

**PERFORMANSI ANALITIK SENSOR UREA TERIMMOBILISASI REAGEN  
DIASETIL MONOKSIM (DAM) DAN TIOSEMIKARBAZIDA (TSC) SECARA  
ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD IQBAL FAHMI  
NIM. 11630053**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2015**

**PERFORMANSI ANALITIK SENSOR UREA TERIMMOBILISASI  
REAGEN DIASETIL MONOKSIM (DAM) DAN TIOSEMIKARBAZIDA  
(TSC) SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD IQBAL FAHMI  
NIM. 11630053**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2015**

**PERFORMANSI ANALITIK SENSOR UREA TERIMMOBILISASI  
REAGEN DIASETIL MONOKSIM (DAM) DAN TIOSEMIKARBAZIDA  
(TSC) SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD IQBAL FAHMI  
NIM. 11630053**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 03 Desember 2015**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm  
NIP. 19830628 200912 2 004**

**Tri Kustono Adi, M.Sc  
NIP. 19710311 200312 1 002**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M. Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

**PERFORMANSI ANALITIK SENSOR UREA TERIMMOBILISASI  
REAGEN DIASETIL MONOKSIM (DAM) DAN TIOSEMIKARBAZIDA  
(TSC) SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD IQBAL FAHMI  
NIM. 11630053**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 03 Desember 2015**

**Penguji Utama : Akyunul Jannah, S.Si, M.P (.....)  
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Ketua Penguji : Diana Candra Dewi, M.Si (.....)  
NIP. 19770720 200312 2 001**

**Sekretaris Penguji : Begum Fauziah, S.Si, M.Farm (.....)  
NIP. 19830628 200912 2 004**

**Anggota Penguji : Tri Kustono Adi, M.Sc (.....)  
NIP. 19710311 200312 1 002**

**Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M. Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Iqbal Fahmi  
NIM : 11630053  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia  
Judul Penelitian : “Performansi Analitik Sensor Urea Terimmobilisasi Reagen Diasetil Monoksim (DAM) dan Tiosemikarbazida (TSC) Secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel”

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 28 Desember 2015  
Yang Membuat Pernyataan,

Muammad Iqbal Fahmi  
NIM. 11630053

## KATA PENGANTAR



Puji syukur bagi Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas segala nikmat dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Performansi Analitik Sensor Urea Terimmobilisasi Reagen Diasetil Monoksim (DAM) dan Tiosemikarbazida (TSC) Secara Adsorpsi Pada Plat Silika Gel”** dengan sebaik mungkin. Shalawat serta salam selalu penulis haturkan pada Nabi Muhammad SAW, sosok teladan personal dalam membangun *“role model”* budaya pemikiran dan peradaban akademik. Untuk itu, iringan doa dan ucapan teimakasih yang sebesar-besanya penulis sampaikan kepada:

1. Ibunda, Ayahanda Kakak dan Adik tercinta yang senantiasa memberikan doa kepada penulis dalam menuntut ilmu dan membangun nilai kejujuran.
2. Bapak Prof. DR. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, drh., M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Begum Fauziah, S.Si, M.Farm, ibu Diana Candra Dewi, M.Si, dan Bapak Tri Kustono Adi, M.Sc selaku dosen pembimbing dan konsultan skripsi, yang telah meluangkan waktu untuk senantiasa membimbing dan memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Drs. KH. Taufiqurrahman yang telah membimbing dalam memperbaiki akhlaq dan mengajarkan agama agar kelak sukses di dunia dan akhirat.
7. Teman-teman kimia angkatan 2011 khususnya kimia B khususnya Saudara Bahru thohir teman sekamar ma’had dan teman kimia pertama yang selalu memberi motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman *sedulur* jam'iyah sholawat "Faroidul Bahiyah" yaitu Mahrus, Nizar, Ali, Tio, Rozi, Solikhin, Rohman, Faqih, Ja'far, Fatih, Roul, Zahro, Mila, Mimin, Fiqoh, dan Karimah yang senantiasa menjadi teman dan saudara seperjuangan dalam mencari syafaat nabi Muhammad.
9. Saudari Anisa Resti yang selalu menemani dan memberi semangat dalam menjalani hidup.
10. Kepada semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi sarana pembuka tabir ilmu pengetahuan baru dan bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Malang, 28 Desember 2015

Penulis

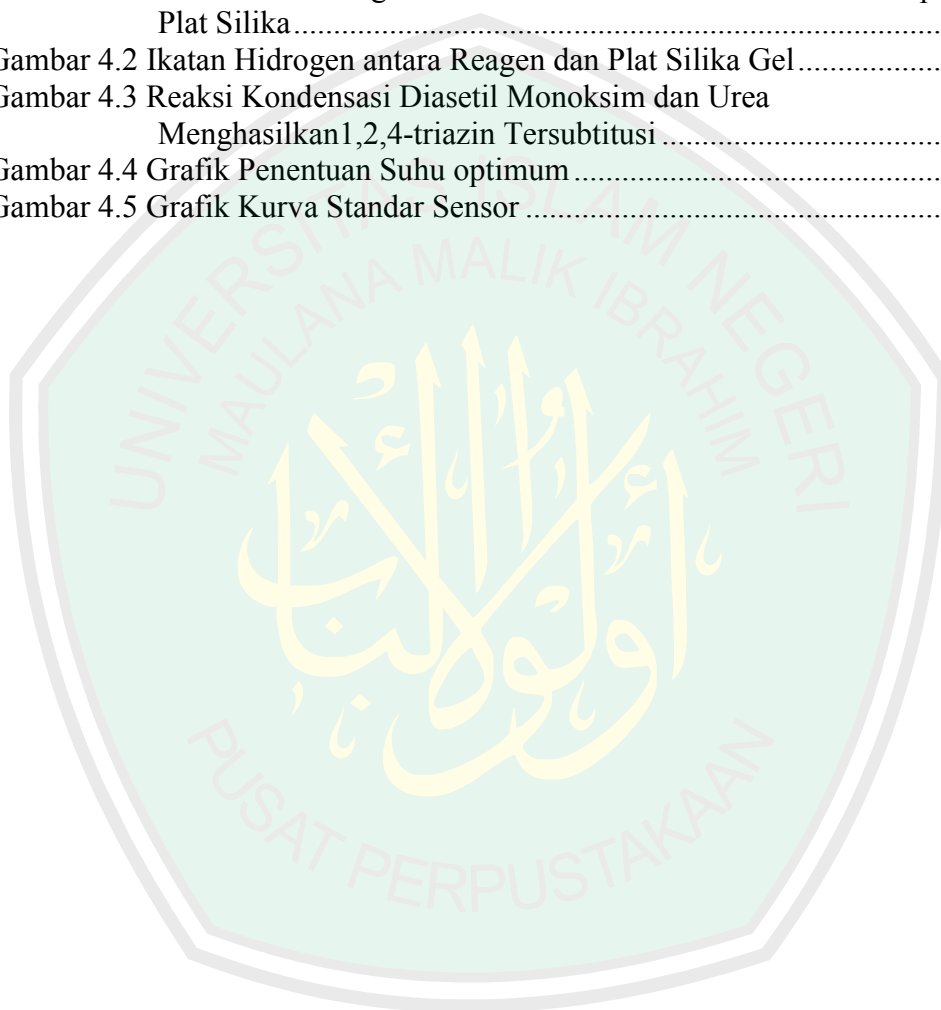
## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR ORISINALITAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	8
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat Penelitian .....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Urea .....	10
2.2 Identifikasi Urea .....	14
2.2.1 Metode Kolorimetri .....	16
1 Analisis Urea dengan Diasetil Monoksिम .....	16
2 Analisis Urea dengan Enzim Urease .....	19
2.2.2 Metode Potensiometri .....	20
2.3 Sensor Kimia .....	21
2.4 Immobilisasi .....	24
2.5 Adsorpsi .....	25
2.6 Plat Silika Gel .....	28
2.7 Parameter Analitik Sensor .....	28
2.8 Model Warna RGB .....	31
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	33
3.2 Jenis Penelitian .....	33
3.3 Alat dan Bahan .....	33
3.3.1 Alat.....	33
3.3.2 Bahan .....	33
3.4 Tahapan Penelitian .....	33
3.4.1 Preparasi Sampel.....	34
3.4.2 Preparasi Bahan.....	34
3.4.2.1 Pembuatan Reagen .....	34
a. Pembuatan Reagen Diasetil monoksिम .....	34
b. Pembuatan Reagen Tiosemikarbazida .....	34
c. Pembuatan Reagen Asam .....	35

3.4.3 Immobilisasi Reagen DAM-TSC dan Reagen Asam pada Plat Silika Gel untuk Pembuatan Sensor.....	35
3.4.4 Penentuan Urea Menggunakan Plat Silika Gel yang Terimmobilisasi Reagen DAM-TSC dan Reagen Asam .....	35
3.4.4.1 Penentuan Suhu Terbaik.....	35
3.4.4.2 Penentuan Waktu Respon Sensor dalam Mendeteksi Urea .....	35
3.4.4.3 Penentuan Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea .....	36
3.4.4.4 Penentuan LoD dan LoQ Sensor Urea .....	36
3.4.5 Analisis Data .....	37
3.4.5.1 Analisis Suhu Terbaik .....	37
3.4.5.2 Analisis Waktu Respon Sensor .....	37
3.4.5.3 Analisis Stabilitas Sensor .....	38
3.4.5.4 Analisis LoD dan LoQ Sensor Urea .....	38
3.4.5.3 Analisis RGB .....	40
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Preparasi Sampel.....	41
4.2 Immobilisasi Reagen pada Plat Silika Gel .....	42
4.3 Penentuan Urea dalam Sampel Simulasi.....	44
4.3.1 Penentuan Suhu Terbaik .....	47
4.3.2 Penentuan Waktu Respon Sensor dalam Mendeteksi Urea .....	50
4.3.3 Penentuan Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea .....	53
4.3.4 Pembuatan Kurva Standar Sensor Urea .....	56
4.4 Pembuatan Sensor Pendeteksi Urea dalam Perspektif Islam .....	61
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	67
5.2 Saran.....	67
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	69

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Molekul Urea .....	11
Gambar 2.2 Siklus Urea .....	13
Gambar 2.3 Reaksi Urea dengan Reagen DAM-TSC.....	17
Gambar 2.4 Skema Sensor Kimia .....	23
Gambar 2.5 Proses Adsorpsi .....	26
Gambar 2.6 Ilustrasi Warna yang Ditangkap pada Komputer .....	31
Gambar 4.1 Immobilisasi Reagen Diasetil Monoksim-Tiosemikarbazida pada Plat Silika.....	43
Gambar 4.2 Ikatan Hidrogen antara Reagen dan Plat Silika Gel.....	44
Gambar 4.3 Reaksi Kondensasi Diasetil Monoksim dan Urea Menghasilkan 1,2,4-triazin Tersubstitusi .....	45
Gambar 4.4 Grafik Penentuan Suhu optimum .....	49
Gambar 4.5 Grafik Kurva Standar Sensor .....	58



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Asam dan Reagen untuk Analisis Urea.....	18
Tabel 3.1 Analisis Suhu Terbaik.....	37
Tabel 3.2 Analisis Waktu Respon dalam Mendeteksi Urea.....	38
Tabel 3.3 Analisis Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea.....	38
Tabel 3.4 Analisis Konsentrasi Urea Terendah yang dapat Dideteksi oleh Sensor .....	39
Tabel 4.1 Hasil Penentuan Suhu Terbaik.....	48
Tabel 4.2 Hasil Penentuan Waktu Respon.....	51
Tabel 4.3 Hasil Penentuan Stabilitas Sensor.....	55
Tabel 4.4 Hasil Pembuatan Kurva Standar Sensor Urea.....	57
Tabel 4.5 Data Perhitungan LoD dan LoQ .....	60



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	73
Lampiran 2. Diagram Alir.....	74
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan .....	78
Lampiran 4. Hasil Analisis Nilai RGB .....	83



## Abstract

Fahmi, M.I. 2015. **Analytical Performance of Urea Sensor Immobilized Diacetyl Monoxime and Thiosemicarbazide Reagents by Adsorption on Silica Gel Plate**. Research Report. Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm; Supervisor II: Tri Kustono Adi, M.Sc.

**Keywords:** urea, sensors, diacetyl monoxime, thiosemicarbazide, adsorption, RGB

Urea is a chemical substance which can be found as indicator both in human body and in environment. Urea determination has been developed with fabricate chemical sensor based on silica gel plates through color transformation into pink color because of reaction between urea and diacetyl monoxime (DAM) and thiosemicarbazide (TSC). The aim of this research are to know the best of heating temperature, to determine the sensor respon time, sensor stability, also limit of detection and limit of quantitation.

The method which is used in this research is physic adsorption method it means splattering. Determination of the best temperature to detect urea 100 mmol/L was done by varying the heating temperature of 35; 60; and 100 °C for 20 minutes. Determination of the respon time was begun from 20th seconds to 300 seconds of heating time with interval of 20 seconds. Determination of sensor stability was done by storing the sensor at cold temperature and room temperature. The measurement was done with one day interval storage started on 0 day to 4 day. LOD and LOQ determination were done by making a standard curve urea sensor from color data which changed into numeric data with RGB method using adobe photoshop CS5.

The result of this research indicated that the best heating temperature which produced the best response is 100 °C. The respon time which was produced by the sensor to detect urea occur in 180th seconds. The sensor stability at cold temperature storage was <one day and at room temperature storage was nearly to one day. While the value of LOD and LOQ from this research was 0.1232 mmol/L and 0.4105 mmol/L.

## المخلص

فهيمى، محمد إقبال. ٢٠١٥. الأداء التحليلي من محسس اليوريا المشلل بدياسثيل مونوكسيم و طيو سمي كربازدا بطريقة الإمتصاص في خطط السيليكا الهلامي. المشرفة الأولى: بيغوم فوزية الماجستير. المشرف الثاني: تري كوسطانا أدي الماجستير. المستشارة: ديانا جنديرا ديوي المتجستيرة.

كلمات البحث: يوريا, محسس, دياسثيل مونوكسيم, طيو سمي كربازدا, إمتصاص, RGB

اليوريا هو مادة الكيمياء المحتوى في جسم الإنسان و البيئة. اليوريا مستخدم كالمؤشر لاكتشاف مشكلة الكلية و تلوث ماء البر بسبب الاستخدام مخصب اليوريا. طريقة تحديد اليوريا الكولورومتريية باستخدام دياسثيل مونوكسيم (DAM) و طيو سمي كربازدا (TSC) متطورة لتكون محسس الكيمياء في خطط السيليكا الهلامي. يستطيع هذا المحسس أن يكتشف اليوريا بوصيلة بغير اللون من الأحمر إلى الوردى. هدف هذا البحث لمعرفة أحسن درجة الحرارة و وقت الرد و استقرار المحسس و حد الكشف و الكمي.

المحسس مستخدم لتحديد أحسن درجة الحرارة و وقت الرد و استقرار المحسس و حد الكشف (LoD) و حد الكمي (LoQ). قد اجري تحديد أحسن درجة الحرارة في كشف اليوريا باختلافات وهي ٣٥ و ٦٠ و ١٠٠ درجة في أثناء ٢٠ دقيقة. ابتدأ تحديد وقت الرد من ٢٠ إلى ٣٠٠ ثانية بفترة ٢٠ ثانية. و اجري تحديد استقرار المحسس بمحاظفة المحسس المشلل في درجة الحرارة الوطنية و الطبيعية. التحديد مستمر من اليوم الصفر إلى اليوم الرابع. و اجري تحديد بصناع المنحى المعياري من اليوريا المحصول من تغيير البيان اللوني إلى البيان العددي بطريقة RGB باستخدام أدوبي فوتوصوف CS5.

و أظهرت نتيجة البحث أن أحسن درجة الحرارة هو ١٠٠ درجة. و أحسن وقت الرد هو في الثانية المائة وثمانين الذي معرض بنتيجة المتوسط من RGB و كثافة اللون و لونها ثابت. استقرار المحسس في درجة الحرارة الوطنية و قته أقل من ٢٤ ساعات, و أما في درجة الحرارة الطبيعية و قته ٢٤ ساعات تقريبا. و نتيجة LoD و LoQ من هذا البحث هما ٠,١٢٣٢ و ٠,٤١٠٥ ممول لتر.

## ABSTRAK

Fahmi, M. I. 2015. **Performansi Analitik Sensor Urea Terimmobilisasi Reagen Diasetil Monoksim dan Tiosemikarbazida Secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel**. Laporan Penelitian. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Begum Fauziah, S.Si, M.Farm; Pembimbing II: Tri Kustono Adi, M.Sc.

**Kata kunci:** urea, sensor, diasetil monoksim, tiosemikarbazida, adsorpsi, RGB

Urea merupakan suatu zat kimia yang dapat digunakan sebagai indikator masalah tubuh dan lingkungan. Penentuan urea dikembangkan dengan membuat sensor kimia berbasis plat silika gel melalui perubahan warna menjadi merah muda akibat bereaksi dengan reagen diasetil monoksim (DAM) dan tiosemikarbazida (TSC). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu pemanasan terbaik, untuk menentukan waktu respon, stabilitas sensor, serta limit deteksi dan limit kuantitasi.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode adsorpsi fisik dengan cara ditotol. Penentuan suhu terbaik dalam mendeteksi urea 100 mmol/L dilakukan dengan variasi suhu pemanasan 35; 60; dan 100 °C selama 20 menit. Penentuan waktu respon dimulai pada detik ke-20 sampai detik ke-300 dengan interval 20 detik. Penentuan stabilitas dilakukan dengan menyimpan sensor terimmobilisasi pada suhu dingin dan suhu ruang. Pengukuran dilakukan dengan selang waktu penyimpanan satu hari dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-4. Penentuan LoD dan LoQ dilakukan dengan membuat kurva standar sensor urea yang dihasilkan dari perubahan data warna menjadi angka dengan metode RGB memakai *adobe photoshop CS5*.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa suhu terbaik yang menghasilkan respon terbaik yaitu 100°C. Waktu respon yang dihasilkan sensor dalam mendeteksi urea terjadi pada detik ke-180. Sedangkan stabilitas sensor yang dihasilkan pada penyimpanan suhu dingin kurang dari sehari dan pada penyimpanan suhu ruang mencapai satu hari. Nilai LoD dan LoQ dari penelitian adalah 0,1232 mmol/L dan 0,4105 mmol/L.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Allah Swt berfirman pada surat Ali Imron (3) 190–191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya :

*“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.”*

Kataulul *albab* (orang-orang yang berakal) yang dimaksud disini ialah orang-orang yang mendalami pemahamannya, berpikir tajam, serta mau menggunakan pikirannya, mengambil manfaat dari apa yang telah diciptakan oleh Allah Swt dan senantiasa mengingat Allah Swt dalam keadaan apapun, baik dalam keadaan berdiri, duduk maupun berbaring (Shihab, 2002). Selain itu, ayat diatas juga menerangkan bahwasanya ulul *albab* bukanlah manusia yang cepat puas dan berwatak pasrah. Sebagai manusia kita dituntut untuk berfikir dan mencari solusi dalam setiap masalah dan cobaan yang kita hadapi. Sebagai manusia ciptaan Allah SWT yang paling sempurna diantara makhluk-makhluk

lainnya kita harus yakin akan tugas dasar manusia, yaitu sebagai makhluk yang akan memakmurkan dunia bukan merusak dan menyengsarakan orang lain.

Manusia merupakan makhluk ciptaan Allah yang tidak pernah lepas dari cobaan dan ujian. Salah satu cobaan yang diberikan Allah kepada hambanya adalah sakit. Sakit dan musibah yang menimpa seorang mukmin mengandung hikmah yang merupakan rahmat dari Allah. Imam Ibnul Qayyim berkata : “Andaikata kita bisa menggali hikmah Allah yang terkandung dalam ciptaan dan urusan-Nya, maka tidak kurang dari ribuan hikmah. Namun akal kita sangat terbatas, pengetahuan kita terlalu sedikit dan ilmu semua makhluk akan sia-sia jika dibandingkan dengan ilmu Allah, sebagaimana sinar lampu yang sia-sia dibawah sinar matahari“ (Al-Qardhawi, 2001).

Meskipun demikian, Allah tetap memerintahkan hambanya untuk selalu berfikir sehingga mampu menggali hikmah dari suatu kejadian atau musibah dan bahkan mampu digunakan sebagai usaha pencegahan terjadinya musibah diantaranya adalah pencemaran lingkungan dan penyakit gagal ginjal yang disebabkan oleh urea. Proses berfikir untuk mengatasi persoalan tersebut dilakukan dengan pembuatan sensor kimia untuk mendeteksi urea baik dalam tubuh yang dapat digunakan sebagai pendeteksian dini penyakit gagal ginjal maupun dalam lingkungan.

Kelainan fungsi ginjal adalah kelainan yang sering terjadi pada orang dewasa. Kelainan fungsi ginjal berdasarkan durasinya dibagi menjadi 2 yaitu gagal ginjal akut dan gagal ginjal kronik. Gagal ginjal akut adalah kemunduran yang cepat dari kemampuan ginjal dalam membersihkan darah dari bahan-bahan racun, yang menyebabkan penimbunan limbah metabolik didalam darah

(misalnya urea). Gagal ginjal akut merupakan suatu keadaan klinis yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal secara mendadak dengan akibat terjadinya peningkatan hasil metabolit seperti ureum dan kreatinin. Kasus gagal ginjal kronik (GGK) saat ini meningkat dengan cepat terutama di negara-negara berkembang. Gagal ginjal kronik (GGK) telah menjadi masalah utama kesehatan di seluruh dunia, karena selain merupakan faktor resiko terjadinya penyakit jantung dan pembuluh darah akan meningkatkan angka kesakitan dan kematian (Setyaningsih dkk, 2013).

