

# PENGARUH VARIASI SUHU PEMANASAN DALAM PEMBUATAN SENSOR UREA SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL

M. Khoiriyah, B. Fauziyah, A. Hakim  
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim  
Malang  
Email: imima1003@gmail.com

## Abstrak

Urea merupakan suatu zat sisa metabolisme yang menjadi salah satu komponen dari darah dengan kadar normal 5 – 25 mg/dL. Urea dapat dijadikan salah satu indikator berbagai masalah kesehatan terutama pada ginjal. Metode penentuan urea secara kolorimetri dengan reagen diasetil monoksim (DAM) dan tiosemikarbazida (TSC) serta reagen asam dikembangkan menjadi sebuah sensor kimia berbasis plat silika gel pada penelitian ini. Sensor ini dapat mendeteksi urea melalui perubahan warna menjadi merah muda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui teknik immobilisasi serta suhu pemanasan terbaik dalam pembuatan sensor ini. Reagen DAM-TSC dan reagen asam diimmobilisasikan pada plat silika gel secara adsorpsi menggunakan variasi teknik yaitu penotolan, penyemprotan dan pelapisan untuk mengetahui teknik immobilisasi terbaik. Variasi suhu pemanasan kemudian dilakukan untuk menentukan suhu pemanasan terbaik. Pembentukan warna merah muda pada plat sebagai respon pada sensor dianalisis berdasarkan model warna RGB dengan *adobe photoshop CS5*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik immobilisasi terbaik reagen DAM-TSC pada plat silika gel adalah secara penotolan yang menghasilkan waktu respon 2 menit dengan nilai  $\Delta mean$  RGB sebesar 72. Suhu pemanasan yang dapat menghasilkan respon terbaik dari sensor yaitu pemanasan pada suhu 100 °C selama 30 menit.

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

## I. PENDAHULUAN

Urea merupakan salah satu senyawa hasil akhir dari metabolisme yang dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk urin melalui ginjal. Urea juga direabsorpsi oleh ginjal dan menjadi kandungan dari darah dengan kadar 5 – 25 mg/dL (Shanmugam *et al.*, 2010). Kadar urea tidak hanya dapat mencerminkan adanya gangguan terhadap fungsi ginjal, akan tetapi juga merupakan respon normal yang diberikan oleh ginjal terhadap kurangnya volume cairan ekstraseluler maupun terjadinya penurunan aliran darah menuju ginjal (Akçay *et al.*, 2010). Gangguan fungsi ginjal dapat menggambarkan kondisi sistem vaskuler tubuh sehingga mengetahuinya lebih awal dapat membantu

upaya pencegahan pasien agar tidak mengalami komplikasi yang lebih parah seperti stroke, jantung koroner, gagal ginjal kronis, penyakit pembuluh darah perifer dan lain-lain (Amin *et al.*, 2014). Kebutuhan mengenai pentingnya melakukan analisis urea secara rutin khususnya dalam bidang kesehatan mendorong para peneliti untuk mengembangkan berbagai metode analisis urea dan salah satunya adalah sensor kimia.

Metode analisis urea yang telah dikembangkan sebagai sebuah sensor adalah secara potensiometri. Metode ini menggunakan enzim urease sebagai reseptor pada sensor sehingga disebut biosensor urea. Penggunaan biosensor urea berbasis enzim memang memiliki keunggulan tinggi dalam hal spesifisitas dan selektifitas reaksi yang terjadi dengan analit, sensitivitas reaksi yang tinggi dan akurasi yang baik, akan tetapi penggunaan enzim serta elektroda sensitif pH dalam metode tersebut memiliki beberapa kekurangan yang menyebabkan kinerja biosensor mudah terganggu (Ruzicka *et al.*, 1979; Eddowes, 1987; Koncki *et al.*, 1992 dalam Eggenstein *et al.*, 1999). Maka dari itu perlu dilakukan pembuatan sensor urea berbasis reagen kimia lain yang lebih stabil dan memberikan hasil yang sama baiknya. Salah satunya adalah menggunakan reagen diasetil monoksim dan tiosemikarbazida. Metode penentuan urea secara kolorimetri berbasis reagen diasetil monoksim awalnya memiliki banyak kelemahan sehingga berbagai pengembangan dari metode tersebut dilakukan untuk mengatasinya meliputi penggunaan kombinasi asam serta penambahan ion Fe(III) dan tiosemikarbazida untuk menghasilkan warna yang lebih stabil (Rahmatullah dan Boyde, 1980).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan pembuatan sensor urea berbasis reagen diasetil monoksim, tiosemikarbazida dan reagen asam untuk mengembangkan metode analisis urea secara kolorimetri menggunakan reagen tersebut. Reagen diimmobilisasikan secara adsorpsi pada sebuah material pendukung berupa plat silika gel yang biasa digunakan dalam analisis KLT. Pengaruh variasi suhu pemanasan dikaji untuk menentukan suhu pemanasan terbaik dalam reaksi antara urea dan reagen DAM, TSC serta reagen asam karena pemanasan sangat diperlukan untuk mempercepat respon yang dihasilkan oleh sensor. Sensor yang dibuat pada penelitian ini mendeteksi urea dari perubahan warna yang ditimbulkan saat sampel yang berupa larutan urea ditetaskan pada plat yang telah terimmobilisasi reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida (DAM-TSC) dan reagen asam (asam sulfat dan asam fosfat).

