kulit Udang

Berat hasil demineralisasi = 25,0102 gram

Berat hasil dekolorisasi = 21,2483 gram

Berat serbuk kulit udang hasil blender (berat sampel) = 88,9857 gram

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat hasil demineralisasi}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{25,0102 \text{ gr}}{88,9857 \text{ gr}} \times 100\%$$

= 28,1059%

Lampiran 6 Dokumentasi

1. Preparasi Sampel



Gambar 1 Serbuk kulit udang setelah
diblender

2. Isolasi Khitin dari Kulit Udang



Gambar 2.1 Deproteinasi Khitin dari



Gambar 2.2 Filtrat Hasil Deproteinasi dari

kulit Udang



Gambar 2.2 Hasil pengujian Filtrat Deproteinasi terhadap Pereaksi Biuret

Kulit Udang



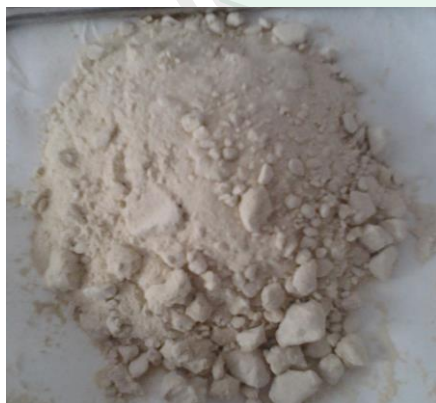
Gambar 2.3 Demineralisasi Khitin dari kulit Udang



Gambar 2.4 Filtrat Hasil demineralisasi dari Kulit Udang diuji dengan AgNO_3



Gambar 2.5 Proses Penghilangan Warna dengan Metode Sokletasi Menggunakan Pelarut Aseton.



Gambar 2.6 Serbuk Khitin Murni setelah mengalami Proses Isolasi

3. Pembuatan Matrik Khitin



Gambar 3.1 Polivinil Alkohol dilarutkan dalam air demin pada perbandingan 1:10 (w/v) dengan suhu 100 °C



Gambar 3.2 Khitin ditambahkan asam asetat 2%



Gambar 3.3 Campuran khitin dimasukkan ke dalam Polivinil Alkohol



Gambar 3.4 Campuran khitin dan Polivinil Alkohol yang dilapiskan diatas Kaca



Gambar 3.5 Matriks Khitin tanpa enzim Urease

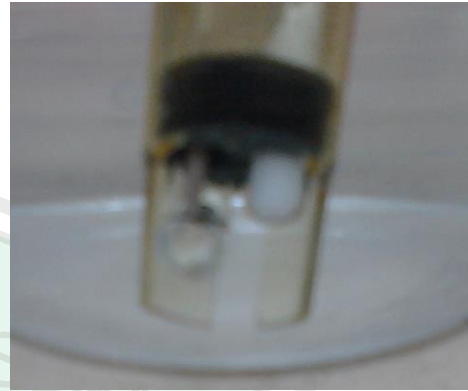


Gambar 3.6 Matriks Khitin dengan enzim Urease

4. Pembuatan Biosensor Urea



Gambar 4.1 pH meter (Ion Meter) yang telah telapiskan dengan Matrik Khitin dalam Larutan Urea



Gambar 4.2 elektroda pH (ion meter) Yang belum terlapiskan dengan matrik khitin sebelum pengukuran



Gambar 4.3 elektroda pH (ion meter) yang terlapiskan dengan matrik khitin setelah pengukuran

5. Pembuatan Sel Elektrokimia



Gambar 5.1 Rancangan sel elektrokimia dengan menggunakan elektroda pH (ion meter)