Urea adalah biomolekul yang penting bagi manusia. 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. Ketika berada pada level tidak normal mungkin akan menjadi beracun bagi kita. Oleh karena itu perlu adanya pengawasan teratur yang digunakan untuk tujuan klinis (Fatima dan Mishra, 2011). Urea dalam darah atau disebut juga *blood urea nitrogen* (BUN) memiliki kadar normal 5 – 25 mg/dl dalam darah. Penetapan kadar urea dalam serum mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi. Metode penetapan adalah dengan mengukur nitrogen. Hasil penetapan di Amerika Serikat disebut sebagai nitrogen urea dalam darah (Shanmugam dkk, 2010).

Urea adalah polutan yang umum ditemukan dalam limbah industri, sehingga penentuannya di lingkungan yang ekstrim sangatlah penting. Selain itu, kehadiran urea di lahan pertanian juga sebagai polutan karena pupuk yang digunakan secara berlebihan juga banyak dikenal. Urea dapat mengancam

lingkungan karena terurai menjadi ammonia yang sangat beracun sehingga dapat mencemari sungai ketika terbawa arus ke sungai (Chagas, 2007).

Urea dapat mencemari air tanah ketika penambahan pupuk urea pada tanaman secara berlebih. Urea akan diubah menjadi nitrat dalam tanah melalui proses nitrifikasi yang dapat menyuburkan tanah sebagai sumber nutrisi tanaman. Akan tetapi tanaman mempunyai kemampuan menyerap unsur nitrogen yang terbatas sehingga sisa nitrogen yang tidak diserap oleh tanaman tersebut akan terakumulasi dan menjadi sumber pencemaran nitrat pada zona air tanah (Triyono, dkk, 2013).

Pengembangan detektor urea banyak dilakukan untuk memenuhi kebutuhan analisa kadar urea yang mudah dan murah dalam banyak bidang seperti bidang kesehatan, industri dan pertanian, salah satunya dilakukan melalui biosensor optik. Sensor urea diperlukan dalam monitoring diabetes dan memprediksikan indikasi adanya gangguan pada liver. Sensor urea juga penting diaplikasikan dalam bidang *agriculture* dan *hydroponic* dimana pengukuran urea dapat dilakukan pada sampel tanah dan air permukaan (Fauziyah, 2012).

Sensor kimia adalah sebuah perangkat yang merubah sebuah informasi kimia seperti konsentrasi menjadi sinyal-sinyal yang dapat dengan mudah dibaca. Informasi kimia ini bisa berupa reaksi kimia atau properti fisik dari bahan yang diselidiki. Sensor kimia ini akan mendeteksi keberadaan suatu senyawa yang diinginkan karena adanya reagen selektif yang bereaksi dengan senyawa tersebut sehingga menimbulkan perubahan warna dengan bentuk stik atau lembaran film. Banyak metode yang dikembangkan dalam pembuatan sensor kimia seperti memakai electrode, optode (optik), dan metode sol gel (Hulanicki., dkk, 1991).

Penelitian dan metode untuk menentukan urea telah banyak dilakukan baik secara potensiometri maupun secara kolorimetri. Salah satu contoh metode potensiometri adalah proses pembuatan biosensor terhadap urea berbasis enzim urease yang telah banyak dikembangkan dan dilakukan dengan teknik immobilisasi dan prinsip elektroda potensiometri (Fatima dan Mishra, 2011). Pemakaian enzim banyak digunakan dalam pembuatan biosensor karena aktivitasnya yang spesifik dan sensitivitasnya baik terhadap analit. Namun, penggunaan enzim juga memiliki kelemahan yaitu tidak stabil dan pemurniannya terhitung mahal (Akyilmaz & Dinckaya, 2005).

Metode kolorimetri untuk mendeteksi urea dalam cairan biologis dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode langsung dan tidak langsung. Beberapa metode tidak langsung tergantung pada hidrolisis urea oleh enzim urease untuk membentuk ammonia dengan ditentukan jumlahnya oleh nesslerisasi. Hal yang paling tidak diinginkan dari metode tidak langsung adalah penggunaan reagen yang relatif tidak stabil dan kehilangan ammonia selama proses berlangsung (Rho, 1972). Sehingga pada penelitian yang dilakukan untuk mendeteksi urea dapat dilakukan dengan metode langsung.

Penentuan urea secara langsung memakai metode kolorimetri menggunakan reagen diasetil monoksim (DAM) yang ditemukan oleh Fearon merupakan dasar dari berbagai metode penentuan kadar urea dalam cairan-cairan biologis (Wybenga dkk, 1971). Penentuan urea secara langsung tergantung pada kondensasi urea dengan beberapa reagen spesifik seperti  $\alpha$ -isonitrosopropiophenone dan turunan diasetil pada media asam. Reaksi langsung antara urea dan diasetil atau turunan diasetil yaitu diasetil monoksimakan

menghasilkan warna. Warna maksimum pada panjang gelombang 415 nm dan eksitasi optimal pada panjang gelombang 360 nm telah digunakan untuk menentukan urea secara kuantitatif. Akan tetapi reaksi antara urea dengan diasetil monoksim (DAM) tidak begitu mudah difahami (Rho, 1972). Salah satu kesulitan dalam menggunakan metode DAM adalah pada sensitivitas blanko dan stabilitas warna yang terbentuk sehingga memungkinkan untuk memakai reagen tambahan seperti tiosemikarbazida dan logam besi (III) (Beale and Croft, 1961).

Prinsip dari metode kolorimetri secara langsung adalah reaksi urea dengan diasetil monoksim dan tiosemikarbazida dengan adanya ion besi(III) dalam medium asam pada kondisi panas menghasilkan senyawa berwarna merah muda. Ion besi(III) disumbangkan oleh adanya  $\text{FeCl}_3$  dan media asam disumbangkan oleh asam sulfat dan asam ortofosforat dalam reagen. Reagen asam digunakan untuk mengkonsdensasi urea dengan diasetil monoksim untuk membentuk kompleks kuning dan lebih lanjut, warna tersebut perlahan menjadi merah muda karena reaksinya dengan tiosemikarbazida. Produk berwarna merah muda yang terbentuk kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Shanmugam dkk, 2010). Beale dan Croft (1961), telah melakukan penelitian dengan menggunakan variasi logam untuk menstabilkan pembentukan warna pada reaksi yaitu  $\text{Sb}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , dan  $\text{Mn}^{2+}$  sehingga yang dipilih adalah logam  $\text{Mn}^{2+}$ . Akan tetapi menurut Wybenga dkk (1971), ion mangan ( $\text{Mn}^{2+}$ ) akan menurunkan stabilitas sebesar 10% setelah 1 jam (160 mg dari  $\text{MnCl}_2$  per 100 mL). Sedangkan ion besi ( $\text{Fe}^{3+}$ ) akan menurunkan stabilitas warna sebesar 20% setelah 1 jam (33 mg dari  $\text{FeCl}_3$  per 100 mL).

Reagen asam digunakan untuk mengkondensasi urea dengan diasetil monoksim untuk membentuk kompleks berwarna kuning dan selanjutnya warna tersebut berubah menjadi merah muda karena adanya reaksi dengan tiosemikarbazida (Shanmugam, 2010). Rahmatullah dan Boyde (1980), menjelaskan bahwa dalam penelitiannya menggunakan berbagai macam variasi reagen asam yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim, yaitu menggunakan ion besi(III) dengan media asam  $H_2SO_4$  dan  $H_3PO_4$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – tiosemikarbazida. Asam  $CH_3COOH$ ,  $H_2SO_4$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – *Antipyrine*. Selain itu juga menggunakan campuran asam  $H_2SO_4$ ,  $HCl$ ,  $CH_3COOH$ ,  $MnCl_2$ ,  $NaH_2PO_4$ , dan  $NaNO_3$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – *Phenylanthranillic acid*. Dari ketiga penggunaan variasi asam dan reagen yang memberikan sensitifitas dan stabilitas warna yang tinggi diperoleh dari asam yang menggunakan ion besi(III) dengan media asam  $H_2SO_4$  dan  $H_3PO_4$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – tiosemikarbazida.

Berdasarkan uraian permasalahan diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan sensor kimia untuk mendeteksi urea yang dapat digunakan dengan mudah, aman, sensitif, dan spesifik. Pembuatan sensor urea dilakukan dengan immobilisasi reagen DAM-TSC serta reagen asam fosfat dan asam sulfat ditambah dengan  $FeCl_3$  pada plat silika gel memakai metode adsorpsi fisika yang diharapkan dapat mengembangkan metode penentuan urea secara kolorimetri dengan reagen tersebut. Adanya urea dapat ditentukan dari perubahan warna menjadi merah muda yang timbul ketika plat silika yang telah terimmobilisasi

reagen ditetesi sampel urea. Selain itu dilakukan penentuan suhu pemanasan terbaik sensor dalam mendeteksi urea serta uji performansi analitik sensor yang meliputi waktu respon, stabilitas sensor, dan konsentrasi terendah analit yang mampu dideteksi oleh sensor. Sehingga dapat dihasilkan sensor yang lebih mudah, efisien, dan spesifik sehingga bermanfaat bagi masyarakat luas.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapa suhu pemanasan terbaik dan waktu respon yang dibutuhkan sensor dalam mendeteksi urea?
2. Bagaimana stabilitas sensor dalam mendeteksi urea?
3. Berapa konsentrasi urea terendah yang dapat dideteksi oleh sensor?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan suhu pemanasan terbaik dan waktu respon yang dibutuhkan sensor dalam mendeteksi urea.
2. Menentukan stabilitas sensor dalam mendeteksi urea.
3. Menentukan konsentrasi urea terendah yang dapat dideteksi oleh sensor.

### **1.4 Batasan Masalah**

1. Sampel urea yang dianalisis adalah sampel simulasi yaitu sampel urea yang dilarutkan pada pelarut air.
2. Penentuan suhu pemanasan terbaik dilakukan sampai suhu 100 °C.
3. Penentuan waktu respon dilakukan sampai detik ke- 300.

## 1.5 Manfaat Penelitian

### 1. Secara umum

Memberikan informasi dan pengetahuan umum tentang cara pendeteksian urea baik dalam tubuh maupun dalam lingkungan melalui alat yang efektif, efisien dan murah.

### 2. Secara khusus

Meningkatkan kemampuan mahasiswa mengaplikasikan ilmu kimia secara praktis dari teori yang dipelajari.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Urea**

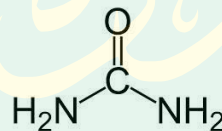
Urea adalah biomolekul yang penting bagi manusia. Urea yang terbentuk merupakan hasil dari siklus srea dalam tubuh yang berasal dari ammonia atau dari asam amino. Kemudian diekskresikan melalui urin atau cairan tubuh pada manusia. Cairan tubuh kita terdiri dari sebagian urea. Ketika berada pada level tidak normal mungkin akan menjadi beracun bagi kita. Oleh karena itu perlu adanya pengawasan teratur yang digunakan untuk tujuan klinis (Fatima dan Mishra, 20011).

Setiap asam amino setidaknya terdiri dari satu gugus amino, oleh karena itu setiap jalur degradasi asam amino mempunyai langkah utama dimana gugus amino dipindah. Pada katabolisme asam amino singkat menghasilkan ammonia dan jaringan otak sangat sensitive terhadap ammonia. Kebanyakan asam amino dikatabolis atau di pecah di liver atau hati. Beberapa produk ammonia pada proses katabolisme asam amino digunakan untuk sintesis nitrogen bimolekul seperti nukleotida. Kelebihan ammonia dirubah menjadi urea untuk proses ekskresi (Miles, 2003).

Urea atau karbamida merupakan suatu senyawa organik dengan rumus kimia  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . Molekul urea memiliki dua gugus amina ( $-\text{NH}_2$ ) yang digabungkan oleh gugus fungsi karbonil. Urea pertama kali ditemukan dalam urin pada tahun 1773 oleh kimiawan perancis Hilaire Roulle. Pada tahun 1828, seorang kimiawan Jerman Friedrich Wohler memperoleh urea dengan

mereaksikan perak tiosianat dengan ammonium klorida dalam sebuah percobaan yang gagal untuk memperoleh ammonium tiosianat. Urea memiliki peran penting dalam metabolisme senyawa yang mengandung nitrogen pada hewan mamalia. Urea berbentuk padat, tidak berwarna, bersifat netral, sangat larut dalam air dan relatif tidak beracun. Urea disintesis didalam tubuh berbagai organisme sebagai bagian dari siklus urea, yang dapat berasal dari oksidasi asam-asam amino ataupun ammonia (Shanmugam dkk, 2010).

Urea merupakan molekul kecil yang mudah mendifusi kedalam cairan ekstrasel, tetapi akhirnya dipekatkan dalam urin dan diekskresikan. Jika keseimbangan nitrogen dalam keadaan normal, ekskresi urea kira-kira 25 mg per hari (Widman K, 1995). Urea adalah produk akhir metabolisme nitrogen yang penting pada manusia, yang disintesis dari ammonia, karbon dioksida dan nitrogen amida aspartat (Murray dkk, 1999). Rumus struktur dari urea adalah sebagai berikut:



Gambar 2.1 Struktur Molekul Urea

Protein dalam makanan diperlukan untuk menyediakan asam amino yang akan digunakan untuk memproduksi senyawa nitrogen yang lain, untuk mengganti protein dalam jaringan yang mengalami penguraian dan untuk mengganti nitrogen yang telah dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk urea (Poedjiadi, 1994). Senyawa bernitrogen misalnya adalah NH<sub>3</sub>, karena sifatnya yang toksik kemudian diubah menjadi urea atau asam urat. Sebagian besar hewan yang hidup di air (akuatik)

mengekskresikannya dalam bentuk amoniak. Oleh karena zat itu langsung terkena air maka senyawa tersebut akan terencerkan sehingga tidak membahayakan dirinya. Jasad hidup yang demikian itu tergolong dalam hewan amonotelat. Hewan yang mengekskresikan urea dinamakan ureotelat dan yang membuang sekretnya berupa asam urat adalah urikotelat (burung, reptilia) (Martoharsono, 2006).

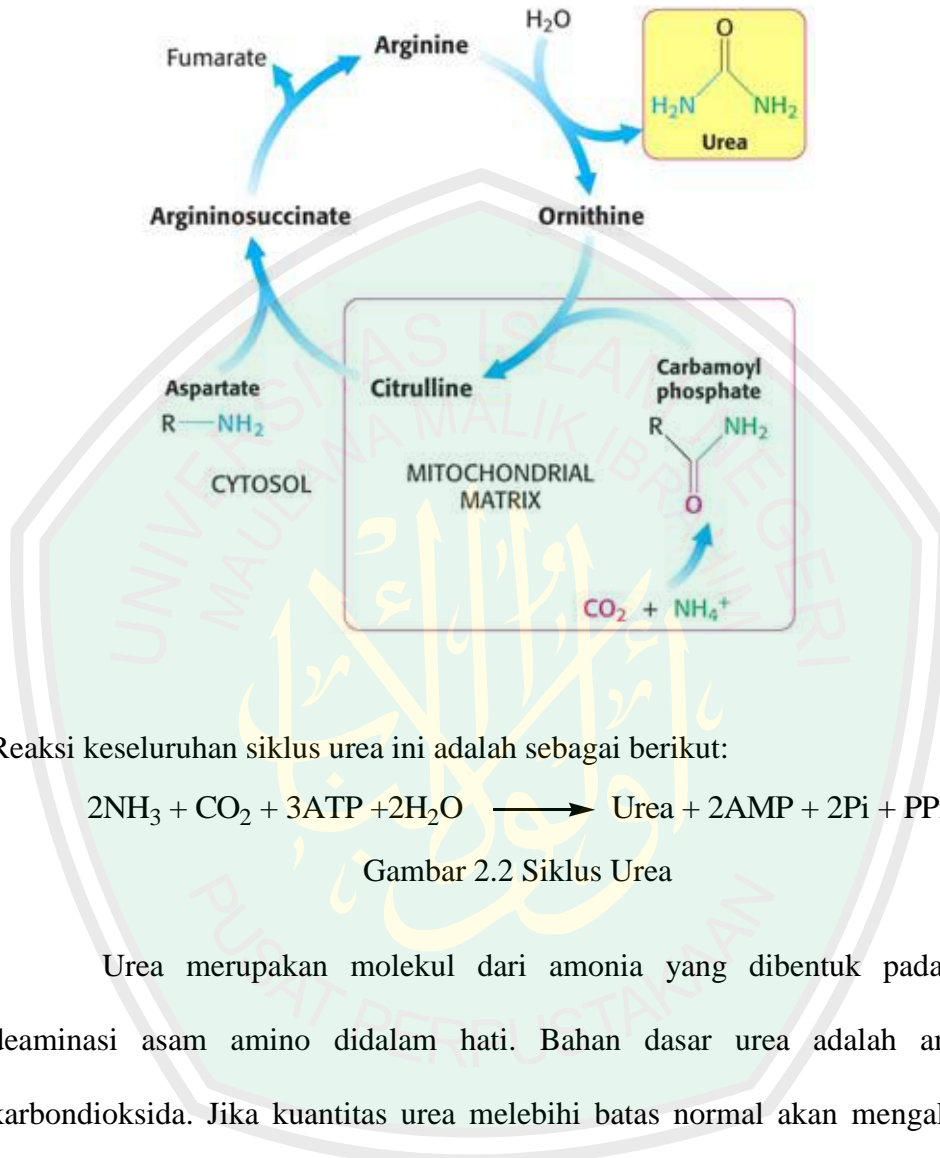
Anna Poedjiadi (1994) menjelaskan bahwa  $\text{NH}_3$  dapat dilepaskan dari asam amino melalui reaksi transaminasi dan deaminasi. Pada reaksi transaminasi gugus  $-\text{NH}_2$  yang dilepaskan diterima oleh suatu asam keto, sehingga terbentuk asam amino baru dan asam keto lain, sedangkan pada reaksi deaminasi, gugus  $-\text{NH}_2$  dilepaskan dalam bentuk ammonia yang kemudian dikeluarkan dalam tubuh dalam bentuk urea dalam urine. Amonia dengan kadar yang tinggi merupakan racun bagi tubuh manusia.

Hans Krebs dan Kurt Henseleit pada tahun 1932 mengemukakan serangkaian reaksi kimia tentang pembentukan urea. Mereka berpendapat bahwa urea terbentuk dari amonia dan karbondioksida melalui serangkaian reaksi kimia yang berupa siklus, yang mereka namakan siklus urea (Poedjiadi, 1994).

Pembentukan urea ini terutama berlangsung dalam air, bersifat netral, terdapat dalam urine yang dikeluarkan dari dalam tubuh. Biosintesis urea terdiri atas beberapa tahap reaksi yang merupakan suatu siklus sebagai berikut (Poedjiadi, 1994):

1. Sintesis karbamil fosfat
2. Pembentukan sitrulin
3. Pembentukan asam arginosuksinat

4. Penguraian asam argininosuksinat
5. Penguraian arginin



Reaksi keseluruhan siklus urea ini adalah sebagai berikut:



Gambar 2.2 Siklus Urea

Urea merupakan molekul dari amonia yang dibentuk pada proses deaminasi asam amino didalam hati. Bahan dasar urea adalah ammonia, karbondioksida. 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).

Urea nitrogen terkandung sekitar 75% dari total fraksi nitrogen non protein dalam darah. Filtrasi urea dari darah menuju urin yang dilakukan oleh

glomerulus ginjal yang merupakan bagian utama dari eliminasi atau pengeluaran kelebihan nitrogen dari tubuh. Kadar BUN merupakan ukuran dari fungsi ginjal. prerenal menimbulkan kenaikan BUN meliputi kerusakan kardiak, kekurangan air, atau peningkatan metabolisme protein. Diantara penyakit ginjal yang menyebabkan BUN meningkat adalah glomerulonefritis akut, nefritis kronis, nefrosclerosis, nekrosis tubular. Berbagai tipe kerusakan dari saluran kemih merupakan postrenal yang menyebabkan kadar BUN meningkat. Kreatinin dan BUN dibersihkan melalui glomeruli ginjal, maka dari itu, urea sebagian direabsorpsi oleh tubulus sementara kreatinin tidak. Maka dari itu, penentuan urea nitrogen dan kreatinin biasanya dilakukan bersamaan untuk diagnosis gangguan fungsi ginjal yang berbeda (Tietz, 1987).

## **2.2 Identifikasi Urea**

Kelainan fungsi ginjal yang merupakan kelainan yang sering terjadi pada orang dewasa. Kelainan fungsi ginjal berdasarkan durasinya dibagi menjadi 2 yaitu gagal ginjal akut dan gagal ginjal kronik. Gagal ginjal akut adalah kemunduran yang cepat dari kemampuan ginjal dalam membersihkan darah dari bahan-bahan racun, yang menyebabkan penimbunan limbah metabolik didalam darah (misalnya urea). Gagal ginjal akut merupakan suatu keadaan klinis yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal secara mendadak dengan akibat terjadinya peningkatan hasil metabolit seperti ureum dan kreatinin. Kasus gagal ginjal kronik (GGK) saat ini meningkat dengan cepat terutama di negara - negara berkembang. GGK telah menjadi masalah utama kesehatan di seluruh dunia, karena selain merupakan faktor resiko terjadinya penyakit jantung dan pembuluh

darah akan meningkatkan angka kesakitan dan kematian (Setiyaningsih dkk, 2013).

Dugaan terhadap adanya kelainan ginjal dan saluran urin dilakukan melalui beberapa pendekatan seperti pada kelainan organ lain yaitu dengan anamnesis riwayat sakit, pemeriksaan fisik dan dibantu oleh pemeriksaan laboratorium dan radiologi serta lainnya. Pada keadaan subklinis atau kelainan ginjal tanpa gejala, maka pemeriksaan laboratorium klinik berperan amat penting. Pada pemeriksaan penapis biasanya pemeriksaan laboratorium dimulai dengan pemeriksaan yang bersifat tidak invasif seperti urinalisis, kemudian dilengkapi dengan pemeriksaan kimia darah kadar kreatinin dan urea. Selain penilaian atau penafsiran secara langsung dari kadar masing-masing urea dan kreatinin, ada pula penilaian dengan menggunakan rasio kadar urea/kreatinin. Pemeriksaan dapat dilanjutkan dengan pemeriksaan bersihan kreatinin dan bersihan urea, yang merupakan gabungan hasil pemeriksaan kadar kreatinin dan urea dengan urin kumpulan. Namun sering pula dokter klinik memperkirakan nilai LFG berdasarkan kadar kreatinin darah (Lamb dkk, 2006; Thomas, 1999).

Pemeriksaan kadar urea darah merupakan pemeriksaan yang populer sebab mudah dikerjakan dengan teliti dan tepat. Namun kadar BUN dipengaruhi oleh banyak faktor diluar ginjal sehingga mempengaruhi penafsiran hasilnya. Kadar urea darah akan meningkat pada peningkatan asupan protein, kurangnya aliran darah ginjal misalnya pada dehidrasi atau gagal jantung, pada perdarahan saluran cerna bagian atas, pada peningkatan keadaan hiperkatabolisme seperti infeksi, pasca operasi dan trauma. Obat-obatan juga dapat mempengaruhi misalnya kortikosteroid meningkatkan katabolisme protein sedangkan androgen

meningkatkan anabolisme protein. Sebaliknya kadar urea darah menurun pada kurangnya asupan protein (Lamb dkk, 2006; Thomas, 1999).

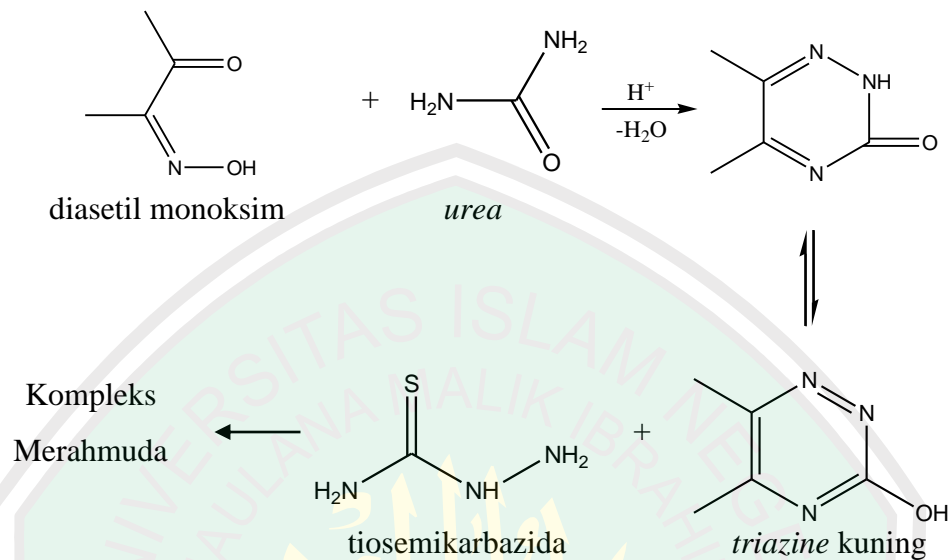
### **2.2.1 Metode Kolorimetri**

#### **1. Analisis Urea dengan Diasetil Monoksim**

Metode ini telah menjadi dasar dari berbagai metode penentuan kadar urea dalam cairan-cairan biologis. Penentuan urea dilakukan secara langsung tanpa deproteinisasi (Wybenga dkk, 1971). Reaksi langsung antara urea dan diasetil atau turunan diasetil yaitu diasetil monoksim akan menghasilkan warna yang dapat digunakan untuk menentukan urea secara kuantitatif. Akan tetapi reaksi antara urea dengan diasetil monoksim (DAM) tidak begitu mudah difahami (Rho, 1972). Salah satu kesulitan dalam menggunakan metode DAM adalah pada sensitivitas blanko dan stabilitas warna yang terbentuk sehingga memungkinkan untuk memakai reagen tambahan (Beale and Croft, 1961).

Reaksi antara urea dengan diasetil monoksim dan tiosemikarbazida dengan adanya ion Fe(III) dalam medium asam pada kondisi panas akan menghasilkan senyawa berwarna merah muda. Ion Fe(III) diberikan oleh FeCl<sub>3</sub> dan medium asam disumbangkan oleh adanya asam sulfat dan asam ortofosforat dalam reagen asam. Reagen asam digunakan untuk mengkondensasi urea dengan diasetil monoksim untuk membentuk kompleks berwarna kuning dan selanjutnya warna tersebut berubah menjadi merah muda karena adanya reaksi dengan tiosemikarbazida. Pembentukan produk berwarna merah muda kemudian diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm (Shanmugam dkk, 2010).

Hasil kondensasi antara urea dan diasetil monoksim membentuk 3-hydroxy-5,6-dimethyl-1,2,4,-triazine :



Gambar 2.3 Reaksi urea dengan reagen DAM-TSC

Reaksi terjadi dalam medium asam yang sangat kuat, sehingga pembentukan *hidroxylamine* dapat saja terjadi sebagai reaksi samping yang dapat menurunkan sensitivitas analisis. Berbagai oksidator telah diuji dalam reaksi untuk efektivitasnya dalam menghilangkan *hydroxylamine*, sehingga warna yang timbul tidak terganggu. Tiosemikarbazida dalam kombinasinya dengan  $FeCl_3$  yang digunakan Marsh, dkk dalam prosedur telah terbukti menghasilkan reaksi antara urea dengan diasetil monoksim yang lebih sensitif dengan kebutuhan asam kuat yang lebih sedikit. Penentuan variasi konsentrasi diasetil monoksim, tiosemikarbazida dan reagen asam serta penggunaan kadmium sulfat dalam campuran reaksi, urea nitrogen dalam serum dapat dideteksi hingga konsentrasi serendah 5 mg/100 ml (Wybenga dkk, 1971). Coulombe dan Favreu menyatakan bahwa asam sulfat memberikan hasil warna yang lebih tinggi daripada asam fosfat

akan tetapi dengan pencampuran dua jenis asam tersebut, warna yang dihasilkan lebih baik daripada penggunaan satu asam saja, dengan jumlah optimum 100 ml sampai 300 ml per liter dari asam fosfat dan asam sulfat pekat (Rho, 1971).

Penggunaan asam sulfat dan asam fosfat didasarkan pada penelitian Rahmatullah dan Boyde (1980), yang memvariasi reagen asam dan reagen lain. Pertama, reagen diasetil monoksim dikombinasikan dengan ion besi(III) dengan media asam  $H_2SO_4$  dan  $H_3PO_4$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – tiosemikarbazida. Kemudian asam  $CH_3COOH$ ,  $H_2SO_4$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – *Antipyrine*. Selain itu juga menggunakan campuran asam  $H_2SO_4$ ,  $HCl$ ,  $CH_3COOH$ ,  $MnCl_2$ ,  $NaH_2PO_4$ , dan  $NaNO_3$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – *Phenylanthranilic acid*. Hasil yang didapatkan sesuai dengan tabel 2.1 berikut ini:

Tabel 2.1 Perbandingan asam dan reagen untuk analisis urea

No	Reagen		Waktu Pemanasan (menit)	Stabilitas warna (jam)	Volume Akhir (mL)	Absorbansi untuk 100 mmol urea
	Asam	Reagen lain				
1.	$H_3PO_4$	DAM TSC	20	2	5,2	0,090
2.	$H_2SO_4$ $CH_3COOH$ $Fe_2(SO_4)_3$	DAM Antipyrine	40	<0,5	10	0,370
3.	$H_2SO_4$ $CH_3COOH$ $Fe_2(SO_4)_3$	DAM Antipyrine	15	<0,5	5,1	0,743
4.	$H_2SO_4$ $HCl$ $CH_3COOH$ $MnCl_2$ $NaH_2PO_4$ $NaNO_3$	DAM Phenyl- anthranilic acid	11 – 12	0,5	6,2	≈0,360
5.	$H_2SO_4$ $H_3PO_4$ $FeCl_3$	DAM TSC	5	2	3,1	0,940

Sumber :Rahmatullah dan Boyde, 1980

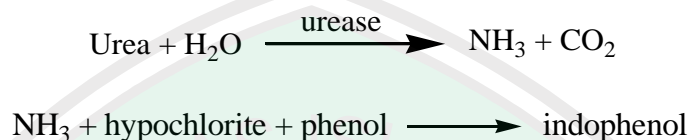
Tabel 2.1 menjelaskan bahwa dari ketiga penggunaan variasi asam dan reagen yang memberikan sensitifitas dan stabilitas warna yang tinggi diperoleh dari asam yang menggunakan ion besi(III) dengan media asam  $H_2SO_4$  dan  $H_3PO_4$  yang dikombinasikan dengan reagen diasetil monoksim – tiosemikarbazida (Rahmatullah dan Boyde, 1980). Perbandingan asam  $H_3PO_4$  dan  $H_2SO_4$  yang digunakan adalah 1:6 yaitu 1 mL asam fosfat ditambahkan dengan 6 mL asam sulfat sebelum ditambahkan reagen lain (Shanmugam, 2010).

Adanya ion Fe(III) akan menstabilkan warna yang terbentuk antara reaksi urea dengan reagen DAM-TSC. Ion Fe(III) lebih efektif digunakan sebagai reagen karena hanya mampu menurunkan kestabilan warna sebesar 20% setelah 1 jam dengan kebutuhan yang sedikit yaitu 33 mg dari  $FeCl_3$  per 100 mL dibandingkan dengan logam lain seperti  $Sb^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ , atau ion mangan ( $Mn^{2+}$ ) yang mampu menurunkan stabilitas warna sebesar 10% setelah 1 jam yaitu 160 mg dari  $MnCl_2$  per 100 mL (Wybenga dkk, 1971).

## **2. Analisis Urea dengan Enzim Urease**

Penggunaan urease dalam penentuan BUN dikenalkan oleh Marshall yang mengukur ammonia yang dibebaskan dari hasil reaksi hidrolisis urea oleh urease dengan titrasi menggunakan asam. Ammonia juga dapat diukur dengan metode Nessler maupun metode Berthelot. Metode Berthelot merupakan pengembangan dari reaksi Berthelot yaitu reaksi ammonia dengan ion hypochlorite, fenol dan katalis serta basa untuk membentuk kompleks biru stabil (*indophenol*) yang telah dikenal sejak 100 tahun lebih akan tetapi hanya digunakan dalam metode serum urea. Metode ini didasarkan pada modifikasi reaksi Berthelot dimana urease menghidrolisis urea menjadi ammonia dan asam

karbamat. Asam karbamat kemudian terdekomposisi secara spontan menjadi ammonia dan karbon dioksida. Ammonia bereaksi dengan ion salisilat, nitroferriyanide dan sebuah larutan basa hipoklorit untuk membentuk kromofor biru-hijau yang diukur dan mewakili jumlah urea dalam sampel (Pointe Scientific Inc, 2013).



### 2.2.2 Metode Potensiometri

Metode potensiometri terhadap urea dilakukan dengan memanfaatkan enzim urease sebagai biosensor. Proses pembuatan biosensor terhadap urea berbasis enzim telah banyak dikembangkan dan dilakukan dengan teknik immobilisasi. Biosensor mengandung enzim yang dimobilisasi pada permukaan elektroda yang dapat spesifik terhadap substrat. Elektroda pH berfungsi untuk memantau perubahan pH dari reaksi urea yang dikatalisis oleh urease, dimana hasil reaksinya adalah  $\text{NH}_4^+$  dan  $\text{OH}^-$ . Perubahan konsentrasi  $\text{OH}^-$  dalam larutan akan merubah pH analit dan dikonversikan dengan potensial. Besarnya potensial yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi urea dalam analit (Nazaruddin, 2007). Suhu serta lingkungan kimia di sekitar biosensor yang dibuat dapat memberikan efek terhadap kestabilan enzim. Urea dapat diukur konsentrasinya sampai pada konsentrasi  $10^{-8}$  M dengan waktu respon 3,10 – 6,02 menit. Mulya suryani dkk (2010) telah membuat biosensor urea dengan membrane khitosan dengan transduser electrode pH, menghasilkan biosensor urea dengan limit deteksi 0,073 ppm dan waktu respon 280 detik serta keakuratan 94% sampai 99%.

Biosensor urea pertama kali dikembangkan oleh Guilbault dkk yang diikuti dengan banyak analisis biokimia maupun klinis. Pembuatan biosensor urea dilakukan dengan immobilisasi urease diatas substrat. Urease yang terimmobilisasi kemudian mengkatalisis reaksi urea menjadi ammonium dan ion bikarbonat berdasarkan reaksi enzim-substrat yang terjadi (Eggenstein dkk, 1999).



Prinsip dari metode potensiometri adalah beda potensial. Potensiometri merupakan suatu analisis yang didasarkan pada pengukuran beda potensial sel dari suatu sel elektrokimia. Penentuan kadar urea dalam serum darah, metode potensiometri dapat dilakukan dengan piranti biosensor urea. Prinsip kerja biosensor urea adalah berdasarkan immobilisasi komponen biologi (enzim, bakteri, dan lain-lain) pada matriks membran polimer yang diintegrasikan dengan sinyal transduser pada analit (Hall dan Guyton, 2006).

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

### 2.3 Sensor Kimia

Penentuan urea dalam tubuh sering dilakukan di laboratorium klinis ataupun di rumah sakit. Akan tetapi hal tersebut membutuhkan biaya yang tidak sedikit. Oleh karena itu perlu adanya pengembangan dalam penentuan urea dalam tubuh sehingga bermanfaat bagi masyarakat luas. Penelitian fatmawati dkk, (2013) membuktikan bahwa pembuatan sensor untuk mendeteksi urea mempunyai

potensi untuk dapat dilakukan, akan tetapi dalam praktiknya masih memakai metode biosensor yaitu memakai enzim ureasi yang diimmobilisasikan pada kitosan. Untuk meningkatkan perkembangan penentuan urea perlu dilakukan modifikasi metode dalam pembuatan sensor.

Sensor kimia adalah sebuah perangkat yang merubah sebuah informasi kimia seperti konsentrasi menjadi sinyal-sinyal yang dapat dengan mudah dibaca. Informasi kimia ini bisa berupa reaksi kimia atau properti fisik dari bahan yang diselidiki (Hulanicki., dkk, 1991). Jadi, sensor kimia dapat didefinisikan sebagai sebuah alat yang dapat merubah informasi kimiawi dalam sebuah senyawa menjadi sinyal analitik yang berguna. Untuk mengubah informasi kimiawi dari proses kimia maupun biokimia yang terjadi, bagian bahan kimia yang dipakai harus dihubungkan dengan sebuah transduser (Wiley dan Sons, 2012).

Sensor kimia memiliki 2 komponen dasar, yakni bagian reseptor dan bagian transduser. Pada bagian reseptor berfungsi sebagai penerima sinyal kimia berupa kondisi lingkungan dan dirubah menjadi energi yang dapat diukur oleh bagian transduser. Sementara bagian transduser adalah bagian yang bertugas merubah energi menjadi informasi yang dapat dibaca dengan mudah oleh analis (Hulanicki dkk, 1991).

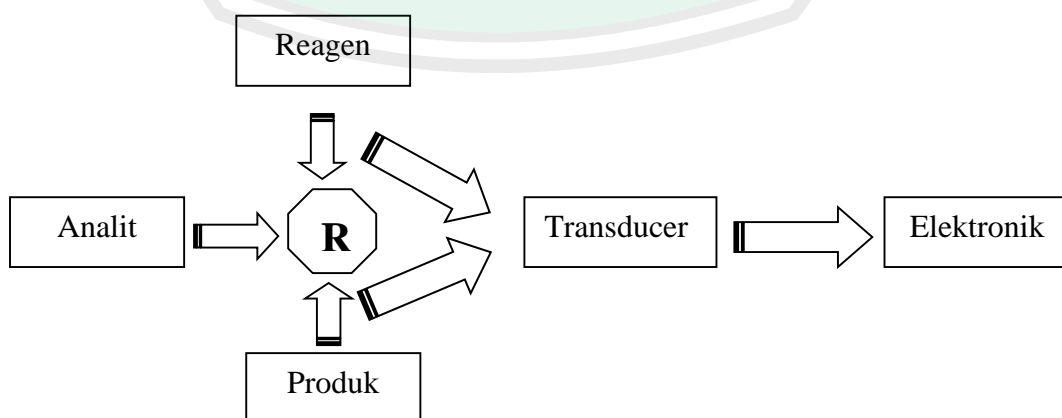
Reseptor pada sensor kimia dapat dibedakan dalam beberapa prinsip kerja (Hulanicki dkk, 1991):

- a. Fisika, pada sensor ini tidak terjadi suatu reaksi kimia, contohnya seperti sensor pada permasalahan untuk mengukur adsorpsi, indeks bias, konduktivitas, suhu dan perubahan massa.

- b. Kimia, pada sensor ini reaksi kimia sangat berperan penting pada tersajinya data hasil analisa.
- c. Biokimia, reaksi biokimia adalah hal yang sangat berperan pada tersajinya data untuk analis, contohnya seperti potensiometri mikroba dan immunosensors. Sensor seperti ini disebut biosensor.

Sensor kimia bentuk stik adalah sebuah sensor yang lebih sederhana, digunakan untuk mengukur kadar suatu bahan dalam sampel dengan mencelupkan stik yang telah diadsorb oleh reagen spesifik sampel. Penentuan konsentrasi analit didasarkan pada intensitas warna yang berubah (Budianto, 2002). Sensor kimia bentuk stik dapat digunakan sebagai analisis kualitatif dan semi kuantitatif, untuk analisis kualitatif dilihat dari perubahan warna sensor, sementara untuk analisis semi kuantitatif dilihat dengan membandingkan intensitas warna sensor dengan standart sensor (Prahasto, 2009).

Sensor kimia biasanya banyak diaplikasikan untuk mendeteksi entitas kimiawi dengan menggunakan reaksi kimia dari reagen kimia yang sesuai. Entitas kimiawi yang dideteksi tersebut biasanya disebut analit. Secara garis besar sensor kimia secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut (Kuswandi, 2010):



Gambar 2.4 Skema Sensor Kimia

Gambar diatas mendefinisikan bahwa sensor kimia adalah suatu alat analisa (*Analytical Device*) yang berisi reagen kimia (*Chemical Material/Reagent*) yang dapat bereaksi dengan analit tertentu dalam larutan atau gas sehingga menghasilkan perubahan fisika-kimiawi yang dapat dirubah (*Physicochemical Transducer*) menjadi sinyal elektrik proporsional dengan konsentrasi dari analit tersebut (Kuswandi, 2010).

#### 2.4 Immobilisasi

Immobilisasi reagen merupakan pengikatan reagen kimia pada material padat untuk membuat sensor kimia sehingga ketika sensor yang terbentuk dapat terhubung dengan transducer dengan baik. Secara garis besar teknik immobilisasi dibagi menjadi dua yaitu immobilisasi fisika dan immobilisasi kimia. Immobilisasi fisika meliputi proses penyerapan (adsorpsi), pemerangkapan (entrapmen), pengkapsulan (encapsulasi), dan interaksi elektrostatik. Sedangkan immobilisasi kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *cross linking* (Kuswandi, 2010).

Teknik immobilisasi adalah suatu cara bagaimana mengikat reagen pada suatu matriks dengan syarat aktifitas dari reagen tersebut masih tetap ada. Teknik immobilisasi dapat dilakukan dengan 4 cara yaitu (Firmansyah, 2012):

1. Cara fisik yang meliputi teknik secara penjebakan (entrapment) yang merupakan suatu cara immobilisasi dimana reagen yang akan digunakan diperangkap dalam suatu matriks, encapsulation dan adsorpsi pada penyangga padat.

2. Cara kimia yaitu meliputi teknik pengikatan baik secara kovalen, non kovalen dan teknik ikatan silang (crosslinking). Teknik kovalen membutuhkan waktu yang sangat lama dan seringkali memerlukan beberapa tahap kimia.
3. Kombinasi cara fisik dan kimia.

Immobilisasi suatu zat dapat dilakukan dengan mencampurkan senyawa dengan suatu adsorben. Senyawa dapat teradsorpsi secara fisika atau kimia dan tertahan bersama adsorben dengan stabil. Immobilisasi pada KLT yang paling umum adalah menambahkan agent fluoresense sehingga KLT dapat berpendar di bawah lampu ultraviolet (Sholecha dan Kuswandi, 2002).

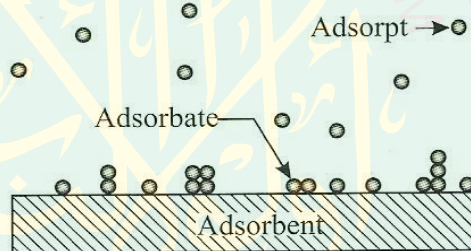
## **2.5 Adsorpsi**

Adsorpsi merupakan suatu peristiwa dimana molekul-molekul dari suatu senyawa terikat oleh permukaan zat padat. Molekul-molekul pada zat padat atau zat cair memiliki gaya dalam keadaan tidak seimbang dimana gaya kohesi cenderung lebih besar dari pada gaya adhesi. Ketidakseimbangan gaya-gaya tersebut menyebabkan zat padat atau cair tersebut cenderung menarik zat-zat lain atau gas yang bersentuhan pada permukaannya (Saragih, 2008).

Adsorpsi adalah suatu proses yang terjadi ketika suatu fluida (cairan maupun gas) terikat kepada suatu padatan dan akhirnya membentuk suatu lapisan tipis pada permukaan padatan tersebut. adsorpsi terjadi jika gaya tarik menarik antara zat terlarut dengan permukaan penyerap dapat mengatasi gaya tarik menarik antara pelarut dengan permukaan penyerap (Culp, 1996). Menurut Alberty dan Danniels (1938), adsorpsi terjadi pada permukaan padatan yang disebabkan adanya daya tarik atom atau molekul dalam permukaan suatu padatan.

Adsorpsi melibatkan dua molekul yaitu molekul adsorben dan adsorbat. Adsorben adalah zat atau padatan yang digunakan untuk adsorpsi, sedangkan adsorbat adalah gas (molekul) atau zat yang terlarut (molekul atau ion) dalam larutan. Adsorben dapat berupa cairan sehingga dapat terjadi antara zat padat dan zat cair, zat pada dan gas, zat cair dan zat cair atau gas dan zat cair.

Untuk mengetahui karakteristik yang terjadi dalam proses adsorpsi dapat diilustrasikan pada Gambar 2.4, padatan berpori (pores) yang menghisap (adsorp) dan melepaskan (desorp) suatu fluida disebut adsorben. Molekul fluida yang dihisap tetapi tidak terakumulasi atau melekat ke permukaan adsorben disebut adsorptive, sedangkan yang terakumulasi atau melekat disebut adsorbat (Alberty dan Danniels, 1983).



Gambar 2.5 Proses Adsorpsi

Faktor-faktor terpenting yang mempengaruhi adsorpsi adalah meliputi

(Armenente, 2010):

- Permukaan area adsorben
- Ukuran partikel adsorben
- Waktu kontak
- Kelarutan solut (adsorben)
- Afinitas solut terhadap adsorben
- Ukuran molekul dibandingkan dengan ukuran pori-pori
- Derajat ionisasi molekul adsorbat

- pH

Teknik immobilisasi secara adsorpsi merupakan sebuah cara yang paling sederhana dalam immobilisasi molekul/reseptor pada permukaan suatu sensor. Beberapa bahan adsorben yang biasa digunakan adalah silica gel, zeolit, karbonaktif, alumina, dan bahan-bahan resin lainnya yang biasanya digunakan sebagai adsorban (Kuswandi, 2010).

Peristiwa adsorpsi merupakan suatu fenomena permukaan, yaitu terjadinya penambahan konsentrasi komponen tertentu pada permukaan antara dua fase. Adsorpsi dapat dibedakan menjadi adsorpsi fisik (*physical adsorption*) dan adsorpsi kimia (*chemical adsorption*).

Adsorpsi dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan gaya yang menyebabkan adsorpsi yaitu (Oscik, 1982):

**a. Adsorpsi Fisika**

Gaya yang menyebabkan adsorpsi fisika merupakan gaya Van der Waals. Gaya ini menyangkut tarik-menarik elektrostatis antar molekul secara fisika yang terjadi antara permukaan adsorben dan adsorbat tanpa disertai perubahan kimia. Adsorbat dalam adsorpsi fisika tidak terikat kuat dengan adsorbennya sehingga dapat dengan mudah terjadi desorpsi atau pelepasan kembali adsorbat dari permukaan adsorben. Adsorpsi fisika ini mempunyai panas adsorpsi molar kurang dari 40 kJ/mol.

**b. Adsorpsi Kimia**

Adsorpsi kimia merupakan hasil interaksi elektron-elektron molekul adsorben dan adsorbat sehingga mencakup pembentukan ikatan kimia. Gaya ikat yang terjadi lebih kuat daripada fisisorpsi sehingga adsorpsi kimia sulit terjadi

desorpsi atau pelepasan kembali adsorbat dari permukaan adsorben. Adsorpsi kimia mempunyai panas adsorpsi tinggi yaitu sekitar 40-800 kJ/mol. Adsorbat hanya dapat membentuk suatu lapisan atau monolayer pada permukaan adsorben.

## 2.6 Plat Silika

Silika gel merupakan fase diam kromatografi lapis tipis. Fase diam untuk kromatografi lapis tipis sering kali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendar dalam sinar ultra violet (Solihat, 2004).

Silika merupakan penjerat polar yang paling sering digunakan, meskipun demikian silika gel juga banyak dijumpai dalam bentuk yang termodifikasi. Silika gel merupakan padatan pendukung yang ideal karena stabil pada kondisi asam, non swelling, memiliki karakteristik pertukaran serta memiliki daya tahan tinggi terhadap panas dan mudah dimodifikasi dengan bahan lain. Selain itu, silika gel memiliki situs aktif gugus silanol (SiOH) dan silokan (Si-O-Si) dipermukaan (Buhani dkk, 2009). Partikel silika gel mengandung gugus hidroksil dipermukaannya yang membentuk ikatan hydrogen dengan molekul-molekul polar. Air yang terserap dalam gel mencegah molekul-molekul polar dari pencapaian permukaan. Solusi untuk mengatasinya adalah gel diaktifkan dengan pemanasan sehingga air terserap dapat dikeluarkan.

## 2.7 Parameter Analitik Sensor

Sebagai suatu alat analisis, kriteria dari kinerja sebuah sensor kimia dapat terdefiniskan dengan parameter-parameter yang digunakan dalam karakterisasi sebuah metode analisis (Wiley dan Sons, 2012). Karakterisasi sensor dapat

ditentukan sampai sejauh mana sensor tersebut memiliki kemampuan yang baik dalam mengenali zat yang ingin dideteksinya. Kemampuan mendeteksi zat tersebut diukur meliputi beberapa hal sebagai berikut:

a. Waktu Respon

Waktu respon dari suatu piranti analisis seperti sensor kimia, sesuai dengan rekomendasi dari IUPAC dapat dinyatakan sebagai waktu antara pertama kali sensor direaksikan dengan sampel (bisa dicelupkan, diekspose atau dialirkan) dan waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil (*steady-state*) (Kuswandi, 2010).

b. Stabilitas dan Daya Tahan

Stabilitas adalah sejauh mana sensor dapat secara konsisten memberikan besar sensitifitas yang sama, serta berapa lama sensor tersebut dapat terus digunakan. Sedangkan menurut Fauziyah (2012), stabilitas adalah kemampuan sensor untuk mempertahankan karakteristiknya selama periode waktu tertentu.

Untuk memperoleh hasil-hasil analisis yang reproduisibel dan reliabel, maka sampel, pereaksi dan baku yang digunakan harus stabil pada waktu tertentu (misalkan 1 hari, 1 minggu, 1 bulan, atau tergantung kebutuhan). Stabilitas semua larutan dan reagen sangat penting, baik yang berkaitan dengan suhu atau yang berkaitan dengan waktu. Jika larutan tidak stabil pada suhu kamar, maka penurunan suhu hingga 2-8 °C dapat meningkatkan stabilitas sampel dan standar. Pendingin dalam *autosampler* biasanya tersedia untuk keperluan ini (Fernando, 2009).

c. *Limit of Deteksi (LoD)* dan *Limit of Quantity (LoQ)*

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

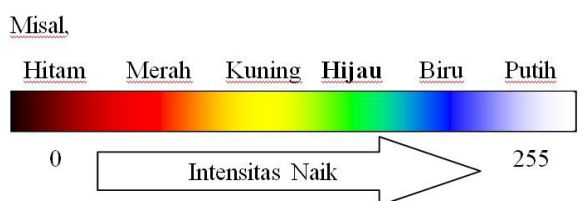
Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau dibawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko ( $Y$ ) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ( $3S_{bb}$ ) (Fernando, 2009).

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi. Kadang-kadang rasio *signal to noise* 10: 1 digunakan untuk menentukan LOQ. Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon ( $SD$ ) dan *slope* ( $S$ ) kurva baku sesuai dengan rumus:  $LOQ = 10 (SD/ S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep- $y$  pada garis regresi (Fernando, 2009).

## 2.8 Model warna RGB

Warna adalah salah satu kriteria untuk mengidentifikasi suatu objek. Setiap warna bisa diukur ataupun dideteksi. Jika melihat dengan mata telanjang, warna yang sejenis susah untuk dibedakan, misalnya antara biru kehijau-hijauan dengan hijau paling muda, dan sebagainya. Dalam ilmu fisika, warna disusun dari warna dasar. Contohnya adalah cahaya, warna dasar penyusunnya adalah warna merah, hijau dan biru, atau lebih dikenal dengan istilah RGB (*Red-Green-Blue*). Adapun parameter warna tersebut memiliki gelombang cahaya yang berbeda (Novianta, 2009).

RGB adalah suatu model warna yang terdiri dari merah, hijau, dan biru, digabungkan dalam membentuk suatu susunan warna yang luas. Setiap warna dasar, misalnya merah, dapat diberi rentang-nilai. Monitor komputer, nilai rentangnya paling kecil = 0 dan paling besar = 255. Pilihan skala 256 ini didasarkan pada cara mengungkap 8 digit bilangan biner yang digunakan oleh mesin komputer. Dengan cara ini, akan diperoleh warna campuran sebanyak  $256 \times 256 \times 256 = 1677726$  jenis warna. Sebuah jenis warna, dapat dibayangkan sebagai sebuah vektor di ruang 3 dimensi yang biasanya dipakai dalam matematika, Jadi, sebuah jenis warna dapat dituliskan sebagai: warna = RGB (30, 75, 255), putih = RGB (255, 255, 255), sedangkan untuk hitam = RGB (0, 0, 0) yang merupakan warna tampak seperti ilustrai berikut (Fatkhayah, 2013):



Gambar 2.6 Ilustrasi warna yang ditangkap pada komputer

Warna sebuah citra digital ditentukan oleh besar intensitas piksel-piksel penyusunnya. Warna ini diperoleh dari besar kecilnya intensitas cahaya yang ditangkap oleh sensor, sedangkan skala intensitas cahaya di alam tidak terbatas, yang bisa menghasilkan warna dengan jumlah yang tak terhingga. Sampai saat ini belum ada satu sensor pun yang mampu menangkap seluruh gradasi warna tersebut (Fatkhayah, 2013).

Keterbatasan inilah yang mengharuskan kita membuat gradasi warna sesuai dengan kebutuhan. Transformasi intensitas analog yang bersifat kontinu ke daerah intensitas diskrit disebut kuantisasi. Proses kuantisasi dihasilkan oleh peralatan digital, misalnya scanner, foto digital, dan kamera digital (Fatkhayah, 2013).



## **BAB III**

### **METODOLOGI**

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

Penelitian ini dilaksanakan pada 1 Maret – 30 Agustus 2015 di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Fisik Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Jalan Gajayana No. 50 Malang.

#### **3.2 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilaksanakan adalah *experimental laboratory* Performansi Analitik Sensor Urea Terimmobilisasi Reagen diasetil monoksim (DAM)-tiosemikarbazida secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, pipet ukur, pipet tetes, kamera *Sony Ericson 5 mega pixel*, *photoshop CS5*, *hot plate*, *waterbath*, dan peralatan gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium kimia.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, urea, diasetil monoksim (DAM), tiosemikarbazida (TSC), *ferric chloride* ( $\text{FeCl}_3$ ), asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pekat, asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), plat silika gel dan aquades.

#### **3.4 Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa tahapan yaitu

1. Preparasi sampel.
2. Preparasi bahan.

3. Immobilisasi reagen DAM-TSC dan reagen asam pada plat silika gel untuk pembuatan sensor urea.
4. Penentuan urea dalam sampel simulasi menggunakan plat silika gel yang terimmobilisasi reagen DAM-TSC dan reagen asam.
5. Analisis data.

### **3.4.1 Preparasi Sampel**

Larutan stok urea 100 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan cara ditimbang 0,300 gram urea. Kemudian dilarutkan padatan urea yang telah ditimbang dengan aquades sebanyak 10 mL dalam beaker glass. Larutan dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditanda bataskan dengan aquades.

### **3.4.2 Preparasi Bahan**

Preparasi bahan meliputi pembuatan larutan standar urea pada pelarut air, pembuatan reagen diasetil monoksim – tiosemikarbazida dan pembuatan reagen asam.

#### **3.4.2.1 Pembuatan Reagen**

##### **a. Pembuatan Reagen Diasetil monoksim**

Reagen diasetil monoksim dibuat dengan konsentrasi 160 mmol/L sebanyak 50 mL. Pertama ditimbang reagen diasetil monoksim sebanyak 0,808 gram kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 25 mL dalam gelas beaker. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditandabataskan.

##### **b. Pembuatan Reagen Tiosemikarbazida**

Reagen tiosemikarbazida dibuat dengan konsentrasi 8 mmol/L sebanyak 50 mL. Pertama ditimbang reagen diasetil monoksim sebanyak 0,036 gram kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 25 mL dalam gelas beaker. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditandabataskan.

### **c. Pembuatan Reagen Asam**

Dipipet 50 ml aquades lalu ditambahkan 1 ml asam fosfat dan 6 ml asam sulfat pekat kedalam labu ukur 100 ml. Didinginkan campuran tersebut dan ditambahkan 0,1 ml larutan  $\text{FeCl}_3$  10%. Diencerkan larutan dengan aquades di labu takar 100 ml sampai volume mencapai tanda batas dan dihomogenkan (Shanmugam dkk, 2010).

#### **3.4.3 Immobilisasi Reagen DAM-TSC dan Katalis Reagen Asam pada Plat Silika Gel untuk Pembuatan Sensor Urea**

Disiapkan reagen DAM 160 mmol/L-TSC 8 mmol/L dan katalis reagen asam dengan perbandingan volume 1:1 (Shanmugam dkk, 2010). Dipotong plat silika gel ukuran 2 x 2 cm. Diimmobilisasikan reagen identifikasi urea pada plat silika gel ukuran 2 x 2 cm masing-masing sebanyak 0,5 mL dengan cara ditotol memakai pipet tetes, kemudian dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan hairdryer sampai kering.

#### **3.4.4 Penentuan Urea Menggunakan Plat Silika gel yang Terimmobilisasi Reagen DAM-TSC dan Reagen Asam**

##### **3.4.4.1 Penentuan Suhu Terbaik**

Disiapkan 3 buah sensor yang telah terimmobilisasi. Masing-masing sensor ditetesi dengan sampel urea simulasi konsentrasi 100 mmol/L. Kemudian dipanaskan dalam oven dengan variasi suhu yaitu 35°C, 60°C, 100°C selama 20 menit kemudian diamati dan difoto perubahan warna yang terbentuk. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak 3 kali.

##### **3.4.4.2 Penentuan Waktu Respon Sensor dalam Mendeteksi Urea**

Disiapkan 16 buah sensor yang telah terimmobilisasi. Masing-masing sensor ditetesi dengan 3 tetes sampel urea simulasi konsentrasi 100 mmol/L. kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu terbaik hasil dari percobaan 3.4.4.1

dengan variasi waktu 20 – 300 detik dengan interval 20 detik. Kemudian dihitung dengan *stopwatch* waktu yang dibutuhkan sensor untuk berubah warna menjadi merah muda.

#### **3.4.4.3 Penentuan Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea**

Disiapkan 10 buah sensor yang telah terimmobilisasi dan disimpan pada dua kondisi yang berbeda yaitu pada suhu dingin dan pada temperatur kamar. Masing-masing sensor ditetesi dengan 3 tetes sampel urea simulasi dengan konsentrasi 100 mmol/L. Kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu terbaik hasil dari percobaan 3.4.4.1 selama 20 menit sambil diamati waktu respon serta warna yang terbentuk setelah pemanasan selesai. Pengukuran dilakukan secara berulang-ulang dengan selang waktu penyimpanan satu hari dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-4.

#### **3.4.4.4 Penentuan LoD dan LoQ Sensor Urea**

Disiapkan 4 plat silika gel yang terimmobil reagen DAM-TSC dan reagen asam. Plat ditetesi dengan 3 tetes sampel urea simulasi dengan variasi konsentrasi 0 mmol/L (sebagai blanko), 0,2 mmol/L, 0,5 mmol/L, 0,8 mmol/L, dan 1,2 mmol/L. Kemudian plat dipanaskan dalam oven pada suhu terbaik hasil dari percobaan 3.4.4.1 selama 20 menit dan diamati dan difoto bercak warna yang terbentuk, kejelasan dan kestabilan dari bercak warna yang terbentuk dengan acuan waktu respon dan stabilitas pada percobaan 3.4.4.2 dan percobaan 3.4.4.3. Sehingga dapat diketahui konsentrasi terkecil sampel urea yang dapat dideteksi oleh sensor urea.

### 3.4.5 Analisis Data

#### 3.4.5.1 Analisis suhu terbaik

Suhu terbaik diketahui dari perubahan warna yang diperoleh dari pengukuran sensor yang telah ditetesi urea. Kemudian data tersebut diubah dalam bentuk angka sesuai dengan nilai RGB dari warna yang dihasilkan oleh sensor terhadap analit. Data tersebut dibuat dalam bentuk tabel 3.1 berikut ini:

Tabel 3.1 Analisis suhu terbaik

No.	Suhu pemanasan	Ulangan	Gambar plat	Nilai			Mean RGB	Rata-rata
				Red	Green	Blue		
1.	35°C	1						
		2						
		3						
2.	60°C	1						
		2						
		3						
3.	100°C	1						
		2						
		3						

#### 3.4.5.2 Analisis Waktu Respon Sensor

Waktu respon terbaik diketahui dari perubahan warna yang diperoleh dari pengukuran sensor yang telah ditetesi urea dan dipanaskan variasi waktu yang berbeda. Kemudian data tersebut diubah dalam bentuk angka sesuai dengan nilai RGB dari warna yang dihasilkan oleh sensor terhadap analit pada tiap variasi. Data tersebut dibuat dalam bentuk tabel 3.2 berikut ini:

Tabel 3.2 Analisis waktu respon dalam mendeteksi urea

No.	Waktu respon (detik)	Nilai			Mean RGB
		Red	Green	Blue	
1.	20				
2.	40				
4.	60				
5.	80				
6.	100				
7.	120				
8.	140				
9.	160				
10.	180				
11.	200				
12.	220				
13.	240				
14.	260				
15.	280				
16.	300				

### 3.4.5.3 Analisis Stabilitas Sensor

Stabilitas sensor terbaik diketahui dari perubahan warna yang diperoleh dari pengukuran sensor yang telah ditetesi urea dan dipanaskan. Kemudian diamati dari awal perubahan warna sampai warna tersebut pudar atau menghilang dengan cara difoto. Data tersebut dibuat dalam bentuk tabel 3.3 berikut ini:

Tabel 3.3 Analisis Stabilitas Sensor dalam mendeteksi urea

No.	Penyimpanan hari ke-	Gambar plat silika		Mean RGB	
		Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
1.	0				
2.	1				
3.	2				
4.	3				
5.	4				

### 3.4.5.4 Analisis LoD dan LoQ Sensor Urea

*Limit of Detection* (LoD) dan LoQ Sensor Urea diketahui dari kemampuan sensor dalam mendeteksi urea berdasarkan variasi konsentrasi yang ditentukan ditandai dengan perubahan warna. Kemudian data tersebut diubah

dalam bentuk angka sesuai dengan nilai RGB dari warna yang dihasilkan oleh sensor terhadap analit pada tiap variasi. Kemudian dihitung nilai LoD dan LoQ menggunakan rumus berikut (Harmita, 2004):

$$SY/X = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_i)^2}{n - 2}}$$

$$LoD = \frac{3\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

$$LoQ = \frac{10\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

Keterangan :

SY/X = Simpangan Baku Residual

LOD = *Limit of Detection*

LOQ = *Limit of Quantitation*

Data tersebut selanjutnya dibuat dalam bentuk tabel 3.4 berikut ini:

Tabel 3.4 Analisis data konsentrasi urea terendah yang dapat dideteksi oleh sensor

No.	Konsentrasi	ulangan	Nilai			Mean RGB	Rata-rata
			Red	Green	Blue		
1.	0	1					
		2					
		3					
2.	0,2	1					
		2					
		3					
3.	0,5	1					
		2					
		3					
4.	0,8	1					
		2					
		3					
5.	1,2	1					
		2					
		3					

#### 3.4.5.4 Analisis RGB

Analisis RGB dilakukan menggunakan aplikasi *photoshop CS 5*. Pertama dibuka aplikasi *photoshop CS 5* yang telah diinstall pada komputer/laptop kemudian masukkan foto sensor yang telah diambil dan diamati dengan mengklik menu file lalu open dan pilih foto yang akan dianalisis. Klik window lalu info untuk menampilkan monitor RGB kemudian arahkan color sampler tool dan klik pada foto maka nilai RGB akan muncul pada monitor RGB.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis urea baik urea dalam lingkungan maupun dalam tubuh dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya adalah dengan memakai sensor kimia. Penelitian ini bertujuan untuk membuat sensor kimia dengan teknik immobilisasi adsorpsi pada plat silika gel untuk mendeteksi urea. Penelitian yang berjudul performansi analitik sensor urea terimmobilisasi reagen diasetil monoksim (DAM) dan tiosemikarbazida (TSC) secara adsorpsi pada plat silika gel mempunyai beberapa tahapan diantaranya adalah preparasi sampel, preparasi bahan, immobilisasi reagen DAM-TSC dan reagen asam pada plat silika gel untuk pembuatan sensor urea, penentuan urea dalam sampel simulasi menggunakan plat silika gel yang terimmobilisasi reagen DAM-TSC dan reagen asam, dan yang terakhir adalah analisis data.

#### 4.1 Preparasi Sampel

Sampel urea dibuat pada konsentrasi 100 mmol/L dengan melarutkan 0,3003 gram urea dalam pelarut aquades pada labu ukur 50 mL. Penentuan konsentrasi sampel urea yang tinggi didasarkan pada konsentrasi batas normal kandungan urea dalam darah yaitu 5 mg/dl – 25 mg/dl, jika dikonversikan menjadi satuan mmol/L menjadi 0,8 mmol/L – 4,1 mmol/L. Sehingga warna yang dihasilkan semakin terlihat dan memudahkan dalam penentuan beberapa analisis data. Penetapan kadar urea dalam serum mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi urea (Shanmugam dkk, 2010).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini memakai sampel simulasi atau sampel buatan yaitu urea yang telah dilarutkan dalam pelarut air. Pemakaian sampel simulasi dikarenakan penelitian ini merupakan penelitian awal dalam pembuatan sensor dengan harapan sensor yang telah didapatkan dapat digunakan untuk mendeteksi urea dalam sampel yang sebenarnya yaitu urea dalam darah (serum). Menurut Setyaningsih dkk, (2013) peningkatan hasil metabolit seperti ureum merupakan pertanda terjadinya penurunan fungsi ginjal secara mendadak yang biasa disebut dengan gagal ginjal akut.

#### **4.2 Immobilisasi Reagen Pada Plat Silika Gel**

Immobilisasi merupakan teknik pengikatan reagen pada suatu matriks. Tujuan dari immobilisasi adalah untuk mengikat reagen tanpa menghilangkan sifat dari reagen tersebut dalam mendeteksi analit. Reagen yang terikat akan terperangkap pada matriks sehingga ketika ditambahkan analit akan terjadi reaksi antara reagen dengan analit. Teknik immobilisasi yang digunakan adalah immobilisasi fisik yaitu adsorpsi fisik.

Immobilisasi reagen pada plat silika diawali dengan pembuatan reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida dengan cara mencampurkan kedua reagen tersebut masing-masing dengan perbandingan 1:1. Reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida yang telah dibuat dicampurkan dengan reagen asam dengan perbandingan 1:1. Larutan yang telah didapatkan kemudian ditotolkan pada plat silika GF<sub>254</sub> yang telah dipotong dengan ukuran 2x2 cm sebanyak 0,5 ml menggunakan pipet tetes. Plat silika yang digunakan merupakan plat yang biasa digunakan sebagai fase diam dalam analisis secara KLT karena silika yang telah terikat pada bahan pendukung bersifat stabil pada kondisi asam serta mempunyai

daya tahan yang cukup tinggi terhadap panas (Buhani dkk, 2009). Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, teknik totol merupakan teknik yang paling baik untuk mengimmobilisasikan reagen pada plat silika karena reagen dapat terikat pada plat secara maksimal.

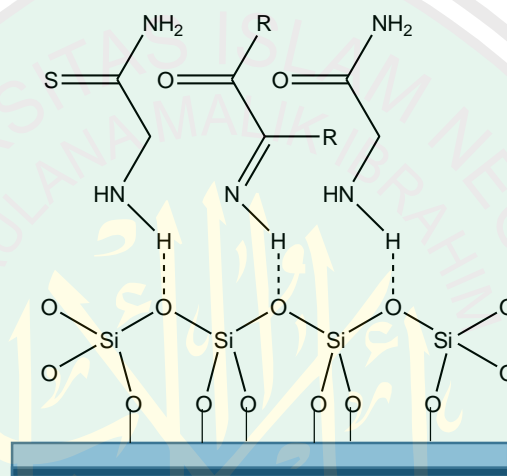
Teknik pengeringan untuk proses immobilisasi dilakukan dengan menggunakan *hairdryer* karena alat tersebut mampu mengeringkan lebih cepat dengan suhu yang relatif rendah sehingga reagen yang akan diikat pada plat silika kemungkinan besar tidak akan menguap. Hal itu sangat penting karena apabila reagen dapat terperangkap secara maksimal pada plat silika maka ketika diujikan dengan analit akan bereaksi dengan maksimal yang dapat dilihat dari perubahan warnanya.



Gambar 4.1 Immobilisasi reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida pada plat silika

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa reagen yang telah diimmobilisasikan tidak memunculkan perubahan warna. Plat yang dihasilkan setelah immobilisasi sampai dengan kering berwarna putih. Immobilisasi reagen pada plat silika dilakukan pada kondisi optimum dan terbaik agar mendapatkan nantinya respon yang dihasilkan baik. Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan konsentrasi reagen DAM dan TSC yang terbaik yaitu 160 mmol/L dan 8 mmol/L dengan campuran asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) dan asam posfat ( $H_3PO_4$ ).

Teknik immobilisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik adsorpsi (penyerapan). Hal itu dikarenakan teknik adsorpsi merupakan salah satu teknik yang paling sederhana dalam immobilisasi molekul pada permukaan sensor. Teknik adsorpsi yang digunakan adalah adsorpsi fisika karena interaksi antara adsorben dan adsorbat tidak terjadi ikatan kimia tetapi dapat berupa gaya van der Waals maupun ikatan hidrogen. Hal tersebut dapat dilihat pada ilustrasi gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2 Ikatan Hidrogen antara Reagen dan Plat Silika gel

Menurut Buhani dkk, (2009), silika gel memiliki situs aktif gugus silanol (SiOH) dan siloksan (Si-O-Si) dipermukaan. Partikel silika gel mengandung gugus hidroksil dipermukaannya yang membentuk ikatan hydrogen dengan molekul-molekul polar. Gugus hidroksil tersebut berikatan dengan atom O dan N yang terdapat pada reagen diasetilmonoksim dan tiosemikarbazida membentuk ikatan hidrogen.

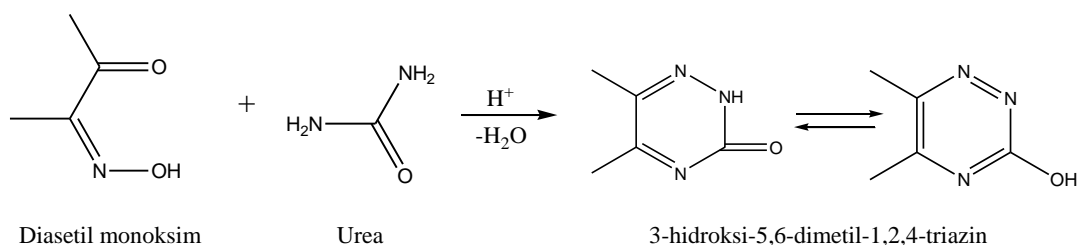
### 4.3 Penentuan Urea Dalam Sampel Simulasi

Metode untuk penentuan urea bermacam-macam dan salah satunya adalah metode kolorimetri dengan menggunakan sensor kimia yang didasarkan pada perubahan warna. Metode kolorimetri dilakukan dengan menggunakan

reagen diasetil monoksim (DAM) yang ditemukan oleh Fearon merupakan dasar dari berbagai metode penentuan kadar urea dalam cairan-cairan biologis (Wybenga dkk, 1971). Reagen lain yang digunakan selain diasetil monoksim (DAM) adalah tiosemikarbazida yang digunakan untuk menjaga stabilita warna.

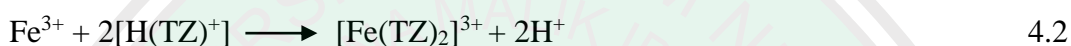
Reaksi antara urea dengan diasetil monoksim dan tiosemikarbazida dengan adanya ion Fe(III) yang terdapat dalam medium asam pada kondisi panas akan menghasilkan senyawa berwarna merah muda. Newell *et al* (1967) telah memodifikasi prosedur asli dari Beale & Croft (1961) yang mengembangkan metode kolorimetrik secara langsung untuk penentuan urea dalam cairan biologis menyatakan bahwa reaksi yang terjadi antara reagen diasetil monoksim dengan urea adalah reaksi kondensasi yang membentuk cincin segi 6 yang diteruskan dengan reaksi kesetimbangan.

Reaksi kondensasi dimulai oleh pasangan elektron bebas (PEB) gugus amina pada urea menyerang gugus karbonil dari reagen diasetil monoksim karena PEB dari amina lebih bersifat nukleofil yang mengakibatkan atom O pada reagen diasetil monoksim bermuatan parsial negatif. Selanjutnya bereaksi dengan  $H^+$  dari reagen asam sehingga melepas  $H_2O$  dan terjadi reaksi pembentukan senyawa cincin segi 6 yaitu senyawa 3-hydroxy-5,6-dimetil-1,2,4,-triazine. Dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada gambar 4.3 berikut:



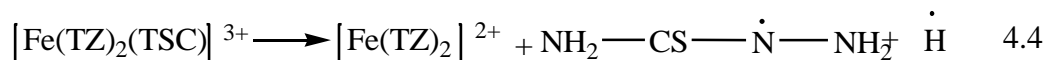
Gambar 4.3 Reaksi kondensasi diasetil monoksim dan urea menghasilkan 1,2,4-triazin tersubstitusi

Penelitian Ratnam dan Anipindi (2012) tentang mekanisme dan laju reaksi oksidasi tiosemikarbazida, semikarbazida dan hidroksilamin dengan Fe(III) serta adanya triazin (triazin yang digunakan merupakan berbagai senyawa 1,2,4-triazin tersubstitusi) menjelaskan bahwa triazin (TZ) akan mengalami protonasi dan kemudian bereaksi dengan Fe<sup>3+</sup> dengan melepas H<sup>+</sup> membentuk kompleks kelat [Fe (TZ)<sub>2</sub> ]<sup>3+</sup>. Selanjutnya kompleks tersebut berikatan dengan tiosemikarbazida (TSC) seperti yang ditunjukkan reaksi sebagai berikut:



Reaksi 4.3 merupakan tahap RDS (*Rate Determining Step*) atau tahap penentu laju yang berlangsung lambat. Reaksi pembentukan kompleks yang terjadi merupakan ikatan koordinasi dimana elektron dari atom N senyawa triazin dan atom S senyawa tiosemikarbazida. Pada tiosemikarbazida elektron yang menyumbang berasal dari atom S karena keelektronegatifannya lebih rendah dibandingkan dengan atom N.

Kompleks yang dihasilkan oleh reaksi 4.3 selanjutnya mengalami reaksi redoks dimana Fe(III) tereduksi menjadi Fe(II) sedangkan tiosemikarbazida teroksidasi menjadi senyawa radikal seperti reaksi berikut:



Fe<sup>3+</sup> merupakan agen pengoksidasi yaitu oksidator yang kemampuannya bertambah seiring dengan penambahan asam fosfat (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Sedangkan TSC radikal akan membentuk dimerisasi dengan TSC radikal yang lain sedangkan Fe(II) membentuk kompleks dengan penambahan satu lagi molekul triazin:


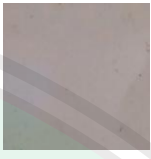



Warna merah muda yang terbentuk berasal dari senyawa kompleks  $[\text{Fe}(\text{TZ})_3]^{2+}$  yang diduga terjadi ikatan koordinasi dari atom N dan O ligan triazin dengan ion pusat Fe(II). Hal tersebut disebutkan dalam penelitian Croof dkk (2012) tentang penentuan Fe(II) dengan salah satu senyawa 1,2,4-triazin yang tidak tersulfonasi yaitu *3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine* (PDT) menyatakan bahwa Fe(II) dan PDT membentuk kompleks  $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$  berwarna magenta dengan panjang gelombang maksimum 555 nm. Hal yang serupa juga dinyatakan oleh Zhu dkk. (2007) yang melakukan penelitian tentang penggunaan PDT dalam penentuan Fe(II) dalam sampel bahan alam dengan HPLC, bahwa Fe(II) juga membentuk kompleks dengan PDT dengan warna magenta.

#### 4.3.1 Penentuan Suhu Terbaik

Penentuan suhu terbaik dilakukan dengan membuat variasi suhu pemanasan plat setelah diimmobilisasi reagen dan ditetesi sampel urea dengan konsentrasi 100 mmol/L. Pemakaian konsentrasi yang tinggi dikarenakan untuk mendapatkan warna yang lebih jelas ketika sensor mendeteksi sampel urea. Variasi suhu yang digunakan yaitu 35°C, 60°C, dan 100°C. Tujuan dari perlakuan ini untuk mengetahui serta memperoleh jumlah reagen yang bereaksi sempurna dengan sampel urea. Penentuan suhu terbaik pemanasan dilakukan dengan menyiapkan plat silika yang telah terimmobilisasi oleh reagen asam dan reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida. Plat yang telah terimmobilisasi kemudian ditetesi sampel urea pada bagian sudut plat sebanyak 3 tetes dan dipanaskan pada masing-masing variasi suhu.

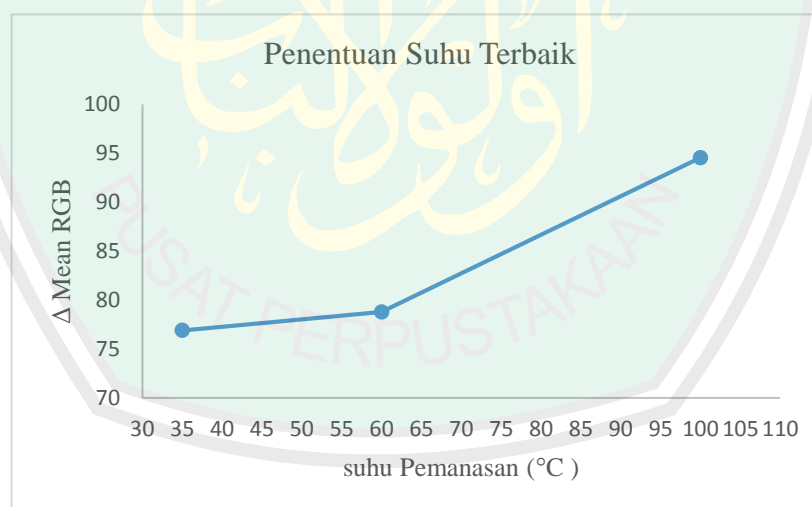
Tabel 4.1 Hasil Penentuan Suhu Terbaik

No.	Suhu Pemanasan (°C)	Waktu pertama kali warna terbentuk	Gambar plat silika gel	$\Delta$ mean RGB pemanasan 20 menit
1.	35	-		76,8889
2.	60	600 detik		78,7778
3.	100	120 detik		94,5556

Tabel 4.1 menunjukkan apabila diamati secara visual warna merah muda yang paling jelas terbentuk pada suhu 100°C. Hal tersebut menunjukkan bahwa suhu terbaik terbentuk pada suhu 100°C. Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi laju reaksi. Apabila suhu dinaikkan maka reaksi akan cepat terjadi yang ditunjukkan oleh intensitas warna yang semakin tinggi seiring meningkatnya suhu pemanasan. Beale dan Croft (1961) menyatakan bahwa suhu pemanasan mengakibatkan peningkatan intensitas warna reagen diasetil monoksim dalam mendeteksi urea. Suhu optimum pemanasan yang dihasilkan yaitu 99°C – 100,5 °C hal tersebut ditandai dengan tingginya absorbansi yang terbentuk.

Warna yang dihasilkan selanjutnya diubah menjadi data *numeric* (angka) dengan menggunakan metode *mean* RGB agar memudahkan dalam pengolahan data yang telah didapat. Nilai RGB pada penentuan suhu optimum diambil setelah pemanasan selama 20 menit. Nilai RGB tersebut merupakan kuantitas senyawa yang ada dalam media karena pada dasarnya, variasi warna suatu sistem berubah dengan berubahnya konsentrasi suatu komponen (Fatkhayah, 2013).

Berdasarkan nilai *mean* RGB dapat diketahui bahwa pada suhu 100°C mempunyai nilai *mean* RGB yang terendah sedangkan pada suhu 35°C mempunyai nilai *mean* RGB yang tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada suhu 100°C mempunyai intensitas warna yang lebih tinggi. Menurut Fatkhiyah, (2013) RGB adalah suatu model warna yang terdiri dari merah, hijau, dan biru, digabungkan dalam membentuk suatu susunan warna yang luas. Setiap warna dasar dapat diberi rentang nilai dimana nilai rentang yang paling kecil = 0 dan paling besar = 255. Nilai *mean* RGB yang dihasilkan selanjutnya dirubah dalam bentuk nilai  $\Delta$  mean RGB. Nilai  $\Delta$  mean RGB merupakan kebalikan dari nilai *mean* RGB yang dihasilkan dari elisih antara nilai *mean* RGB pada blanko dan sampel. Nilai  $\Delta$  mean RGB selanjutnya dibuat dalam bentuk grafik seperti gambar 4.4 berikut:



Gambar 4.4 Grafik Penentuan suhu terbaik

Gambar 4.4 menjelaskan bahwa suhu terbaik terjadi pada suhu 100°C yang ditunjukkan dengan kenaikan grafik dimana sumbu x merupakan suhu pemanasan dan sumbu y adalah nilai  $\Delta$  mean RGB. Semakin tinggi nilai  $\Delta$  mean RGB menunjukkan bahwa intensitas warna yang dihasilkan semakin jelas. Hal

tersebut berbanding terbalik dengan nilai mean RGB karena nilai  $\Delta$  mean RGB merupakan nilai yang dihasilkan dari selisih antara nilai blanko dengan nilai mean RGB pada masing-masing variasi suhu.

#### 4.3.2 Penentuan Waktu Respon Sensor dalam Mendeteksi Urea

Waktu respon merupakan salah satu dari performansi sensor. Waktu respon merupakan suatu piranti analisis seperti sensor kimia, sesuai dengan rekomendasi dari IUPAC yang dapat dinyatakan sebagai waktu antara pertama kali sensor direaksikan dengan sampel (bisa dicelupkan, diekspose atau dialirkan) dan waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil (*steady-state*) (Kuswandi, 2010).

Penentuan waktu respon dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa cepat kemampuan sensor dalam mendeteksi analit yaitu urea. Penentuan waktu respon dilakukan dengan meneteskan sampel urea 100mmol/L pada plat silika yang telah terimmobilisasi oleh reagen sebanyak 3 tetes. Penetesan sampel dilakukan di satu sudut dari plat silika agar warna yang terbentuk lebih merata ketika reagen bereaksi dengan sampel. Penentuan waktu respon dilakukan dengan mengamati plat silika yang telah ditetesi sampel dengan cara memfoto pada saat awal dipanaskan dalam oven pada suhu terbaik yaitu 100°C. Kemudian pengamatan dimulai pada detik ke-20 sampai detik ke-300 dengan tiap interval 20.

Tabel 4.2 Hasil penentuan waktu respon

No.	Waktu respon (detik)	gambar plat silica	$\Delta$ Mean RGB	Keterangan
1.	20		10,5556	- Warna yang terbentuk masih tipis/belum jelas - Warna sangat mudah hilang
2.	40		8,7778	- Warna yang terbentuk masih tipis/belum jelas - Warna sangat mudah hilang
3.	60		10,6667	- Warna yang terbentuk masih tipis/belum jelas - Warna sangat mudah hilang
4.	80		7,5556	- Warna yang terbentuk masih tipis/belum jelas - Warna mudah hilang
5.	100		13,4444	- Warna yang terbentuk agak jelas - Warna mudah hilang
6.	120		25,7778	- Warna yang terbentuk agak jelas - Warna mudah hilang
7.	140		20,7778	- Warna yang terbentuk agak jelas - Warna mudah hilang
8.	160		22,1111	- Warna yang terbentuk agak jelas - Warna mudah hilang
9.	180		23,2222	- Warna yang terbentuk sudah jelas - Warna tidak mudah hilang
10.	200		35,1111	- Warna yang terbentuk sudah jelas - Warna dan nilai RGB nya meningkat - Warna tidak mudah hilang

11.	220		33,7778	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Warna yang terbentuk sudah jelas</li> <li>- Warna dan nilai RGB nya meningkat</li> <li>- Warna tidak mudah hilang</li> </ul>
12.	240		36,2222	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Warna yang terbentuk sudah jelas</li> <li>- Warna dan nilai RGB nya meningkat</li> <li>- Warna tidak mudah hilang</li> </ul>
13.	260		46,2222	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Warna yang terbentuk sudah jelas</li> <li>- Warna dan nilai RGB nya semakin meningkat</li> <li>- Warna tidak mudah hilang</li> </ul>
14.	280		53,5556	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Warna yang terbentuk sudah jelas</li> <li>- Warna dan nilai RGB nya semakin meningkat</li> <li>- Warna tidak mudah hilang</li> </ul>
15.	300		54,6667	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Warna yang terbentuk sudah jelas</li> <li>- Warna dan nilai RGB nya semakin meningkat</li> <li>- Warna tidak mudah hilang</li> </ul>

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa pada detik ke-20 sampai dengan detik ke-120 sensor yang dihasilkan sudah terbentuk warna akan tetapi warna yang dihasilkan masih belum terlalu jelas. Apabila dilihat secara visual gambar yang terdapat pada tabel 4.3 sulit dibedakan warna yang terbentuk sehingga sulit untuk menentukan kapan pertama sensor menghasilkan sinyal dan pertama kali warna yang dihasilkan stabil. Akan tetapi apabila terdapat dalam larutan waktu pemanasan yang dibutuhkan reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida untuk bereaksi dengan sampel urea adalah 5 menit (Rahmatullah dan Boyde, 1980).

Penentuan waktu respon secara kasat mata sangatlah menyulitkan karena mata mempunyai kemampuan yang terbatas. Oleh karena itu data visual yang berupa warna dirubah menjadi data berupa angka menggunakan metode warna RGB sehingga nanti dapat dilihat nilai perubahan warna dari detik ke-20 sampai detik ke-300. Data yang diperoleh kemudian diubah menjadi data berupa nilai  $\Delta$

mean RGB yang diperoleh dari hasil pengurangan blanko dengan nilai rata-rata mean RGB pada tiap variasi waktu. Akan tetapi data pada penentuan suhu terbaik dan waktu respon sedikit berbeda dikarenakan kelemahan dalam konsistensi pengambilan data karena perbedaan cahaya dan waktu pengambilan gambar. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa awal grafik mulai naik terjadi ketika waktu pemanasan pada detik ke-180 dan mulai stabil terjadi pada detik ke-200 dengan sensor yang menghasilkan warna dan nilai RGB yang meningkat. Sensor pada waktu detik ke-20 sampai detik ke-160 warna yang dihasilkan mudah hilang. Hal itu dimungkinkan karena reaksi yang terjadi belum optimal sehingga ketika sudah tidak ada pemanasan, kompleks yang terbentuk akan terurai kembali.

Warna pada plat silika setelah dipanaskan pada masing-masing variasi waktu memang sudah terbentuk, akan tetapi warna yang terbentuk pada plat masih belum terlihat jelas dikarenakan waktu pemanasan yang relatif singkat sehingga reaksi yang terjadi antara reagen diasetil monoksimid-tiosemikarbazida dengan urea masih belum sempurna. Akan tetapi waktu respon tetap bisa ditentukan karena merupakan awal pertama kali terjadi perubahan warna dan stabil. Menurut Rahmatullah dan Boyde (1980) absorbansi optimum larutan yang menunjukkan reaksi reagen dalam mendeteksi urea yang ditandai terbentuknya warna terjadi dengan pemanasan selama 5 menit. Akan tetapi hal tersebut jelas berbeda ketika terjadi pada media padat karena akan membutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk mencapai reaksi yang optimum.

#### **4.3.3 Penentuan Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea**


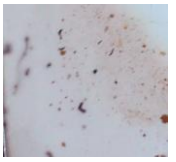

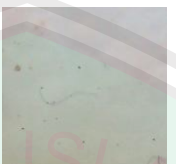
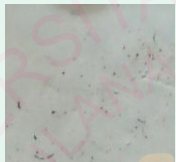





Stabilitas sensor merupakan sejauh mana sensor dapat secara konsisten memberikan besar sensitifitas yang sama, serta berapa lama sensor tersebut dapat

terus digunakan. Sedangkan menurut Fauziyah (2012), stabilitas adalah kemampuan sensor untuk mempertahankan karakteristiknya selama periode waktu tertentu.

Penentuan stabilitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa lama sensor mampu memberikan sensitifitas setelah disimpan dalam kurun waktu tertentu. Hal tersebut menunjukkan kemampuan sensor dalam memberikan sinyal yang mampu dibaca dalam kurun waktu tertentu dengan variasi waktu penyimpanan yaitu hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4. Selain itu penyimpanan juga dilakukan pada kondisi yang berbeda yaitu pada kondisi suhu ruang dan suhu dingin. Penentuan stabilitas dilakukan dengan meneteskan sampel urea 100 mmol/L sebanyak 3 tetes pada plat silika yang telah diimmobilisasi dengan reagen di hari yang sama sebanyak 3 tetes pada masing-masing variasi penyimpanan. Penetesan sampel dilakukan di satu sudut dari plat silika agar warna yang terbentuk lebih merata ketika reagen bereaksi dengan sampel sehingga memudahkan dalam pengamatan.

Sensor yang telah ditetesi dengan sampel urea selanjutnya dipanaskan dalam oven menggunakan suhu terbaik yaitu 100°C selama 20 menit. Penentuan stabilitas ditentukan berdasarkan waktu respon dan warna yang terbentuk pada kondisi optimum dan terbaik.

Tabel 4.3 Hasil Penentuan stabilitas sensor

No.	Hari ke-	Gambar plat silika gel		$\Delta$ Mean RGB	
		Suhu Dingin (10°C)	Suhu Ruang (30°C)	Suhu Dingin (10°C)	Suhu Ruang (30°C)
1.	0			65,6667	56,1667
2.	1			50,1667	47,6667
3.	2			47,1667	43,6667
4.	3			44,6667	40,6667
5.	4			42,1667	40,6667

Tabel 4.3 tersebut menunjukkan bahwa nilai  $\Delta$  Mean RGB pada suhu dingin lebih besar dibandingkan pada suhu ruang. Hal tersebut menunjukkan intensitas warna yang terbentuk pada sensor yang disimpan di tempat dingin lebih besar dibandingkan dengan di ruang biasa. Udara atmosfer atau suhu ruang merupakan campuran antara udara dan uap air (lembab). Saat udara dalam keadaan lembab udara memiliki tekanan uap yang tinggi sedangkan tekanan uap pada plat silika gel rendah sehingga uap air berpindah dari udara ke silika gel untuk mencapai kesetimbangan uap air. Uap air tersebut dimungkinkan akan mempengaruhi reagen DAM-TSC ketika bereaksi dengan urea karena air akan

membuat deaktivasi pada permukaan silika. Suhu dingin pada dasarnya dapat menghambat reaksi-reaksi kimiawi dengan kata lain komposisinya relatif konstan sehingga ditambahkan sampel urea, reagen DAM-TSC yang terimmobilisasi dalam plat silika gel mampu bereaksi secara maksimal dengan intensitas warna yang lebih tinggi. Dalam penelitian ini, penyimpanan sensor hari ke-3 dan ke-4 pada suhu ruang menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan pecah ketika dipanaskan.

Batas ketidakstabilan atau waktu pakai suatu sensor dalam mendeteksi analit tidak boleh lebih dari 15 % dari respon sensor semula (Kuswandi, 2010). Jika dihitung berdasarkan ketentuan tersebut kestabilan sensor yang dihasilkan pada penyimpanan suhu dingin adalah kurang dari satu hari sedangkan pada suhu ruang hampir mencapai satu hari. Apabila dilihat berdasarkan nilai LoQ dapat diketahui bahwa batas terendah nilai  $\Delta$  Mean RGB yang dapat dideteksi sensor urea adalah 50,136 yang menunjukkan bahwa stabilitas sensor yang dapat dihasilkan berada pada nilai  $\Delta$  Mean RGB tersebut yaitu  $\pm 1$  hari.



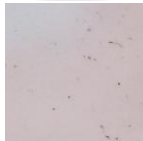


#### **4.3.4 Pembuatan Kurva Standard Sensor Urea**

Kurva standar menyatakan hubungan antara berkas radiasi yang diabsorpsi (A) dengan konsentrasi (C) dari serangkaian zat standar yang telah diketahui konsentrasinya. Kurva standar nantinya akan menghasilkan regresi linier, sehingga dari perhitungan regresi linier yaitu  $y = ax + b$ , dapat ditarik garis lurus. Keabsahan kurva kalibrasi yang dihasilkan dapat diuji dengan menentukan harga koefisien korelasi ( $r^2$ ) yang menyatakan ukuran kesempurnaan hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansinya yang merupakan suatu garis lurus. Metode ini dapat menggambarkan kemampuan suatu alat untuk

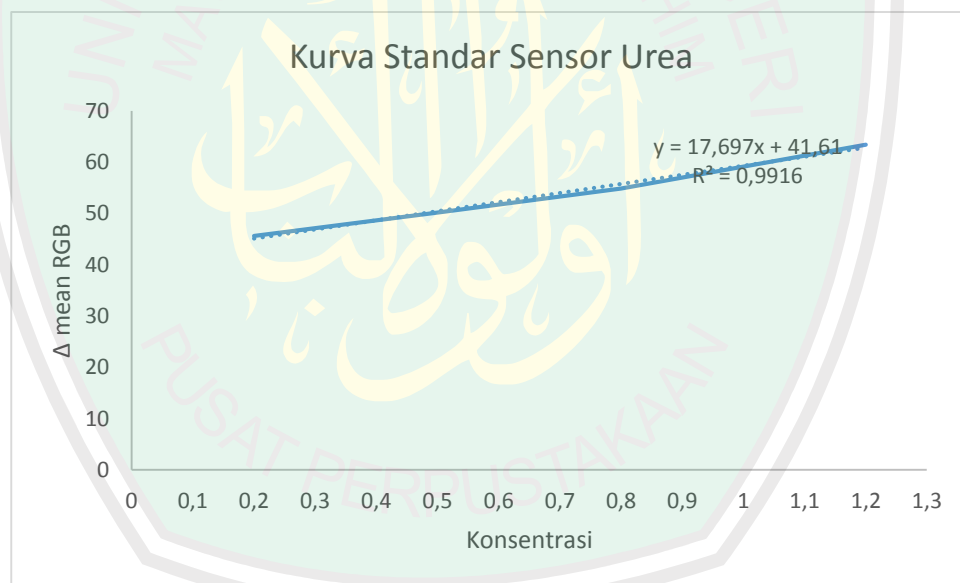
memperoleh hasil pengujian yang sebanding dengan kadar analitik alat tersebut dalam sampel uji pada rentang konsentrasi tertentu (Arifin, 2006).

Pembuatan kurva standar diawali dengan menyiapkan plat silika yang telah terimmobilisasi reagen dan sampel urea dengan variasi konsentrasi 0 mmol/L (sebagai blanko), 0,2 mmol/L, 0,5 mmol/L, 0,8 mmol/L, dan 1,2 mmol/L. sampel urea dengan masing-masing konsentrasi diteteskan pada plat silika yang telah terimmobilisasi satu persatu sebanyak 3 tetes. Penetasan sampel dilakukan di satu sudut dari plat silika agar warna yang terbentuk lebih merata ketika reagen bereaksi dengan sampel sehingga memudahkan dalam pengamatan. Sensor yang telah ditetesi dengan sampel urea dengan masing-masing konsentrasi selanjutnya dipanaskan dalam oven menggunakan suhu terbaik yaitu 100°C selama 20 menit. Warna yang dihasilkan selanjutnya dikonverikan dalam bentuk angka memakai *photoshop* dengan metode RGB.

Tabel 4.4 Hasil Pembuatan Kurva Standar Sensor Urea

Konsentrasi	Gambar Plat	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB
Blanko		237,6667	-
0,2 mmol/L		192	45,66667
0,5 mmol/L		187,4444	50,22222
0,8 mmol/L		182,7778	54,88889
1,2 mmol/L		174,2222	63,44444

Berdasarkan tabel 4.4 dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel urea maka semakin tinggi intensitas warna yang dihasilkan. Hal itu dapat dilihat dari nilai  $\Delta$  mean RGB yang juga semakin meningkat seiring meningkatnya intensitas warna. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sensor mampu digunakan untuk mendeteksi sampel yang mempunyai kadar lebih tinggi dengan hipotesis intensitas warna yang dihasilkan juga semakin tinggi. Sehingga orientasi kedepan sensor yang dihasilkan mampu untuk mendeteksi urea dalam tubuh dengan konsentrasi yang melebihi batas normal yaitu 5 mg/dL atau setara dengan 0,8 mmol/L. Data yang dihasilkan tersebut dapat dibuat menjadi kurva standar seperti pada gambar 4.5 berikut:



Gambar 4.5 Grafik Kurva Standar Sensor

Berdasarkan gambar 4.5 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula nilai  $\Delta$  mean RGB, sehingga dari kurva standar sensor urea menghasilkan persamaan regresi yaitu  $y = 17,697x + 41,61$  dimana  $y$  adalah  $\Delta$  mean RGB,  $b$  adalah slope,  $x$  adalah konsentrasi, sedangkan  $a$  adalah intersep. Dengan nilai koefisien korelasi ( $r^2$ ) sebesar 0,9916 berarti respon yang diberikan

oleh sensor terhadap konsentrasi analit telah memenuhi syarat yang ditetapkan, yakni  $R^2 > 0,99$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan dalam kondisi baik dan persamaan garis lurus yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel karena terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi dengan  $\Delta$  mean RGB.

Uji linieritas merupakan metode untuk membuktikan hubungan linier antara konsentrasi analit yang sebenarnya dengan respon alat (Harmita, 2004). Hubungan linearitas antara  $\Delta$  mean RGB dengan konsentrasi analit dapat ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r^2$ ). Model persamaan regresi linier yang terbentuk dari gambar 4.1 diatas adalah:  $y = 17,697x + 41,61$  dengan nilai linearitas  $R^2 = 0,9916$ . Hasil linieritas tersebut sesuai dengan syarat yang ditetapkan yakni  $R^2 > 0,99$  yang menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan dalam kondisi baik dan persamaan garis lurus yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel karena terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi dengan  $\Delta$  mean RGB.

Sensitivitas yang diperoleh dari pembuatan kurva standar sensor urea ditunjukkan dengan nilai *slope* (kemiringan) sebesar 17,697. Nilai tersebut menunjukkan setiap perubahan konsentrasi (sumbu x) akan memberikan perubahan terhadap nilai absorbansi (sumbu y) sebesar 17,697.

Limit deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi atau massa terkecil suatu analit yang masih dapat terdeteksi atau terukur. Sering juga limit deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi dimana suatu sinyal dalam rasio tertentu masih dapat diterima dan dihitung. Sedangkan nilai Batas kuantitasi (LoQ) menunjukkan batas rentang kerja yang harus dicapai dalam suatu pengukuran (Mitra, 2003).

Meskipun pada rentang 0,2 mmol/L sampai 1,2 mmol/L dalam kurva menunjukkan hasil yang linier, namun pengukuran harus mencapai limit kuantisasi agar lebih akurat. Karakteristik suatu sensor juga ditentukan oleh kemampuannya mendeteksi konsentrasi suatu analit. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi, semakin baik karakteristik sensor tersebut (Fauziyah, 2012). Berdasarkan data yang telah diperoleh, nilai LoD dan LoQ dapat hitung sebagaimana tabel 4.5 berikut:

Tabel 4.5 Data perhitungan LoD dan LoQ

$X$	$\bar{y}$	$y_i$	$(\bar{y} - y_i)$	$(\bar{y} - y_i)^2$	LoD	LoQ
0,2	45,6667	45,1494	0,5173	0,2676	0,1232 mmol/L	0,4105 mmol/L
0,5	50,2222	50,4585	-0,2363	0,0558		
0,8	54,8889	55,7676	-0,8787	0,7721		
1,2	63,4444	62,8464	0,5980	0,3576		
				$\sum (\bar{y} - y_i)^2$	1,4531	

Berdasarkan data tabel 4.5 dapat dihitung nilai simpangan baku residual ( $SY/X$ ) yaitu sebesar 0,72655. Data tersebut kemudian diolah dengan perhitungan untuk memperoleh nilai dari LoD dan LoQ. Batas deteksi (LoD) adalah parameter uji batas dengan jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko (Harmita, 2004). Nilai LoD yang diperoleh dari sensor dalam mendeteksi urea adalah 0,1232 mmol/L. Apabila sensor mampu mendeteksi urea dengan konsentrasi < 0,1232 mmol/L, maka sinyal yang dihasilkan tidak dipercaya sebagai analit melainkan sebagai noise. Apabila sensor mampu mendeteksi urea dengan konsentrasi > 0,1232 mmol/L, maka sensor tersebut dapat dikatakan memberi sinyal perubahan terhadap analit. Akan tetapi konsentrasi analit yang berada pada

limit deteksi belum sepenuhnya dapat dipercaya karena akurasi yang dihasilkan rendah (Hidayati, 2013).

Nilai batas kuantitasi (LoQ) yang diperoleh pada pembuatan kurva sensor dalam mendeteksi urea sebesar 0,4105 mmol/L. Konsentrasi urea pertama pada kurva standar berada dibawah nilai limit kuantitasi yang menandakan bahwa hasil yang didapatkan mempunyai akurasi yang rendah. Sedangkan konsentrasi kedua berada diatas nilai limit kuantitasi yang menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan memiliki akurasi yang cukup tinggi. Limit kuantitasi menentukan batas rentang kerja yang harus dicapai dalam suatu pengukuran. Meskipun pada rentang 0,2 mmol/L sampai 1,2 mmol/L dalam kurva standar menunjukkan hasil yang linear, namun pengukuran harus mencapai limit kuantitasi agar pengukuran lebih akurat. Dengan demikian sesuai dengan gambar kurva standar sensor urea, hasil pengukuran pada konsentrasi kedua dikatakan lebih baik dengan konsentrasi yang melebihi LoQ sehingga memberikan hasil dengan akurasi yang tinggi.

#### **4.4 Pembuatan sensor pendeteksi urea dalam Perspektif Islam**

Urea merupakan molekul yang terdapat pada tubuh manusia dan lingkungan. Molekul urea sangat bermanfaat bagi manusia terutama dalam lingkungan karena urea dapat digunakan sebagai pupuk untuk menyuburkan tanah dan tanaman. Akan tetapi manusia sering lupa terhadap dampak dari pemakaian pupuk urea yang terlalu berlebihan akibat ingin mendapatkan hasil yang maksimal secara cepat. Akibatnya lingkungan menjadi rusak atau tercemar akibat dari perbuatan manusia sebagaimana firman Allah dalam surat Ar rum ayat 41 berikut:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ

يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya:

“Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)” (Al-Rum [30] : 41).

Menurut Shihab (2002) Kata (ظَهَرَ) *zhahara* pada mulanya berarti terjadinya sesuatu di permukaan bumi, sehingga karena di permukaan, maka nampak dan terang serta diketahui. Sedangkan (الْفَسَادُ) *Al-fasad* menurut Al-Ashfahani dalam Shihab (2002) keluarnya sesuatu dari keseimbangan, baik sedikit maupun banyak. Ulama kontemporer memahaminya dalam arti kerusakan lingkungan, karena ayat di atas mengaitkan fasad atau kerusakan dengan kata darat dan laut.

Musibah yang menimpa seorang mukmin mengandung hikmah yang merupakan rahmat dari Allah. Imam Ibnul Qayyim berkata: “Andaikata kita bisa menggali hikmah Allah yang terkandung dalam ciptaan dan urusan-Nya, maka tidak kurang dari ribuan hikmah. Namun akal kita sangat terbatas, pengetahuan kita terlalu sedikit dan ilmu semua makhluk akan sia-sia jika dibandingkan dengan ilmu Allah, sebagaimana sinar lampu yang sia-sia dibawah sinar matahari” (Al-Qardhawi, 2001). Oleh karena itu islam membuka pintu harapan yang selebar-lebarnya kepada manusia agar menjaga segala sesuatu yang ada di bumi karena pada dasarnya manusia merupakan khalifah di bumi sebagaimana firman Allah dalam surat al Baqarah ayat 30 berikut:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰئِكَةِ اِنِّيْ جَاعِلٌ فِي الْاَرْضِ خَلِيْفَةً ۗ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِيْهَا مَن يُفْسِدُ فِيْهَا وَيَسْفِكُ  
الْدِّمَآءَ وَحَنَنُۢمۡ نُّسۡبِحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ اِنِّيْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ ﴿ۙ﴾

Artinya:

*"Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui" (Al-Baqarah [2]: 30)*

Ayat tersebut di atas memerintahkan Nabi Muhammad *shallallâhu 'alaihi wa sallam* untuk mengingat apa yang pernah disampaikan Allâh Azza wa Jalla kepada para Malaikat-Nya. Hal ini sekaligus sebuah isyarat bagi Nabi Muhammad *shallallâhu 'alaihi wa sallam* untuk menyampaikan dan mengingatkan kembali umatnya tentang tugas yang pernah dibebankan kepada manusia pada awal penciptaannya. Nabi Muhammad *shallallâhu 'alaihi wa sallam* dan umatnya disuruh untuk mengingat suatu peristiwa ketika Allâh Azza wa Jalla berfirman kepada para Malaikat terkait rencananya menciptakan dan mengangkat seorang khalifah di muka bumi. Khalifah itu, dalam rencana Allâh Azza wa Jalla, dimaksudkan untuk menggantikan peran Allâh Azza wa Jalla dalam melaksanakan hukum-hukumNya (al Shabuni, 1999). Maka dari itu sebagai khalifah, tugas kita adalah memikirkan dan melakukan cara menjaga kesehatan serta lingkungan diantaranya dikarenakan oleh urea. Salah satu dari usaha tersebut adalah pembuatan sensor urea untuk mendeteksi urea yang bermanfaat bagi manusia dalam menjaga kesehatan serta lingkungan.