Sementara warna yang dihasilkan dianalisis secara digital berdasarkan model warna RGB

## II. METODE PENELITIAN

### A. Bahan

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

### B. Pembuatan Sampel Simulasi Urea

Sampel simulasi urea yang dibuat merupakan larutan urea dalam air dengan konsentrasi 100 mmol/L.

### C. Pembuatan Reagen Identifikasi Urea

Reagen ini terdiri dari tiga jenis reagen, yaitu reagen diasetil monoksim, tiosemikarbazida dan reagen asam. Reagen diasetil monoksim dibuat dengan konsentrasi 100 mmol/L sebanyak 50 mL dan reagen tiosemikarbazida dibuat dengan konsentrasi 8 mmol/L. Sementara reagen asam dibuat dengan cara; dipipet 1 mL  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dan 6 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Ditambahkan aquades 75 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. Ketiga reagen tersebut kemudian dicampur dengan perbandingan volume 1 : 1 : 2 dengan total volume 10 mL.

### D. Penentuan Teknik Immobilisasi Terbaik

Disiapkan plat silika gel ukuran 2 x 2 cm yang serta reagen identifikasi urea sebanyak 0,5 mL. Reagen tersebut kemudian diimmobilisasikan di atas plat dengan variasi teknik yaitu secara penotolan, pelapisan dan penyemprotan sampai reagen terserap seluruhnya. Dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan *hairdryer*. Ditetesi plat yang telah kering dengan sampel simulasi urea menggunakan pipet tetes. Plat dipanaskan dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit. Dihitung waktu respon serta diamati kejelasan dari respon warna yang terbentuk pada masing-masing plat, sehingga diketahui teknik immobilisasi terbaik. Respon yang dihasilkan oleh deteksi adanya urea dalam sampel adalah berupa bercak

warna merah muda yang akan tampak pada permukaan plat. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

#### E. Penentuan Suhu Pemanasan Terbaik

Disiapkan plat silika gel ukuran 2 x 2 cm sertareagen identifikasi urea sebanyak 0,5 mL. Diimmobilisaikan ke atas plat silika gel sampai reagen terserap seluruhnya dengan teknik adsorpsi terbaik yang didapat. Plat lalu dikeringkan dengan *hairdryer*. Ditetesi plat dengan sampel simulasi urea menggunakan pipet tetes. Plat didiamkan 5 menit kemudian dipanaskan dalam oven dengan variasi suhu pemanasan; 35; 65; dan 100 °C selama 30 menit. Dihitung waktu respon serta diamati kejelasan dari respon warna yang terbentuk pada masing-masing plat, sehingga diketahui suhu pemanasan terbaik. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

#### F. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara langsung dengan mengamati hasil penelitian berupa sensor yang telah berubah warna setelah ditetesi urea yang dilakukan secara berulang. Sensor tersebut kemudian dipotret menggunakan kamera dan dianalisis warna yang timbul berdasarkan model warna RGB menggunakan *adobe photoshop CS5* sehingga menjadi data numerik untuk selanjutnya data diolah dengan *microsoft excel 2013*.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

