



**PENGEMBANGAN LAB DALAM KEPINGAN (LDK)
BERBASIS KERTAS UNTUK DETEKSI DARAH
DAN ASAM URAT PADA SAMPEL URIN
SECARA SIMULTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (SI) dan mencapai gelar sarjana Farmasi

Oleh

**Farroh Hayatinnufus Syarifa
NIM 062210101058**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT penciptaku dan Rasulullah pembimbingku;
2. Ummi Farida dan Abi Syamsul Arifin sebagai donatur kasih sayang tanpa batas;
3. Adikku Izza Auliya yang menjadi kebanggaanku;
4. Kekasihku, pendamping hidupku;
5. Guru-guruku di TK Khadijah 33, SDN 1 Bangorejo, SLTPN 1 Cluring, SMAN 1 Genteng dan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Farroh Hayatinnufus Syarifa

NIM : 062210101058

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Deteksi Darah Dan Asam Urat Pada Sampel Urin Secara Simultan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Juni 2010

Yang menyatakan,

Farroh Hayatinnufus Syarifa

NIM 062210101058

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN LAB DALAM KEPINGAN (LDK) BERBASIS
KERTAS UNTUK DETEKSI DARAH DAN ASAM URAT
PADA SAMPEL URIN SECARA SIMULTAN**

Oleh

Farroh Hayatinnufus Syarifa

NIM 062210101058

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Deteksi Darah Dan Asam Urat Pada Sampel Urin Secara Simultan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 2 Juni 2010

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD.

NIP 196902011994031002

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt.

NIP 198204062006042001

Anggota I,

Anggota II,

Afifah Machlaurin, S.Farm., Apt.

NIP 198501262008012003

Fifteen Aprilia Fajrin, S.Farm., Apt.

NIP 198204152006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD.

NIP 196902011994031002

*Pengembangan LDK (Lab Dalam Kepingan) Berbasis Kertas Untuk Deteksi
Darah dan Asam Urat Pada Sampel Urin Secara Simultan*

Farroh Hayatinnufus Syarifa

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

Keberadaan darah dan asam urat dalam urin perlu senantiasa dipantau untuk mengetahui kondisi kesehatan seseorang. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan LDK dengan karakteristik tertentu sebagai sensor kimia yang dapat mendeteksi adanya darah (hematuria) dan asam urat dalam urin secara semikuantitatif dengan penglihatan mata biasa. LDK yang difabrikasi dengan teknik cetak sablon dan diimmobilisasi dengan teknik adsorpsi ini mengandung dua reagen, yaitu *tetramethylbenzidine-cumene hydroperoxide* pada area reagen darah dan kompleks besi-(III)tris-(1,10)-phenantrolin pada area reagen asam urat. Pada area reagen darah terjadi perubahan warna dari biru muda menjadi biru tua karena adanya hemoglobin dalam urin memicu reaksi oksidasi *tetramethylbenzidine* oleh *cumene hydroperoxide*. Sedangkan reaksi reduksi kompleks besi-(III)tris-(1,10)-phenantrolin oleh asam urat dalam urin menimbulkan perubahan warna dari kuning menjadi merah kekuningan. LDK yang dihasilkan dari penelitian ini merupakan alat yang praktis, murah dan cepat untuk mendeteksi pasien hematuria dan gout.

Kata kunci: deteksi semikuantitatif, hematuria, gout, teknik cetak sablon, adsorpsi.

RINGKASAN

Pengembangan LDK (Lab Dalam Kepingan) Berbasis Kertas Untuk Deteksi Darah Dan Asam Urat Pada Sampel Urin Secara Simultan; Farroh Hayatinnufus Syarifa, 062210101058; 2010; 78 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Keberadaan darah dan asam urat dalam urin perlu senantiasa dipantau untuk mengetahui kondisi kesehatan seseorang. Hematuria adalah suatu gejala yang ditandai dengan adanya darah atau sel darah merah (eritrosit) dalam urin. Derajat hematuria tidak selalu sesuai dengan kelainannya, sehingga hematuria harus selalu dipertimbangkan sebagai gejala penyakit yang serius sampai dibuktikan sebaliknya. Sedangkan asam urat merupakan hasil akhir metabolisme purin. Keberadaannya normal ada di dalam darah dan urin namun jika jumlahnya berlebihan maka dapat menimbulkan penyakit gout yang ditandai dengan nyeri sendi dan timbulnya hematuria mikroskopis.

Untuk memonitor kadar darah dan asam urat dalam urin dapat digunakan LDK sebagai sensor kimia dengan karakteristik tertentu yang dapat mendeteksi analit secara semikuantitatif dengan penglihatan mata biasa. LDK yang difabrikasi dengan teknik cetak sablon dan diimmobilisasi dengan teknik adsorpsi ini mengandung dua reagen, yaitu *tetramethylbenzidine-cumene hydroperoxide* pada area reagen darah dan kompleks besi-(III)tris-(1,10)-phenantrolin pada area reagen asam urat. Pada area reagen darah terjadi perubahan warna dari biru muda menjadi biru tua karena adanya hemoglobin dalam urin memicu reaksi oksidasi *tetramethylbenzidine* oleh *cumene hydroperoxide*. Sedangkan reaksi reduksi kompleks besi-(III)tris-(1,10)-phenantrolin oleh asam urat dalam urin menimbulkan perubahan warna dari kuning menjadi merah kekuningan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bahan sablon yang sesuai untuk LDK merupakan campuran tinta pasta karet warna putih dan emulsifier dengan

perbandingan 3:1, serta diwarnai dengan tinta hitam. Sebagai matriks pendukung digunakan kertas saring halus merk 'Whatman'. Kondisi optimum LDK antara lain: volume sampel optimum 80 μL ; volume reagen optimum yaitu 1 μL untuk area reagen darah dan 0,5 μL untuk area reagen asam urat; pH optimum buffer sitrat untuk deteksi darah adalah 5 dan pH optimum buffer sitrat untuk deteksi asam urat adalah 6; konsentrasi optimum reagen deteksi darah yaitu *Tetramethylbenzidine* 20000 ppm dan *Cumene hydroperoxide* 3% serta konsentrasi optimum reagen deteksi asam urat yaitu Kompleks Besi (III) – Tris (1,10-Phenantrolin) 1000 ppm.

Karakteristik LDK sebagai sensor kimia meliputi: daerah linier deteksi darah pada konsentrasi 0,30 - 6,0 ppm dan daerah linier deteksi asam urat pada konsentrasi 400 - 1000 ppm; LDK akurat untuk deteksi darah (% *recovery* 94,53 %) dan akurat untuk deteksi asam urat (% *recovery* 98,27 %); LDK presisi pada deteksi darah konsentrasi 0,30 - 7,50 ppm dan presisi pada deteksi asam urat konsentrasi 400 - 1000 ppm; limit deteksi darah sebesar 0,15 ppm dan limit deteksi asam urat sebesar 100 ppm; limit kuantifikasi darah sebesar 0,30 ppm dan limit kuantifikasi asam urat sebesar 400 ppm; LDK sensitif karena dibutuhkan perbedaan konsentrasi yang kecil untuk menimbulkan perubahan warna yang signifikan, yaitu 1,13 ppm untuk deteksi darah dan 21,74 ppm untuk deteksi asam urat; deteksi LDK tidak terganggu dengan adanya dua komponen matriks terbesar penyusun urin, yaitu urea dan natrium klorida, ditunjukkan dengan perbedaan Δ *mean Blue* relatif kecil (0,2) untuk deteksi darah dan perbedaan Δ *mean Red* relatif kecil (0,9) untuk deteksi asam urat; waktu respon LDK 2 menit untuk deteksi darah dan 5 menit untuk deteksi asam urat; LDK baik disimpan pada suhu dingin $\pm 8^{\circ}\text{C}$ dan tidak lebih dari 2 minggu; LDK sebagai sensor kimia dapat digunakan untuk mengukur kadar darah dan asam urat dalam sampel urin nyata secara simultan, dimana hasil yang diperoleh berupa kadar semikuantitatif.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Deteksi Darah Dan Asam Urat Pada Sampel Urin Secara Simultan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD., atas dana penelitian yang telah diberikan melalui hibah kompetensi yang diperolehnya;
3. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD., selaku Dosen Pembimbing Utama, Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Afifah Machlaurin, S.Farm., Apt., selaku Dosen Penguji I, Fifteen Aprilia Fajrin, S.Farm., Apt., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Ni Wayan Suwandari S.Si., selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi, atas saran-saran dan bantuannya selama penulis mengerjakan penelitian;
5. Kepala dan teknisi Instalasi Laboratorium Patologi Klinik “ELISA” Rumah Sakit Daerah dr. Soebandi Jember, atas bantuannya selama menjalani penelitian di rumah sakit;
6. Rekan kerjaku di Laboratorium Bio & Kemosensor, Nur Rista Windri, Riza Wahyuningtyas, dan Adine Raissa atas bantuan dan kekompakan yang membuatku pantang menyerah;

7. Sahabat seperjuanganku di kampus Farmasi, Maulidia Rahmani, Andhika Restu, Fita Dwi, dan Fandy Zulfikar atas perhatian dan pengertiannya selama menjalani kehidupan di kampus;
8. Iwan, Pandu dan semua pihak yang telah terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 2 Juni 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN BIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
ABSTRAK	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Tentang Asam Urat.....	5
2.2 Metode Analisis Kadar Asam Urat	7
2.2.1 Metode Uricase	7

2.2.2 Metode Kageyama.....	8
2.3 Komplek Besi (III) Tris-(1,10-phenantrolin).....	9
2.3.1 Besi (III)	9
2.3.2 Tris (1,10)-Phenantrolin	10
2.4 Hematuria	12
2.5 Metode Deteksi Hematuria.....	13
2.5.1 Pemeriksaan Mikroskop Urin	13
2.5.2 Metode Benzidin	13
2.6 Reagen Deteksi Hematuria.....	14
2.6.1 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine (TMB).....	14
2.6.2 Cumene hydroperoxide	15
2.7 Tinjauan Tentang Urin.....	16
2.8 Selulosa.....	17
2.9 Teknik Immobilisasi	18
2.9.1 Adsorpsi	19
2.9.2 Entrapment	19
2.9.3 Encapsulasi	20
2.9.4 Crosslinking	20
2.9.5 Ikatan Kovalen	21
2.10 Sensor Kimia	21
2.10.1 Definisi dan Mekanisme Sensor Kimia.....	21
2.10.2 Aplikasi Sensor Kimia	23
2.11 Karakteristik Sensor Kimia	23
2.11.1 Daerah Linier.....	23
2.11.2 Akurasi	23
2.11.3 Presisi	24
2.11.4 Limit Deteksi(LOD) dan Limit Kuantifikasi (LOQ).....	24
2.11.5 Sensitivitas	25
2.11.6 Selektivitas	25

2.11.6 Waktu Respon dan Waktu Pakai.....	25
2.12 Lab Dalam Kepingan (LDK) atau Mikrototal	
Analisis Sistem (μTAS).....	26
2.13 Cetak Sablon.....	27
2.13.1 <i>Screen</i>	27
2.13.2 Rakel.....	27
2.13.3 Meja.....	28
2.13.4 <i>Hair Dryer</i>	28
2.13.5 Film.....	28
2.13.6 Tinta.....	28
2.14 Proses Cetak Sablon.....	28
2.14.1 Pembuatan Desain.....	29
2.14.2 Proses <i>Afdruk</i> Film (<i>Eksposing</i>).....	29
2.14.3 Menyablon.....	30
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	31
3.1 Jenis Penelitian.....	31
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.2.1 Tempat Penelitian.....	31
3.2.2 Waktu Penelitian.....	31
3.3 Rancangan Penelitian.....	31
3.3.1 Rancangan Operasional.....	31
3.3.2 Diagram Alir Penelitian.....	32
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	33
3.4.1 Alat Penelitian.....	33
3.4.2 Bahan Penelitian.....	33
3.5 Prosedur Penelitian.....	33
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	33
3.5.2 Fabrikasi LDK.....	35
3.5.3 Optimasi LDK.....	38

3.5.4 Karakterisasi LDK.....	38
3.5.5 Aplikasi LDK pada Sampel Nyata.....	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1 Kualitas LDK (Lab Dalam Kepingan) Sebagai Sensor Kimia.....	43
4.1.1 Pencetakan LDK dengan Teknik Cetak Sablon.....	44
4.1.2 Proses Immobilisasi Pada LDK	44
4.2 Optimasi LDK	44
4.2.1 Optimasi Volume Sampel	44
4.2.2 Optimasi Volume Reagen	45
4.2.3 Optimasi Konsentrasi Reagen	46
4.2.4 Optimasi pH Buffer.....	49
4.3 Karakteristik LDK Sebagai Sensor Kimia	51
4.3.1 Daerah Linier.....	51
4.3.2 Akurasi	55
4.3.3 Presisi	59
4.3.4 Limit Deteksi.....	61
4.3.5 Limit Kuantifikasi	62
4.3.6 Sensitivitas	63
4.3.7 Selektivitas	64
4.3.8 Waktu Respon	65
4.3.9 Kondisi Penyimpanan dan Waktu Pakai	67
4.4 Aplikasi LDK pada Sampel Urin Nyata.....	69
BAB 5.KESIMPULAN DAN SARAN	73
5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Sifat – sifat besi (Fe)	14
4.1 Optimasi konsentrasi TMB dan <i>cumene hydroperoxide</i>	47
4.2 Optimasi konsentrasi kompleks besi (III) – tris (1,10-phenantrolin)..... ..	48
4.3 Hasil pengukuran nilai Δ <i>mean Blue</i> untuk daerah linier deteksi darah.....	52
4.4 Hasil pengukuran nilai Δ <i>mean Red</i> untuk daerah linier deteksi asam urat	54
4.5 Data akurasi LDK	56
4.6 Data presisi deteksi darah pada LDK.....	59
4.7 Data presisi deteksi asam urat pada LDK.....	60
4.8 Hasil pengukuran nilai Δ <i>mean Blue</i> untuk selektivitas deteksi darah.....	64
4.9 Hasil pengukuran nilai Δ <i>mean Red</i> untuk selektivitas deteksi asam urat	64
4.10 Data waktu respon LDK pada area deteksi darah	65
4.11 Data waktu respon LDK pada area deteksi asam urat.....	66
4.12 Data waktu pakai.....	68
4.13 Tabel semikuantitatif kadar darah dalam urin.....	69
4.14 Tabel semikuantitatif kadar asam urat dalam urin	70
4.15 Hasil deteksi darah dan asam urat LDK terhadap sampel nyata.	71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur molekul asam urat	5
2.2 Jalur utama metabolisme dan transpor asam urat	6
2.3 Reaksi peruraian asam urat oleh enzim uricase	8
2.4 Reaksi H ₂ O ₂ dengan methanol	8
2.5 Reaksi formaldehyde dengan acetyl aceton dan amonia.....	9
2.6 Struktur 1,10-phenantrolin	11
2.7 Reaksi warna kompleks besi(III)-tris(1,10-phenantrolin) dan asam urat	12
2.8 Reaksi warna metode benzidin	14
2.9 Struktur 3,3,5,5-tetramethylbenzidin	14
2.10 Struktur <i>cumene hydroperoxide</i>	15
2.11 Reaksi warna deteksi darah dalam urin.....	15
2.12 Ikatan β-glikosida dalam selulosa	18
2.13 Teknik adsorpsi	19
2.14 Teknik <i>entrapment</i>	20
2.15 Teknik encapsulasi	20
2.16 Teknik <i>crosslinking</i>	21
2.17 Teknik ikatan kovalen	21
2.18 Mekanisme kerja sensor kimia.....	22
2.19 Skematik dari μTAS dengan detektor optik dan <i>lab-on-a-chip</i>	26
2.20 Teknik menyablon.....	30
3.1 Diagram alir penelitian.....	32
3.2 Cara peletakan <i>screen</i> di atas meja sablon.....	36
3.3 Cara peletakan tinta.....	36

3.4	Skema pembuatan LDK	37
3.5	Model LDK yang siap digunakan	37
4.1	Bentuk LDK dari hasil cetak sablon	43
4.2	LDK yang sudah diimobilisasi reagen	44
4.3	Optimasi volume sampel pada LDK.....	45
4.4	Optimasi volume reagen pada LDK.....	46
4.5	Hasil optimasi pH larutan Buffer sebelum (a) dan setelah (b) direaksikan dengan standar hemoglobin 7,5 ppm	50
4.6	Hasil optimasi pH larutan Buffer sebelum (a) dan setelah (b) direaksikan dengan standar asam urat 1000 ppm	51
4.7	Garis persamaan regresi deteksi darah.....	53
4.8	Garis persamaan regresi deteksi asam urat	55
4.9	Perubahan warna reagen dengan blanko (a), standar hemoglobin 0,15 ppm (b) dan standar hemoglobin 0,1 ppm (c)	61
4.10	Perubahan warna reagen dengan blanko (a), standar asam urat 100 ppm (b) dan standar asam urat 10 ppm (c).....	62
4.9	Garis persamaan regresi deteksi darah.....	57
4.10	Garis persamaan regresi deteksi asam urat	59
4.11	Hasil penyimpanan : (a) Ruangan (b) Lemari es	67

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Persetujuan (<i>Informed Consent</i>)	79
B. Lembar Pemeriksaan di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik “ELISA”	80
C. Alat dan Bahan Sablon	81
D. Bahan Penelitian	82
E. Kemasan LDK Sebagai Alat Deteksi Darah dan Asam Urat	83
F. Perhitungan RSD Untuk Presisi	84
G. Perhitungan % <i>Recovery</i> Untuk Akurasi.....	94
H. Konversi Erytrosit-Hemoglobin Pada Pengujian Terhadap Sampel Nyata.....	99
I. Hasil Urinalysis Pasien di Laboratorium Patologi Klinik “ELISA” RSUD Dr. Soebandi Jember.....	101