



**PENGEMBANGAN SENSOR POTENSIOMETRI ASAM URAT
BERBASIS IMOBILISASI *CROSS-LINKING* KATALASE-
URIKASE PADA MEMBRAN NATA DE COCO
MENGUNAKAN TRANSDUSER KAWAT TUNGSTEN**

SKRIPSI

Oleh:

**Anastasia Arlie Wijaya
NIM. 031810301101**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2009**



**PENGEMBANGAN SENSOR POTENSIOMETRI ASAM URAT
BERBASIS IMOBILISASI *CROSS-LINKING* KATALASE-
URIKASE PADA MEMBRAN NATA DE COCO
MENGUNAKAN TRANSDUSER KAWAT TUNGSTEN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Anastasia Arlie Wijaya
NIM. 031810301101**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2009**

PERSEMBAHAN

☞ *Bapa di surga dan Tuhan Yesus Kristus Juru selamatku, Sahabatku, Cinta sejatiku, yang selalu memberkati, menyertai dan membimbingku selama ini saat aku jatuh dan bangkit, terima kasih karna Engkau telah menyelesaikan semua ini dengan sangat indah dan sempurna.*

☞ *Bunda Maria, terima kasih atas segala doamu, yang selalu menguatkanmu sampai saat ini.*

Karya tulis skripsi ini kupersembahkan untuk:

☞ Papaku **R. Agus D.C** dan Mamaku **Stefana P** yang tercinta, terima kasih atas semua cinta, kasih sayang, kesabaran, pengertian, kepercayaan dan doamu yang selalu menyertai aku sehingga aku dapat mempersembahkan karya ini sebagai bentuk balasan cintaku.

☞ Almarhum Kakekku tercinta **Giyo Siswanto** (Pak Puh), akhirnya aku dapat mewujudkan harapanmu.... Aku merindukanmu dan aku sangat menyayangimu. Juga untuk **Bu Puh** dan kakek-nenekku **Joyo Sukirno**, terima kasih atas kasih sayang dan doamu.

☞ Adekku tersayang **F. Feli Aneksa W** makasih atas semua dukungan, kasih sayang yang membuatku mampu untuk selalu berjuang.

☞ **Teofilus Kukuh K**, yang selalu setia menemani dan mendampingi dengan segala kesabaran, pengertian dan kasih sayangmu, terimakasih atas semua yang indah itu.

☞ Seluruh keluarga besarku **Pakdhe-Budhe, Om-Bulik, mas-mbakku**, dan semua sepupuku (**Aris-Yanik-Vicna-Indra-Tio-Sigit-Cahyo-Jelly-Ian-Anang-Lingga** dan si kecil **Ceysa dan Vita**) dan keponakanku (**Lio&Dimas**) makasih atas keceriaannya saat aku sumpek & atas semua doa & kasih sayangnya.

☞ **Andi K.** (thanks atas doa & dukungannya), **mas Joko** (yang selalu menyemangati), **mas Danang** (atas semua waktu & kehadiranmu), makasih atas semua kasih sayang kalian.

☞ **Bapak-Ibu Guru** ku, di TK Budi Asih, SDN I Nangsri, SLTPN I Manisrenggo, SMUN I Klaten dan semua **Dosen** di Jurusan Kimia FMIPA UNEJ, terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala ilmu dan pengalaman yang telah engkau berikan.

☞ Semua **Sahabat** dan **teman-temanku**, trimakasih atas persahabatan yang indah yang selalu membuatku merasa lebih baik.

☞ **Almamaterku tercinta**, Kimia FMIPA Universitas Jember.

MOTTO

“Datanglah kepada-Ku, kalian semua yang letih lesu dan berbeban berat.

AKU akan memberikan kelegaan kepadamu”

~ Matius 11:28 ~

“Mintalah, maka akan diberikan kepadamu; carilah, maka kamu akan mendapat; ketoklah, maka pintu akan dibukakan bagimu”

~ Lukas 11:9 ~

” SUATU KEMENANGAN BESAR, MENUNTUT RESIKO YANG BESAR “

~ Sun Tzu ~

“Hanya dengan ketulusan dan kepasrahan, yang akan membuat kita mampu menghadapi apapun”

~ arlie ~

***“Ketika kita hanya berdiri, jalan yang panjang itu tak akan pernah terlewati
Ketika kita tidak melangkah, kita tidak akan pernah sampai pada tujuan
yang kita inginkan”***