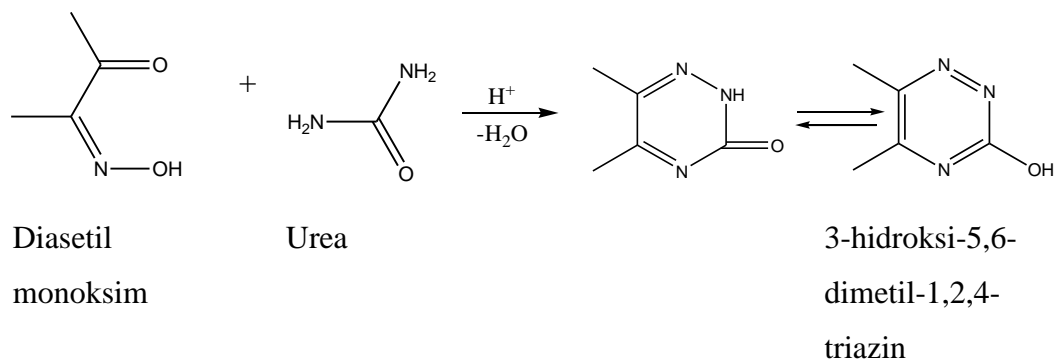
Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan sebuah sampel simulasi untuk menggantikan sampel serum darah penderita penyakit gangguan fungsi ginjal. Konsentrasi normal urea dalam darah adalah 5 – 25 mg/dL (Shanmugam *et al.*, 2010) atau setara dengan 0,8 – 4 mmol/L sehingga untuk mengkondisikan sampel seperti pada penderita kelainan fungsi ginjal pada umumnya yaitu dengan konsentrasi sampel simulasi yang dibuat jauh lebih tinggi dari kadar normal tersebut yaitu sebesar 100 mmol/L.

#### A. Penentuan Teknik Immobilisasi Terbaik

Immobilisasi reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida (DAM-TSC) dan reagen asam secara adsorpsi pada plat silika gel ini dilakukan melalui tiga variasi teknik yaitu secara penotolan, pelapisan dan penyemprotan untuk mengetahui teknik immobilisasi yang menghasilkan sensor dengan kinerja yang baik. Plat silika gel yang awalnya

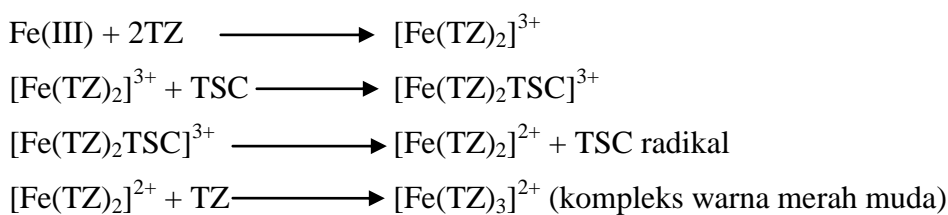
berwarna putih pada permukaannya tidak mengalami perubahan warna meskipun telah terimmobilisasi campuran reagen tersebut karena campuran reagen tidak berwarna sehingga tidak mempengaruhi warna plat.

Plat silika gel yang awalnya berwarna putih kemudian berubah menjadi merah muda setelah ditetesi sampel buatan urea dan dilakukan pemanasan. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi antara reagen DAM, TSC, reagen asam dan urea yang menghasilkan suatu kompleks berwarna merah muda. Dugaan reaksi yang berlangsung adalah sebagai berikut (Beale dan Croft, 1961):



**Gambar 1.** Reaksi kondensasi diasetil monoksिम dan urea menghasilkan 1,2,4-triazin tersubstitusi

Triazin (TZ) yang terbentuk tersebut kemudian bereaksi lebih lanjut dengan tiosemikarbazida (TSC) dalam beberapa rangkaian reaksi dan membentuk kompleks akhir berwarna merah muda berdasarkan persamaan berikut (Ratnam dan Anapindi, 2012):



Hasil penentuan teknik immobilisasi terbaik ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 kejelasan warna akhir ditinjau dari nilai  $\Delta mean$  RGB masing-masing plat dengan variasi teknik immobilisasi, intensitas warna mengalami sedikit peningkatan dari hasil adsorpsi secara penyemprotan, pelapisan kemudian penotolan akan tetapi dengan selisih nilai yang tidak jauh berbeda akan tetapi nilai paling tinggi dihasilkan pada teknik immobilisasi secara penyemprotan yaitu sebesar 72. Di samping

itu, plat dengan teknik adsorpsi secara penotolan memiliki warna yang relatif lebih rata dibandingkan pelapisan maupun penyemprotan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa teknik immobilisasi terbaik yang dihasilkan adalah secara penotolan ditinjau dari waktu respon serta respon warna terbaik yang diberikan.