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. Sedangkan pada tanah urea yang berasal dari pupuk akan diubah menjadi nitrit dari proses nitrifikasi yang dapat menyuburkan tanaman. Proses tersebut terjadi secara teratur dan seimbang baik didalam tubuh maupun di lingkungan dengan atas izin Allah Swt sebagaimana firmanNya dalam surat Ar Rahman (55) : 7 – 9,

وَالسَّمَاءَ رَفَعَهَا وَوَضَعَ الْمِيزَانَ ﴿٧﴾ أَلَّا تَطْغَوْا فِي الْمِيزَانِ ﴿٨﴾ وَأَقِيمُوا الْوَزْنَ بِالْقِسْطِ  
وَلَا تُخْسِرُوا الْمِيزَانَ ﴿٩﴾

Artinya:

*“Dan Allah telah meninggikan langit dan Dia meletakkan neraca (keadilan). Supaya kamu jangan melampaui batas tentang neraca itu. Dan tegakkanlah timbangan itu dengan adil dan janganlah kamu mengurangi neraca itu.”*

Dalam ayat tersebut disebutkan kata Mizan (timbangan atau keseimbangan). Mizan disini bukan hanya sekedar timbangan saja, akan tetapi termasuk pula takaran yang dengannya dapat diukur segala sesuatu, pengukur untuk 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 selanjutnya, *“Agar kamu jangan merusak keseimbangan itu.”* Hal itu, karena jika Allah tidak menurunkan keseimbangan itu 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. Pada lingkungan yaitu air tanah, urea

mempunyai kadar menurut SNI sebesar 46 %. Indikasi kesetimbangan dalam tubuh yang tidak normal dan batas kadar senyawa nitrogen pada air tanah ini dapat diketahui dengan cara mendeteksi urea salah satunya dengan menggunakan sensor. Selain itu

Pembuatan sensor untuk mendeteksi urea dilakukan dengan mengimmobilisasikan reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida dan reagen asam  $H_2SO_4 - H_3PO_4$  pada plat silika dengan teknik adsorpsi. Setelah itu dilakukan performansi analitik sensor untuk mengetahui kemampuan sensor dalam mendeteksi urea yang meliputi suhu terbaik, waktu repon, tabilitas sensor, dan konsentrasi terkecil sampel yang mampu dideteksi oleh sensor. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa reaksi terbaik yang terbentuk antara reagen dengan sampel urea terjadi pada suhu  $100\text{ }^\circ\text{C}$  dengan waktu pemanasan selama 20 menit. Selain itu, waktu respon sensor urea mampu terjadi pada detik ke-140 dan stabilitas yang mencapai 3 hari karena warna yang dihasilkan masih bertahan. Sementara itu, konsentrasi terkecil yaitu LoD dan LoQ yang mampu dideteksi oleh sensor adalah  $0,1445\text{ mmol/L}$  dan  $0,4817\text{ mmol/L}$ . Hal yang terpenting dalam pembuatan sensor ini adalah semua dilakukan kondisi optimum dan terbaik karena jika tidak dilakukan akan menurunkan kevalidan hasil yang didapat. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap reaksi memiliki kondisi tertentu serta setiap senyawa yang terlibat juga memiliki ukuran tertentu agar reaksi yang berlangsung dapat seimbang sehingga respon warna yang terbentuk pada sensor dapat maksimal. Sebagaimana firman Allah Swt dalam surat al Furqan (25): 2, bahwa Allah Swt menciptakan segala sesuatu dengan kadar dan ukuran tertentu, begitupun dalam pembuatan sensor ini perlu memperhatikan kondisi serta ukuran-

ukuran yang meliputi suhu reaksi, waktu reaksi, serta konsentrasi sampel yang dipakai.

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٦٦﴾

*“Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan dia Telah menciptakan segala sesuatu, dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.”*

Kata *qaddara* berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang, atau berarti kuasa, atau berarti ketentuan dari sistem yang ditetapkan terhadap segala sesuatu. Sedangkan kata *taqdiiron* adalah bentuk *masdar* dari kata *qaddara*. Ayat ini menyangkut pengaturan Allah Swt serta keseimbangan yang dilakukannya antar makhluk. Artinya tidak ada satu pun ciptaannya yang bernilai sia-sia sebab semuanya memiliki potensi yang sesuai dengan kadar yang cukup (Shihab, 2002).

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Penelitian tentang performansi analitik sensor urea terimmobilisasi reagen diasetil monoksim (DAM) dan tiosemikarbazida (TSC) secara adsorpsi pada plat silika gel ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Suhu terbaik sensor dalam mendeteksi urea adalah  $100^{\circ}\text{C}$  yang ditunjukkan dari intensitas warna yang tinggi ketika dikonversikan pada nilai *numeric*  $\Delta$  Mean RGB. Waktu respon sensor dalam mendeteksi urea terjadi pada detik ke-180.
2. Stabilitas sensor yang dihasilkan dalam mendeteksi urea pada penyimpanan suhu dingin kurang dari satu hari dan pada penyimpanan suhu ruang mencapai satu hari.
3. Nilai batas deteksi (LoD) dan batas kuantitasi (LoQ) urea yang dapat dideteksi oleh sensor sebesar  $0,1232 \text{ mmol/L}$  dan  $0,4105 \text{ mmol/L}$ .

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penentuan suhu terbaik dengan suhu diatas  $100^{\circ}\text{C}$ .
2. Perlu dilakukan performansi analitik yang lebih bervariasi seperti selektivitas, presisi dan akurasi agar diketahui kemampuan terbaik sensor dalam mendeteksi analit.
3. Perlu dilakukan percobaan penggunaan *scan* dalam pengambilan gambar untuk mengurangi kesalahan dalam pengambilan data.

4. *Range* konsentrasi kurva standar dibuat pada konsentrasi sampel yang digunakan.
5. Terdapat perbedaan hasil  $\Delta$  Mean RGB dari hasil variasi suhu dan waktu respon dikarenakan pada setiap perlakuan terdapat perbedaan hari dan pengambilan gambar. Disamping itu *photoshop* tidak mampu mengambil nilai  $\Delta$  Mean RGB dari seluruh bagian gambar karena *photoshop* mampu mengambil data dalam bentuk *pixel* atau sebagian lokasi saja.



## DAFTAR PUSTAKA

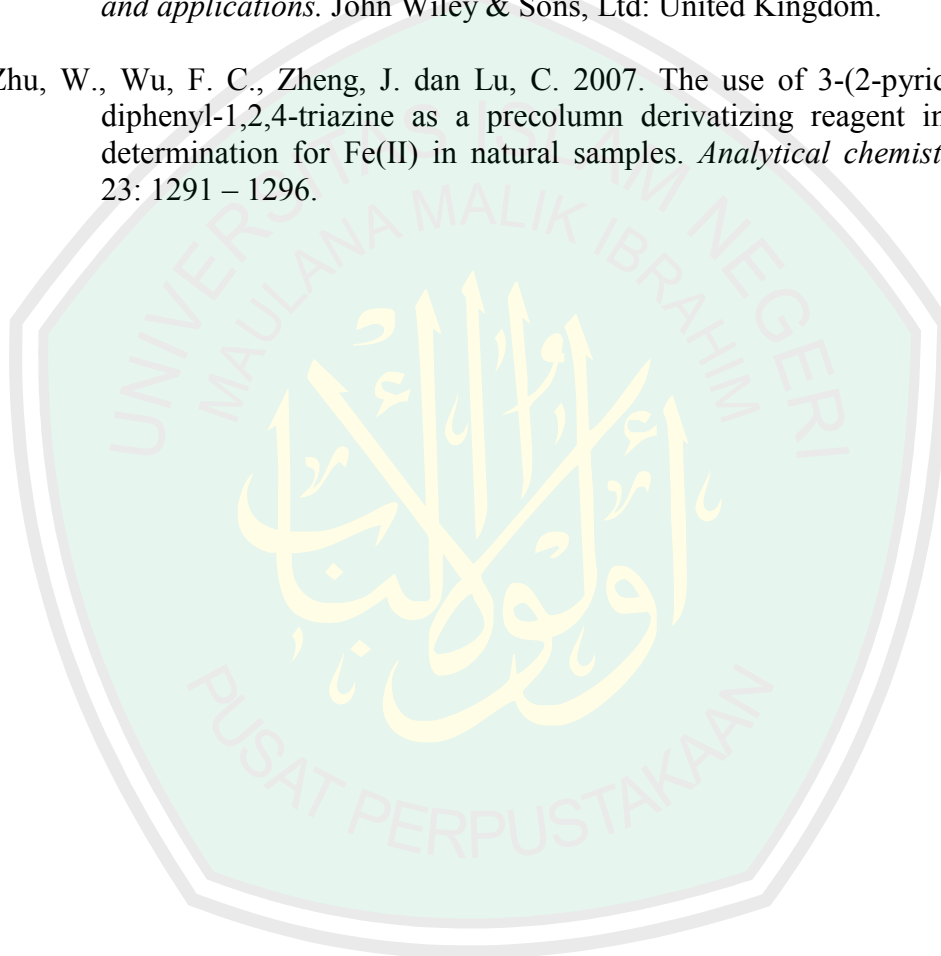
- Akyilmaz, E, & Din'ckaya, E. 2005. An Amperometric Microbial Biosensor Development Based on *Candida Tropicalis* Yeast Cells for Sensitives Determination of Ethanol. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1263–1269.
- Alberty, R. & A, Danniels, F. 1983. *Kimia Fisika Versi S1 Edisi Kelima Jilid 1*. Diterjemahkan oleh N. M. Surdia. Jakarta: Erlangga.
- Al-Qardhawi, Y. 2001. *Islam Agama Ramah Lingkungan*. Diterjemahkan oleh A. Hakam, dkk. Jakarta: Pustaka al-Kautsar.
- Arifin, Z. 2006. Validasi Metode Analisis Logam Copper (Cu) Dan Plumbum (Pb) Dalam Jagung Dengan Cara Spektrofotometer Serapan Atom. *Seminar Nasional Peternakan Dan Veteriner*. Jakarta: Universitas Pancasila
- Armenente. 2010. *The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane*.
- Beale, R. N. and Croft, D. 1961. A sensitive method for the colorimetric determination of urea. *J. GUn. Pathol.* 14, 418.
- Budianto, H. 2002. *Pengembangan Sensor Optik Praktis Untuk Pengukuran Ion Hg (II) Dalam Air Berbasis Pipa Kapiler [Skripsi]*. Universitas Negri Jember: Jember.
- Buhani., Suharsono, dan Sumadi. 2009. Production Of Metal Ion Imprinted Polymer From Mercapto-Silica Through Sol-Gel Process as Selective Adsorbent of Cadmium, Desalination. 251: 83-89.
- Chagas A. P., 2007. The synthesis of ammonia: *some historical aspects (in Portuguese)*, *Química Nova*. 30. 1. 240-247.
- Croof, P. L. dan Hunter, A. 2012. Determination of Fe(II) and total iron in natural waters with 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine (PDT). *Analytica Chimica Acta*. Vol. 406: 289 – 302.
- Culp, A. W. 1996. *Prinsip-Prinsip Konversi Energi*. Jakarta: Penerbit Eralangga.
- Eggenstein, C., Borchdat, M., Diekmann, C., Grunding, B., Dumschat, C., Camman, K., Knoll, M., & Spener, F. 1999. A Disposable Biosensor for Urea Determination in Blood Based on an Ammonium-Sensitive Transduce. *Biosensors & Bioelectronics* 14: 33-41.

- Fatima, I, & Mishra, S., 2011. Development of Potentiometric Urea Biosensor For Clinical Purpose, *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, ISSN 2249 – 1023, India.
- Fatkhiyah, N. 2013. Analisa Pewarna Pada Minuman Dengan Menggunakan Kamera Digital. *Skripsi*. Universitas Jember
- Fearon, W. R., The carbamido diacetyl reaction: A test for citrullin. *Biochem. J.* 33, 902 (1939).
- Fauziyah, B. 2012. Optimasi Parameter Analitik Biosensor Urea Berbasis Immobilisasi Urease Dalam Membran Polianilin. *Saintis*. Volume 1. Nomor 1: 65-76.
- Fatmawati, I., Prasetyawan, S., dan Roosdiana, A. 2013. Optimasi Imobilisasi Urea dari *Schizosaccharomyces pombe* Menggunakan Matrik Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *Student Journal*. Vol. 2. No. 1. Universitas Brawijaya Malang.
- Fernando, A. 2009. Optimasi Penetapan Kadar Sisplatin dalam Campuran Infus Sisplatin dengan Ondansetron Hidroklorida Menggunakan Pereaksi Dietilditiokarbamat secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Thesis*. Universitas Indonesia.
- Firmansyah. 2012. Metode Immobilisasi Enzim. <http://mcfirmaryah.blogspot.com/2012/04/metode-immobilisasi-enzim.html> diakses pada 20 Juni 2014.
- Fitriani, W. 2013. Metode Penelitian Fenilpiruvat Pada Urine Menggunakan  $FeCl_3$  Yang Diimmobilisasi Pada Plat Silika Gel. *Skripsi*. UIN Malang.
- Hall, J.E dan Guyton, A.C. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Jakarta: egc.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol.1. No.3, 117-135.
- Hidayati, E.N. 2013. Perbandingan Metode Destruksi pada Analisis Pb Dalam Rambut Dengan AAS. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang.
- Hulanicki, A. Stanislaw, G. dan Folke, I. 1991. Chemichal Sensor Definition And Classification. *Pure and Appl Cham*. Vol 63. No 9. Hal 1247-1250.
- Khairi. 2005. Perbandingan Metode Potensiometri Menggunakan Biosensor Urea Dengan Metode Spektrofotometri Untuk Penentuan Urea. *Jurnal Sains Kimia*. Vol 9, No.2. Hal. 68-72.
- Kuswandi, B. 2010. *Sensor*. Jember: Universitas Jember Press.

- Lamb E. Newman D.J, Price C.P. 2006. Kidney Function Tests. Dalam : Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia : Elsevier Saunders. 797-826.
- Marsh, W. H., Fingerhut, B., and Kirsch, E., 1957. Determination of urea nitrogen with the diacetyl method and an automatic dialyzing apparatus. *Amer. J. Clin. Pathol.* 28,681.
- Martoharsono, S. 2006. *Biokimia Jilid 2*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Miles, B. 2003. The Urea Cycle. <https://www.tamu.edu/faculty/bmiles/lectures/urea.pdf>. diakses pada 20 Juni 2014.
- Mitra, Somenath dan Roman Brukh, 2003, Sample Preparation An Analytical Perspective, *Journal*, Departement of Chemistry and Environmental Science, New Jersey Intitute of Technology, Newark, New Jersey
- Mulyasuryani, A. Anna R, dan Are S. 2010. The Potentiometric Urea Biosensor Using Chitosan Membrane. *Indo. J. Chem.* 10(2): 162-163.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Rodwell, V.W. 1999. *Biokimia Harper, Edisi 25*. Jakarta: EGC.
- Nakas, J.P dan Litchfield, C.D. 1977. Application of the Diacetyl-monoxime Thiosemicarbazide Method to the Analysis of Urea in Estuarine Sediments. *stuarine and Coastal Marine Scierace* 5. 143 – 150.
- Nazaruddin. 2007. Biosensor Urea Berbasis Biopolimer Khitin Sebagai Matrik Immobilisasi. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. Vol. 6. No. 1. Hal. 41-44.
- Newell, B. S., Morgan, B. dan Cundy, J. 1967. The Determination of Urea in Sea Water. *Journal of Marine Research*. 25, 201-202.
- Novianta, M.A. 2009. Alat Pendeteksi Warna Berdasarkan Warna Dasar Penyusun RGB dengan Sensor TCS230 Colour Detector Device Based of Basic Composer RGB by TCS230 Sensor. *ISBN*.
- Oscik, J. 1982. *Adsorption (Ellis Horwood Series In Physical Chemistry)*. New York: Haisted Press.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Pointe Scientific, Inc. 2013. Urea Nitrogen (BUN) (Berthelot/Colorimetric). USA: Canon MI [www.pointscientific.com](http://www.pointscientific.com) diakses pada 20 Juni 2014.

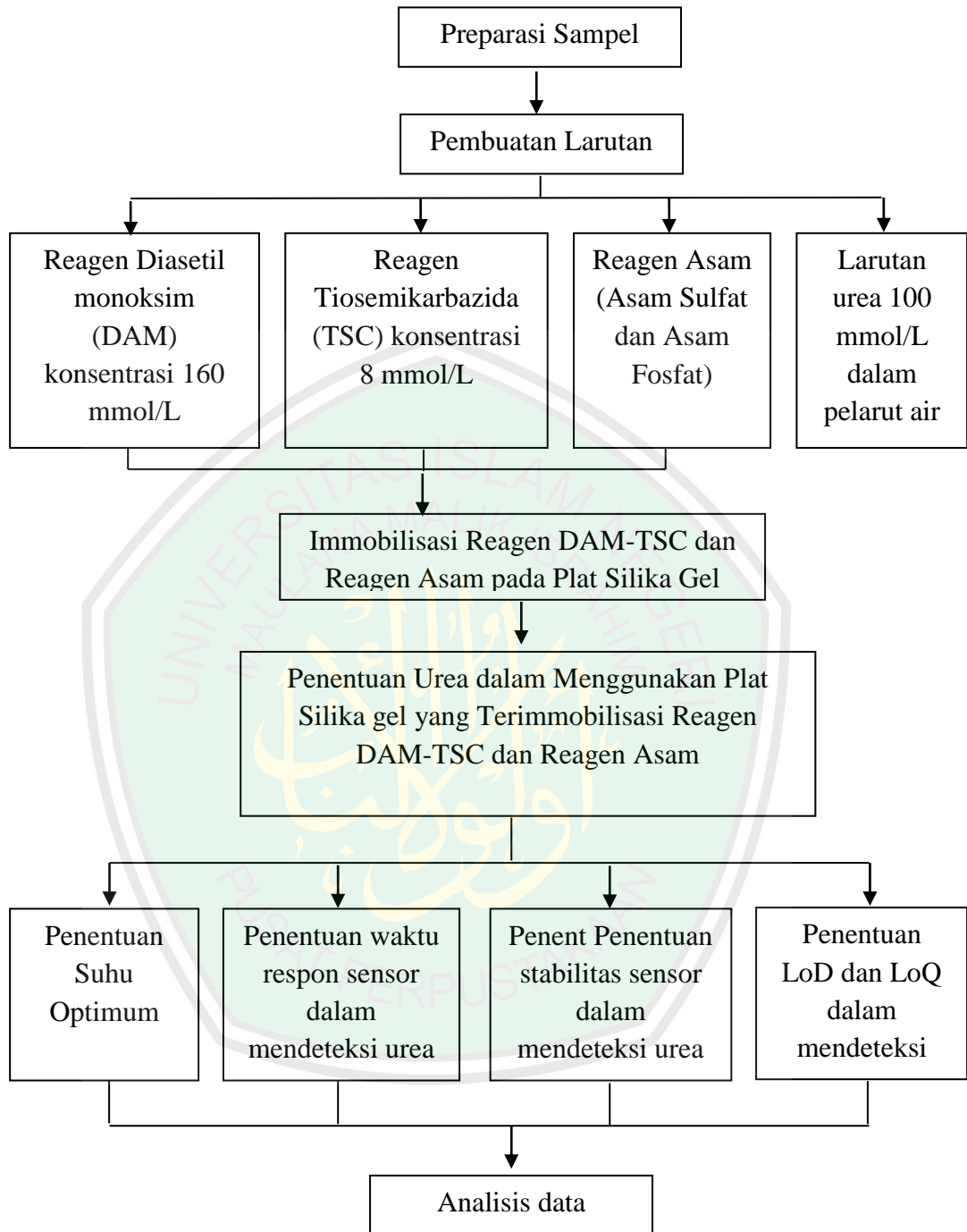
- Prahasto, W.S.T. 2009. *Sensor Kimia Bentuk Stik Menggunakan Reagen Bifenil dengan Penambahan Surfaktan Kationik Untuk Deteksi Merkuri Dalam Air [Skripsi]*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.
- Rahmatullah, M dan Boyde, T.R.C.. 1980. Improvements In The Determination Of Urea Using Diacetyl Monoxime; Method With And Without Deproteinisation. *Clinical Chimica Acta*. 107: 3-9.
- Ratnam, S dan Anipindi, N. R. 2012. Kinetic and mechanistic studies on the oxidation of hydroxylamine, semicarbazide, and thiosemicarbazide by iron(III) in the presence of triazines. *Transition Met Chem*. 37:453 – 462.
- Rho, J. H. 1971. Direct Fluorometric Determination Of Urea In Urine. *Clinical Chemistry*. Vol. 18. No. 5.
- Saragih, S.A. 2008. Pembuatan dan Karakterisasi Karbon Aktif dari Batubara Riau sebagai Adsorben. *Tesis diterbitkan*. Jakarta: FT UI.
- Setyaningsih, A; Puspita, D, dan Rosyidi, Imron, M. 2013. *Perbedaan Kadar Ureum dan Kreatinin pada Klien dengan Hollow Fiber Baru dan Hollow Fiber Re Use di RSUD Ungaran*. Ungaran.
- Shanmugam, S; Kumar, Sathish, T, dan Selvam, Panneer, K. 2010. *Laboratory Handbook On Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah : Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati
- Sholecha, D.I. dan Kuswandi, B. 2002. Penentuan Cu (II) dalam sampel Air Secara Spektrofotometri Berbasis Reagen Kering TAR/PVC. *Jurnal Ilmu Dasar FMIPA Universitas Jember Volume 3*.
- Solihat, U. 2004. *Analisis Kromatografi Tipis Dan Kromatografi Kertas*. Bandung: Dinas Pendidikan Program Analisis Kimia.
- Syarif. 2010. Pengaruh Konsentrasi Adsorbat, Temperatur, dan Tegangan Permukaan pada Proses Adsorpsi Gliserol Oleh Alumina. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Thomas, L. 1999. *Clinical Laboratory Diagnostics-Use and Assessment of Clinical Laboratory Results 1st English*. Frankfurt: TH Books.
- Tietz, N. W. 1987. *Fundamentals Of Clinical Chemistry, 3rd Edition Transport*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Triyono, A. Purwanto., dan Budiyo. 2013. Efisiensi Penggunaan pupuk –N untuk Pengurangan Kehilangan Nitrat pada Lahan Pertanian. *ISBN*.

- Widmann, F.K. 1995. *Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium. Ed. 9.* Alih bahasa Siti Boedina Kresno; Ganda Soebrata, J. Latu. Jakarta: EGC.
- Wybenga, D. R; John D. G, dan Vincet J. P. 1971. Manual and Automated Methods for Urea Nitrogen Measurement in Whole Serum. *Clinical Chemistry*. Vol. 14. No. 9.
- Wiley, J dan Sons. 2012. *Chemical Sensors and Biosensors: the Fundamentals and applications.* John Wiley & Sons, Ltd: United Kingdom.
- Zhu, W., Wu, F. C., Zheng, J. dan Lu, C. 2007. The use of 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine as a precolumn derivatizing reagent in HPLC determination for Fe(II) in natural samples. *Analytical chemistry*. Vol. 23: 1291 – 1296.



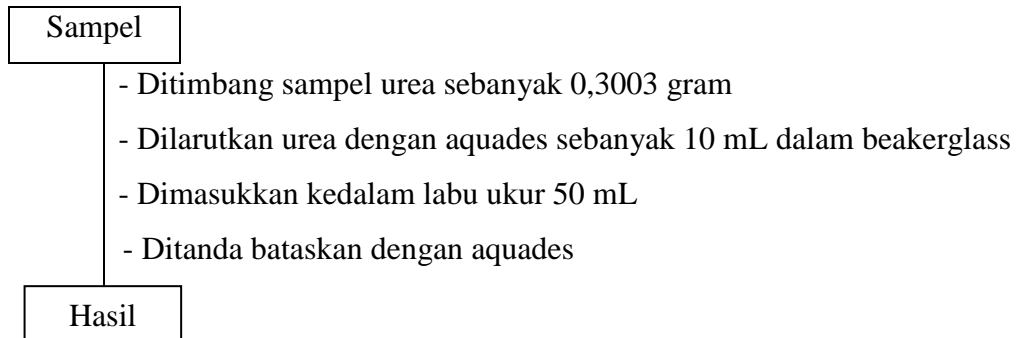
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian



## Lampiran 2. Diagram Alir

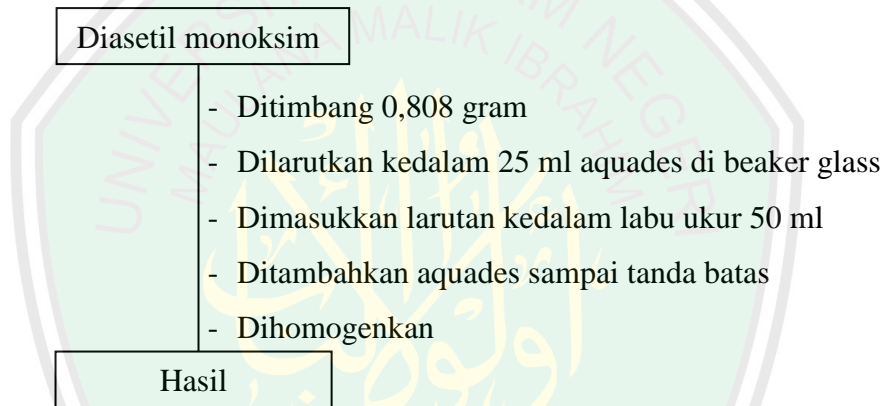
### 1. Preparasi Sampel



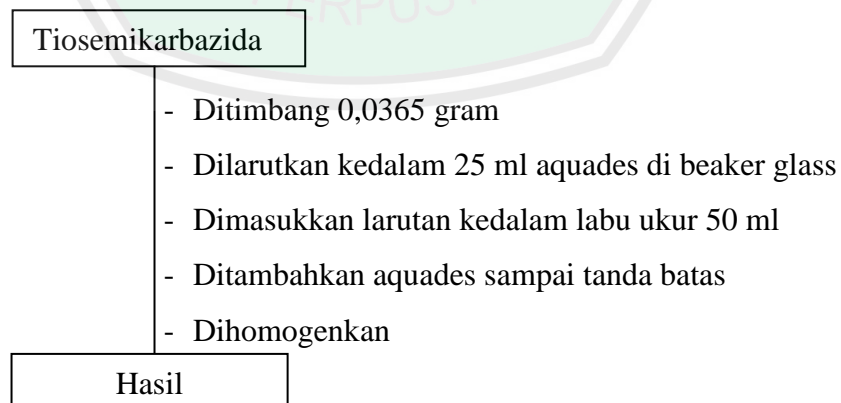
### 2. Preparasi Bahan

#### 2.1 Pembuatan Reagen

##### a) Reagen diasetil monoksim 160 mmol/L



##### b) Reagen Tiosemikarbazida 8 mmol/L



**c) Reagen Asam**

Asam Fosfat pekat

- Dipipet sebanyak 1 ml
- Dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL yang sudah terisi aquades 50 mL
- Ditambahkan 6 ml asam sulfat pekat
- Dibiarkan campuran tersebut dan ditambahkan 0,1 ml larutan  $\text{FeCl}_3$  10%
- Diencerkan larutan dengan aquades di labu takar 100 ml sampai volume mencapai tanda batas dan dihomogenkan

Hasil

**3. Immobilisasi Reagen DAM-TSC dan Reagen Asam secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel dalam Pembuatan Sensor Urea untuk Deteksi Urea**

Reagen Diasetil monoksim-Tiosemikarbazida dan reagen asam

- Disiapkan reagen DAM-TSC dan reagen asam dengan perbandingan volume 1:1.
- Diimmobilisasikan ke atas fasa diam plat silika gel ukuran 2 x 2 cm masing-masing sebanyak 0,5 mL dengan teknik adsorpsi, yaitu ditotol dengan pipet tetes.
- Dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan hairdryer.

Hasil

#### 4. Penentuan Urea Simulasi Menggunakan Plat Silika gel yang Terimmobilisasi Reagen DAM-TSC dan Reagen Asam

##### 4.1 Penentuan Suhu Optimum

Sensor yang terimmobilisasi

- Disiapkan 3 buah sensor yang telah teimmobilisasi
- Ditetaskan sampel urea konsentrasi 100 mmol/L pada masing-masing sensor sebanyak 3 tetes.
- Dioven dengan variasi suhu yaitu 35°C, 60°C, 100°C selama 20 menit.
- Diamati dan difoto perubahan warna yang terbentuk.
- Diulangi 3 kali.

Hasil

##### 4.2 Penentuan Waktu Respon Sensor dalam Mendeteksi Urea

Sensor yang terimmobilisasi

- Disiapkan 16 buah sensor yang telah terimmobilisasi
- Ditetaskan sampel urea konsentrasi 100 mmol/L pada masing-masing sensor sebanyak 3 tetes
- Dioven pada suhu optimum dengan variasi waktu 20 – 300 detik dengan interval 20 detik.
- Dihitung dengan stop watch waktu yang dibutuhkan sensor untuk berubah warna menjadi merah muda sesuai dengan variasi waktu.

Hasil

#### 4.3 Penentuan Stabilitas Sensor dalam Mendeteksi Urea Simulasi

Sensor yang terimmobilisasi

- Disiapkan 10 buah sensor yang telah teimmobilisasi
- Dibagi menjadi 2 tempat penyimpanan yaitu suhu dingin dan ruang.
- Ditetaskan sampel urea konsentrasi 100 mmol/L pada masing-masing sensor sebanyak 3 tetes dengan variasi waktu penetesan pada hari ke-0, 1, 2, 3, dan 4.
- Dioven pada suhu optimum selama 20 menit.
- Diamati waktu respon dan difoto perubahan warna yang terbentuk.

Hasil

#### 4.4 Penentuan Konsentrasi Terkecil (LoD) dan LoQ dalam Mendeteksi Urea

Sensor yang terimmobilisasi

- Disiapkan 4 plat silika gel yang terimmobil reagen DAM-TSC dan reagen asam.
- Ditetesi plat dengan 3 tetes sampel urea dengan variasi konsentrasi 0,2 mmol/L, 0,5 mmol/L, 0,8 mmol/L, dan 1,2 mmol/L.
- Dioven pada suhu optimum selama 20 menit.
- Diamati dan difoto warna bercak yang terbentuk, kejelasan dan kestabilan dari bercak warna yang terbentuk

Hasil

### Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen

#### 1. Pembuatan Larutan Urea 100 mmol/L 50 ml

$$\text{MR Urea} = 60.06 \text{ gr/mol}$$

$$100 \text{ mmol/L} = \frac{x \text{ mmol}}{0,05 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} x \text{ mmol} &= 100 \text{ mmol} \times 0,05 \text{ L} \\ &= 5 \text{ mmol} = 0,005 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$0,005 \text{ mol} = \frac{\text{berat urea (gram)}}{\text{MR urea}}$$

$$\begin{aligned} \text{berat urea} &= 0,005 \text{ mol} \times 60,06 \text{ gram/mol} \\ &= 0,3003 \text{ gram} \end{aligned}$$

Larutan stok urea 100 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan melarutkan padatan urea sebanyak 0,3003 gram ke dalam 50 ml aquades.

#### 2. Pembuatan Larutan Urea 0,2 mmol/L, 0,5 mmol/L, 0,8 mmol/L, dan 1,2 mmol/L sebanyak 50 ml dalam Pelarut Air

##### 2.1 Pembuatan larutan urea 0,2 mmol/L

$$M_1 = 100 \text{ mmol/L}$$

$$M_2 = 0,2 \text{ mmol/L}$$

$$V_2 = 50 \text{ ml}$$

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

$$100 \text{ mmol/L} \times V_1 = 0,2 \text{ mmol/L} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml}$$

Larutan Urea 0,2 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan cara; dipipet 0,1 ml larutan standar urea 100 mmol/L lalu dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan aquades hingga volume mencapai hampir 50 ml kemudian ditanda bataskan dan dihomogenkan.

##### 2.2 Pembuatan larutan urea 0,5 mmol/L

$$M_1 = 100 \text{ mmol/L}$$

$$M_2 = 0,5 \text{ mmol/L}$$

$$V_2 = 50 \text{ ml}$$

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

$$100 \text{ mmol/L} \times V_1 = 0,5 \text{ mmol/L} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Larutan Urea 0,5 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan cara; dipipet 0,25 ml larutan standar urea 100 mmol/L lalu dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan aquades hingga volume mencapai hampir 50 ml kemudian ditanda bataskan dan dihomogenkan.

### 2.3 Pembuatan larutan urea 0,8 mmol/L

$$M_1 = 100 \text{ mmol/L}$$

$$M_2 = 0,8 \text{ mmol/L}$$

$$V_2 = 50 \text{ ml}$$

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

$$100 \text{ mmol/L} \times V_1 = 0,8 \text{ mmol/L} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

Larutan Urea 0,8 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan cara; dipipet 0,4 ml larutan standar urea 100 mmol/L lalu dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan aquades hingga volume mencapai hampir 50 ml kemudian ditanda bataskan dan dihomogenkan.

### 2.4 Pembuatan larutan urea 1,2 mmol/L

$$M_1 = 100 \text{ mmol/L}$$

$$M_2 = 1,2 \text{ mmol/L}$$

$$V_2 = 50 \text{ ml}$$

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

$$100 \text{ mmol/L} \times V_1 = 1,2 \text{ mmol/L} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ ml}$$

Larutan Urea 1,2 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan cara; dipipet 0,6 ml larutan standar urea 100 mmol/L lalu dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan aquades hingga volume mencapai hampir 50 ml kemudian ditanda bataskan dan dihomogenkan.

## 3. Pembuatan Larutan Stok Diasetil Monoksim 160 mmol/L sebanyak 50 ml

MR Diasetil monoksim = 101,10 gram/mol

$$160 \text{ mmol/L} = \frac{x \text{ mmol}}{0,05 \text{ L}}$$

$$x \text{ mmol} = 160 \text{ mmol/L} \times 0,05 \text{ L}$$

$$= 8 \text{ mmol} = 0,008 \text{ mol}$$

$$0,008 \text{ mol} = \frac{\text{berat DAM}}{\text{MR DAM}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat DAM} &= 0,008 \text{ mol} \times 101,01 \text{ gram/mol} \\ &= 0,808 \text{ gram} \end{aligned}$$

Larutan stok DAM 160 mmol/L sebanyak 160 ml dibuat dengan melarutkan 0,808 gram DAM dalam aquades sebanyak 25 ml dalam beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

#### 4. Pembuatan Larutan Stok Tiosemikarbazida (TSC) 8 mmol/L sebanyak 50 ml

$$\text{MR Tiosemikarbazida (TSC)} = 91,13 \text{ gram/mol}$$

$$8 \text{ mmol/L} = \frac{x \text{ mmol}}{0,05 \text{ L}}$$

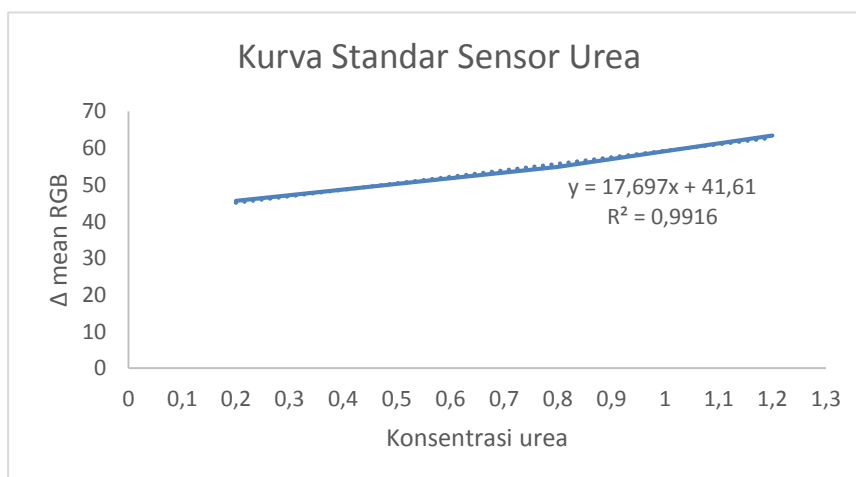
$$\begin{aligned} x \text{ mmol} &= 8 \text{ mmol/L} \times 0,05 \text{ L} \\ &= 0,4 \text{ mmol} = 0,0004 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$0,0004 \text{ mol} = \frac{\text{berat TSC}}{\text{MR TSC}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat DAM} &= 0,0004 \text{ mol} \times 91,13 \text{ gram/mol} \\ &= 0,0365 \text{ gram} \end{aligned}$$

Larutan stok TSC 8 mmol/L sebanyak 50 ml dibuat dengan melarutkan 0,0365 gram TSC dalam aquades sebanyak 25 ml dalam beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

#### 5. Pembuatan kurva standar



- a. Linearitas ditunjukkan dengan nilai  $R^2 = 0,9916$
- b. Sensitivitas ditunjukkan dengan nilai slope (kemiringan) = 17,697

**a. Penentuan nilai  $\Delta$  mean RGB hasil perhitungan**

$$y = 17,697x + 41,61$$

➤ **0,2**

$$\begin{aligned} y &= 17,697 (0,2) + 41,61 \\ &= 45,1494 \end{aligned}$$

➤ **0,5**

$$\begin{aligned} y &= 17,697 (0,5) + 41,61 \\ &= 50,4585 \end{aligned}$$

➤ **0,8**

$$\begin{aligned} y &= 17,697 (0,8) + 41,61 \\ &= 55,7676 \end{aligned}$$

➤ **1,2**

$$\begin{aligned} y &= 17,697 (1,2) + 41,61 \\ &= 62,8464 \end{aligned}$$

$x$	$\bar{y}$	$y_i$	$(\bar{y} - y_i)$	$(\bar{y} - y_i)^2$
0,2	45,6667	45,1494	0,5173	0,2676
0,5	50,2222	50,4585	-0,2363	0,0558
0,8	54,8889	55,7676	-0,8787	0,7721
1,2	63,4444	62,8464	0,5980	0,3576
			$\sum (\bar{y} - y_i)^2$	1,4531

**b. Penentuan simpangan baku**

$$SY/X = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_i)^2}{n - 2}}$$

$$SY/X = \sqrt{\frac{1,4531}{4 - 2}}$$

$$SY/X = 0,72655$$

c. Penentuan nilai LoD dan LoQ

➤ LoD

$$LoD = \frac{3\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

$$LoD = \frac{3(0,72655)}{17,697}$$

$$LoD = 0,1232$$

➤ LoQ

$$LoD = \frac{10\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

$$LoD = \frac{10(0,72655)}{17,697}$$

$$LoD = 0,4105$$



#### Lampiran 4. Hasil Analisis Nilai RGB

Analisis nilai RGB dilakukan dengan aplikasi *image processing tool* yaitu *adobe photoshop CS5*, sementara data yang diperoleh diolah dengan *microsoft excel 2013*

##### 1. Penentuan Suhu Pemanasan Terbaik

Suhu pemanasan (°C)	ulangan	Nilai			Mean RGB	Δmean RGB	Rata-rata
		R	G	B			
Blanko	-	236	239	238	237,6667	-	-
35	1	168	163	160	163,6667	74	76,88889
	2	166	154	164	161,3333	76,3334	
	3	165	156	151	157,3333	80,3334	
60	1	171	160	164	165	72,6667	78,77778
	2	160	155	161	158,6667	79	
	3	155	154	150	153	84,6667	
100	1	150	129	126	135	102,6667	94,55556
	2	155	134	132	140,3333	97,3334	
	3	162	151	149	154	83,6667	

##### 2. Penentuan Waktu Respon

waktu respon	ulangan	R	G	B	Mean RGB	Δ mean RGB	Rata-rata
Blanko	1	236	239	238	237,6667	-	-
20	1	230	217	243	230	7,6667	10,5556
	2	225	219	243	229	8,6667	
	3	223	211	233	222,3333	15,3334	
40	1	226	217	234	225,6667	12	8,7778
	2	220	214	240	233,3333	4,3334	
	3	226	218	239	227,6667	10	
60	1	228	217	235	226,6667	11	10,6667
	2	226	215	231	224	13,6667	
	3	232	224	235	230,3333	7,3334	
80	1	228	220	241	229,6667	8	7,5556
	2	229	221	244	231,3333	6,3334	
	3	231	220	237	229,3333	8,3334	
100	1	231	220	237	229,3333	8,3334	13,4444
	2	224	212	234	223,3333	14,3334	
	3	224	212	224	220	17,6667	
120	1	219	205	220	214,6667	23	25,7778
	2	214	205	210	209,6667	28	

	3	217	204	213	211,3333	26,3334	
140	1	221	208	215	214,6667	23	20,7778
	2	218	207	213	212,6667	25	
	3	226	220	224	223,3333	14,3334	
160	1	213	201	211	208,3333	29,3334	22,1111
	2	210	202	213	208,3333	29,3334	
	3	230	224	236	230	7,6667	
180	1	214	197	207	206	31,6667	23,2222
	2	206	193	210	203	34,6667	
	3	236	225	242	234,3333	3,3334	
200	1	214	186	174	191,3333	46,3334	35,1111
	2	215	209	221	215	22,6667	
	3	217	197	190	201,3333	36,3334	
220	1	204	190	204	199,3333	38,3334	33,7778
	2	206	193	197	198,6667	39	
	3	214	206	221	213,6667	24	
240	1	204	190	203	199	38,6667	36,2222
	2	196	183	190	189,6667	48	
	3	218	211	218	215,6667	22	
260	1	187	162	160	169,6667	68	46,2222
	2	195	180	185	186,6667	51	
	3	221	211	222	218	19,6667	
280	1	191	177	174	180,6667	57	53,5556
	2	188	170	168	175,3333	62,3334	
	3	213	188	188	196,3333	41,3334	
300	1	185	157	143	161,6667	76	54,6667
	2	197	177	175	183	54,6667	
	3	220	200	193	204,3333	33,3334	

### 3. Penentuan stabilitas sensor

#### Suhu Ruang

hari ke-	R	G	B	Rata-rata	$\Delta$ mean RGB
0	169	188	194	181,5	56,1667
1	198	189	182	190	47,6667
2	200	190	188	194	43,6667
3	201	189	193	197	40,6667
4	207	192	187	197	40,6667

Suhu dingin

Hari ke-	dingin			Mean RGB	$\Delta$ mean RGB
	R	G	B		
0	167	175	177	172	65,6667
1	194	187	181	187,5	50,1667
2	195	185	186	190,5	47,1667
3	201	185	185	193	44,6667
4	206	193	185	195,5	42,1667

**4. Penentuan LoD dan LoQ**

Konsentrasi	Ulangan	R	G	B	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Rata-rata
Blanko	1	236	239	238	237,667	237,667	-
0,2	1	199	195	196	196,667	41	45,6667
	2	196	191	197	194,667	43	
	3	190	185	179	184,667	53	
0,5	1	198	188	189	191,667	46	50,2222
	2	187	185	188	186,667	51	
	3	188	182	182	184	53,6667	
0,8	1	175	171	172	172,667	65	54,8889
	2	177	184	194	185	52,6667	
	3	193	189	190	190,667	47	
1,2	1	176	175	171	174	63,6667	63,4444
	2	174	173	169	172	65,6667	
	3	183	175	172	176,667	61	