~ arlie ~

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anastasia Arlie Wijaya

NIM : 031810301101

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pengembangan Sensor Potensiometri Asam Urat Berbasis Imobilisasi Cross-Linking Katalase-Urikase pada Membran Nata de Coco Menggunakan Transduser Kawat Tungsten* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Januari 2009

Yang menyatakan,

Anastasia Arlie Wijaya

NIM. 031810301101

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN SENSOR POTENSIOMETRI ASAM URAT
BERBASIS IMOBILISASI *CROSS-LINKING* KATALASE-
URIKASE PADA MEMBRAN NATA DE COCO
MENGUNAKAN TRANSDUSER KAWAT TUNGSTEN**

Oleh

Anastasia Arlie Wijaya

NIM. 031810301101

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama (DPU) : Asnawati, S.Si, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota (DPA) : A. A. Istri Ratnadewi S.Si, M.Si

vi

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengembangan Sensor Potensiometri Asam Urat Berbasis Imobilisasi Cross-Linking Katalase-Urikase pada Membran Nata de Coco Menggunakan Transduser Kawat Tungsten* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari :

tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Asnawati, S.Si., M.Si.
NIP. 132 240 146

A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.
NIP. 132 162 523

Anggota I,

Anggota II,

Drs. Zulfikar, Ph.D.
NIP. 131 660 785

Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D.
NIP. 132 056 180

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D.
NIP. 131 592 357

RINGKASAN

Pengembangan Sensor Potensiometri Asam Urat Berbasis Imobilisasi Cross-Linking Katalase-Urikase pada Membran Nata de Coco Menggunakan Transduser Kawat Tungsten; Anastasia Arlie Wijaya, 031810301101; 2009: 69 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Asam urat merupakan senyawa hasil akhir dari metabolisme purin melalui jalur pembentukan yang didahului dengan adanya pembentukan hipoxanthin dan xanthin yang kemudian mengalami oksidasi yang dikatalis oleh enzim xanthin oksidase menjadi asam urat yang akhirnya akan diekskresi oleh ginjal. Pendeteksian asam urat dengan teknik elektrokimia mendapat perhatian yang cukup besar mengingat cara pengukurannya lebih sederhana dan dapat diminiaturisasikan. Matos *et al.* (2000), mengembangkan elektroda untuk sensor asam urat dengan mendeposisi palladium dalam elektroda emas dan dipergunakan sebagai elektroda kerja. Berdasarkan uraian tersebut, maka dikembangkan sensor asam urat dengan menggunakan metode potensiometri.

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui komposisi optimum imobilisasi urikase-katalase *cross-linking* dengan menggunakan asam 3-merkpto propionat (3-MPA) dan selulosa nata de coco untuk merespon asam urat; (2) mengetahui pH optimum dari beberapa jenis buffer (tris-HCl, fosfat dan asetat) dalam pengukuran asam urat; (3) mengetahui karakteristik (*linier range*, sensitivitas, reproduibilitas, limit deteksi dan *life time*) kinerja sensor untuk mendeteksi asam urat.

Sensor didesain dengan melekatkan membran nata de coco yang terimobilisasi katalase-urikase pada elektroda kawat tungsten. Teknik imobilisasi untuk kedua enzim tersebut menggunakan teknik *cross-linking* dengan 3-MPA sebagai *cross-linking agent*. Pengukuran kadar asam urat dilakukan secara potensiometri dengan

menggunakan elektroda kerja kawat tungsten terlapis membran yang telah terimobilisasi katalase-urikase dan elektroda pembanding Ag/AgCl.

Hasil penelitian ini menunjukkan komposisi optimum membran yang meliputi berat nata de coco 0,8 gram, volume 3-MPA 1 mL, volume katalase 1 mL dan volume urikase 1 mL. Kondisi optimum pengukuran untuk merespon asam urat diperoleh dengan menggunakan buffer fosfat pH 7. Hasil optimasi selanjutnya digunakan dalam pengukuran respon potensial asam urat dengan konsentrasi $0,1 \times 10^{-3}$ - 1×10^{-3} M untuk menentukan karakteristik sensor tersebut.

Karakteristik sensor yang diperoleh meliputi *linier range* pada konsentrasi $0,1 \times 10^{-3}$ - 1×10^{-3} M dengan nilai koefisien regresi sebesar 0,985, sensitivitas sebesar 47,433 mV/dekade, limit deteksi sebesar $9,87 \times 10^{-5}$ M, reproduibilitas sebesar 2,33-8,02%, dan *life time* selama 4 hari. Persamaan Nerstian yang diperoleh sebesar $E(\text{mV}) = 47,4 \log[\text{asam urat}] + 319,3$. Hasil dari penelitian ini juga didapatkan nilai K_m enzim bebas sebesar $1,47 \times 10^{-4}$ M dan V_{\max} 16,39 M/detik, sedangkan untuk enzim terimobilisasi nilai K_m yang diperoleh sebesar $2,99 \times 10^{-4}$ M dan V_{\max} 14,93 M/detik.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah Bapa dan Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan kasih karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis (skripsi) yang berjudul *Pengembangan Sensor Potensiometri Asam Urat Berbasis Imobilisasi Cross-Linking Katalase-Urikase pada Membran Nata de Coco Menggunakan Transduser Kawat Tungsten* dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
2. Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
3. Ibu Asnawati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama, Ibu A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D., selaku Dosen penguji I dan Bapak Drs. Siswoyo, MSc.,Ph.D., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk penyempurnaan skripsi ini;
4. Bapak Suwardiyanto, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan masukan, motivasi dan semangat dalam penyelesaian skripsi sekaligus penyelesaian studi di Jurusan Kimia;
5. Ketua Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia FMIPA UNEJ, dan semua teknisi: mas Maryono, mas Darma, mas Samsul, mas Dul dan mbak Sari yang telah banyak membantu selama penelitian;
6. Bapak Agung, Bapak Neran, Bapak Tri dan semua dosen Jurusan Kimia FMIPA UNEJ atas semua bantuan, dukungan dan masukan sehingga skripsi dan studi penulis terselesaikan dengan baik.

7. Sahabat&teman seperjuanganku Miftah&Yuzkil atas semua bantuan, semangat, keceriaan, kerja sama dan perjuangannya untuk penyelesaian skripsi penulis.
8. Sahabatku Ayu yang telah banyak memberi waktu dan semangat untukku, Atik, Andi, Icha, Ical, Lilik, Afif (yang dah banyak nemenin aku lembur), mbak Finish, Cinozt & One (di Klaten) atas semua bantuan dan doanya.
9. Teman-teman kimia 2003(Dian-Ribut-Dita-Laode-Sumar-Meta-Laras&all), kimia 2002(mas Eko-Hari-Ricoh-Wahid-Ali-Rusman&mb Anis), kimia 2004(*especially* analitik groups), mas Naqib, mas Anton, mas Rohmat, mbak Dwik, dan semua teman di Kimia dan Matematika yang telah banyak memberikan motivasi sehingga skripsi dan studi penulis terselesaikan dengan baik.
10. Teman-teman kos Halmahera 3 (mbak Diah, Meme, Luluk, Junedt dan Mita) yang telah banyak membantu dan memberi pinjaman komputer dan printer untuk penyelesaian skripsi penulis.
11. Mas Budi dan Bu Hartik di bagian administrasi dan keuangan jurusan Kimia, atas semua bantuannya selama ini. Mohon maaf telah banyak merepotkan.
12. Dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Januari 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biosensor	5
2.2 Enzim	7
2.2.1 Katalase	9
3.2.1 Urikase	10
2.3 Asam Urat	11
2.4 Biosensor Asam Urat	12
2.5 Imobilisasi Enzim	14
2.6 Teknik Cross-linking	17

2.7	Membran Nata de Coco.....	17
2.8	Asam 3-Merkapto Propionat (3-Mercaptopropionic Acid, 3-MPA)	19
2.9	Elektrokimia	21
2.10	Potensiometri.....	21
2.11	Elektroda Kawat Tungsten Terlapis.....	25
2.12	Potensiometrik Biosensor	26
BAB 3. METODE PENELITIAN		
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2	Alat dan Bahan	
3.2.1	Alat.....	28
3.2.1	Bahan.....	28
3.3	Diagram Alir Penelitian.....	29
3.3.1	Diagram Alir Pembuatan Membran	
a.	Imobilisasi Membran Metode 1.....	30
b.	Imobilisasi Membran Metode 2.....	30
3.3.2	Diagram Alir Pembuatan Elektrode Kerja.....	31
3.3.3	Diagram Alir Pengukuran Potensial dengan Optimasi Jenis Buffer dan pH	31
3.4	Prosedur Kerja	
3.4.1	Penyiapan Larutan Buffer	32
3.4.2	Penyiapan Larutan Asam Urat	32
3.4.3	Pemurnian Nata de Coco.....	32
3.4.4	Hidrolisis Nata de Coco	32
3.4.5	Esterifikasi Selulosa Nata de Coco dengan 3-Mercaptopropionic Acid (3-MPA).....	33
3.4.6	Imobilisasi Cross-Linking Bilayer Enzim Katalase-Urikase Pada Selulosa Nata-3MPA	33
3.4.7	Uji Karakteristik Membran	35

3.4.8 Uji Aktivitas Enzim Urikase-Katalase Bebas dan Terimobilisasi	35
3.4.8 Pembuatan Sensor Asam Urat pada Elektroda Kawat Terlapis.....	35
3.4.9 Pengukuran Potensial Asam Urat	36
3.4.10 Karakteristik Sensor secara Potensiometri.....	37

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Membran Nata de Coco Murni.....	41
4.2 Membran Nata de Coco Terhidrolisis.....	43
4.3 Membran Nata de Coco Teresterifikasi.....	45
4.4 Imobilisasi Enzim Urikase-Katalase pada Selulosa Nata-MPA.....	47
4.5 Aktivitas Urikase-Katalase Bebas dan Terimobilisasi.....	49
4.6 Keadaan Optimum Sensor	51
4.6.1 Respon Potensiometri	51
4.6.2 Optimasi Membran Nata de Coco.....	53
4.6.3 Optimasi 3-MPA	54
4.6.4 Optimasi Urikase.....	55
4.6.5 Optimasi Katalase	56
4.6.6 Optimasi Jenis Buffer.....	57
4.6.7 Optimasi pH.....	59
4.7 Karakteristik Sensor Potensiometri Asam Urat	60
4.7.1 <i>Linier Range</i>	60
4.7.2 Sensitivitas	61
4.7.3 Limit Deteksi.....	61
4.7.4 Reprodusibilitas	62

4.7.5 <i>Life Time</i>	62
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Skema Umum Sistem Biosensor	5
2.2 Skema Pembentukan dan Struktur Asam Urat	12
2.3 Teknik Imobilisasi Adsorpsi	15
2.4 Teknik Imobilisasi Entrapment	15
2.5 Teknik Imobilisasi <i>Cross-linking</i>	16
2.6 Teknik Imobilisasi Ikatan Kovalen	16
2.7 Teknik Imobilisasi <i>Microencapsulasi</i>	17
2.8 Struktur Umum Selulosa	18
2.9 Struktur 3-MPA	20
2.10 Pola <i>Cross-linking</i> Selulosa Nata-MPA-Enzim	20
2.11 Sketsa Peralatan Potensiometri	24
3.1 Elektroda Kawat Terlapis	36
3.2 Pengukuran Beda Potensial dengan Elektroda Kerja	36
3.3 Pengukuran Respon (mV) dari Sensor yang Dikembangkan	37
4.1 Spektra FTIR Membran Nata de Coco Murni	43
4.2 Spektra FTIR Membran Nata de Coco Terhidrolisis	45
4.3 Spektra FTIR Membran Nata de Coco Teresterifikasi	46
4.4 Spektra FTIR Membran Nata de Coco Terimobilisasi Enzim	
a. Spektra FTIR <i>Single Layer</i>	48
b. Spektra FTIR <i>Double Layer</i>	48
4.5 Kurva Aktivitas Urikase-Katalase Bebas dan Terimobilisasi	50
4.6 Mekanisme Reaksi Dekomposisi H₂O₂ oleh Katalase	52
4.7 Tipe Respon Pengukuran Potensial	53
4.8 Grafik Optimasi Berat Nata De Coco	54

4.9 Grafik Optimasi Volume 3-MPA.....	55
4.10 Grafik Optimasi Volume Urikase.....	56
4.11 Grafik Optimasi Volume Katalase.....	57
4.12 Grafik Optimasi Jenis Buffer Asetat.....	59
4.13 Grafik Optimasi pH 5-9.....	60
4.14 Kurva Kalibrasi Asam Urat Konsentrasi.....	60
4.15 Grafik <i>Life Time</i> Sensor.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Grafik Respon Potensial.....	70
B. Data Pengukuran Optimasi Berat Nata, Volume 3-MPA, Volume Urikase, Volume Katalase, Jenis Buffer, pH Buffer dan Kalibrasi.....	74
C. Prosedur Preparasi Bahan dan Reagen	77
D. Perhitungan Limit Deteksi dan Reprodusibilitas	81
E. Perhitungan Nilai Km dan Vmax Enzim Bebas dan Terimobilisasi.....	83