**Tabel 1.** Hasil penentuan teknik immobilisasi terbaik

No	Teknik adsorpsi	Waktu respon	$\Delta mean$ RGB
1	Penyemprotan	3 menit	65,778
2	Pelapisan	2 menit	70,444
3	Penotolan	2 menit	72

#### B. Penentuan Suhu Pemanasan Terbaik

Reaksi antara DAM-TSC, reagen asam dan urea berlangsung sangat lambat dalam keadaan normal sehingga pemanasan penting untuk dilakukan agar reaksi dapat berlangsung lebih cepat (Shanmugam *et al.*, 2010). Maka dari itu, dilakukan pula penentuan terhadap suhu pemanasan untuk menghasilkan sensor yang dapat memberikan respon yang terbaik. Variasi suhu yang digunakan adalah 35; 60; dan 100 °C dan teknik immobilisasi yang digunakan adalah teknik immobilisasi terbaik yang telah diperoleh sebelumnya. Suhu pemanasan terbaik ditentukan berdasarkan waktu respon serta kejelasan warna akhir yang terbentuk pada plat. Tabel 2 berikut menunjukkan hasil penentuan suhu pemanasan terbaik.

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa plat dengan suhu pemanasan paling rendah (35 °C) memberikan respon atau perubahan warna sangat lambat yaitu pada 20 menit pemanasan akan tetapi kejelasan warna akhir yang dihasilkan masih sangat rendah dan hampir tidak dapat diamati sedangkan plat dengan suhu pemanasan 60 °C dapat berubah warna pada menit ke 10 pemanasan, warna yang terbentuk sampai 30 menit pemanasan sudah lebih terlihat daripada pada suhu 35 °C. Sementara itu, plat yang dipanaskan pada suhu 100 °C mulai berubah warna pada sekitar menit ke-2 pemanasan dan setelah 30 menit pemanasan, kejelasan warna yang dihasilkan adalah paling tinggi ditinjau dari nilai  $\Delta mean$  RGB yang dihasilkan yaitu sebesar 94,556. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan yang digunakan, dapat mempercepat respon

terbentuknya warna pada plat serta kejelasan warna akhir yang dihasilkan juga semakin meningkat. Maka dari itu dapat dikatakan bahwa suhu pemanasan yang dibutuhkan untuk reaksi antara reagen dan urea untuk menghasilkan warna yang optimum adalah pada 100 °C ditinjau dari waktu respon serta kejelasan warna akhir yang dihasilkan pada sensor.

**Tabel 2.** Hasil penentuan suhu pemanasan terbaik

Suhu			
No	Pemanasan (°C)	Waktu respon	$\Delta$ Mean RGB
1	35	20 menit	76,889
2	60	10 menit	78,778
3	100	2 menit	94,556

#### IV. KESIMPULAN

Teknik immobilisasi terbaik reagen DAM, TSC dan reagen asam pada plat silika gel untuk pembuatan sensor urea secara adsorpsi adalah secara penotolan. Sementara suhu pemanasan terbaik yang menghasilkan respon terbaik pada sensor yang dibuat adalah pemanasan pada suhu 100 °C.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Akcay, A., Turkmen, K., DongWon, L. dan Edelstein C. L. 2010. Update on The Diagnosis and Management of Acute Kidney Injury. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*. 3: 129 – 140.
- Amin, N., Mahmood, R. T., Asad, M. J., Zafar, M. dan Raja, M. 2014. Evaluating Urea and Creatinine Levels in Chronic Renal Failure Pre and Post Dialysis: A Prospective Study. *Journal of Cardiovascular Disease*. Volume 2. Nomor 2.
- Beale, R. N. dan Croft, D. 1961. A Sensitive Method for Colorimetric Determination of Urea. *J. Clin Path.* 14: 418 – 424.
- Eggenstein, C., Borchdat, M., Diekmann, C., Grundig, B., Dumschat, C., Camman, K. dkk. 1999. A Disposable Biosensor for Urea Determination in Blood Based on an Ammonium-Sensitive Transduce. *Biosensors & Bioelectronics*. 14: 33 – 41.

- 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.
- Shanmugam, S, T., Kumar, S. dan Selvarn, K. P. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited.