

PENGARUH VARIASI REAGEN ASAM DALAM FABRIKASI SENSOR UREA BERBASIS REAGEN *DIACETYL MONOXIME- THIOSEMICARBAZIDE* SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL

H.I Badi'ah; B. Fauziyah; H. Sugihantoro
Jurusan Kimia, Fakultas Saintek, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Email: hayniemchan2@gmail.com

Abstrak

Dewasa ini, penelitian tentang sensor mulai banyak dikembangkan dalam bidang kesehatan terutama dalam hal analisis klinis. Sensor urea merupakan salah satu contoh aplikasi sensor yang dikembangkan dalam bidang analisis klinis. Sampai saat ini, pada umumnya analisis klinis dengan sampel darah atau urin masih terbatas dilakukan di laboratorium sentral rumah sakit yang dilengkapi dengan peralatan canggih, dilakukan oleh petugas yang terdidik dalam, serta memerlukan biaya yang relatif tidak murah. Dengan adanya sensor urea yang dinilai lebih efektif, efisien dan ekonomis diharapkan dapat membantu masyarakat dalam hal skrining awal adanya kerusakan pada ginjal. Sensor urea mampu mendeteksi kadar urea dalam darah sehingga dapat dijadikan sebagai skrining awal adanya kerusakan pada ginjal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui reagen asam terbaik dalam pembuatan sensor urea. Pembuatan sensor urea dilakukan dengan mengintegrasikan reagen *Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide* dengan reagen asam pada sebuah material pendukung berupa plat silika gel. Penelitian tentang pemeriksaan kadar urea dalam darah telah banyak dilakukan seperti pada Fearon (1939), Rahmatullah dan Boyde (1980), serta Coulombe dan Feavru (1963), namun penelitian-penelitian ini masih terbatas dilakukan dalam bentuk larutan. Sensor urea yang mampu mendeteksi urea dalam sampel akan memberikan informasi dengan adanya perubahan warna yang menunjukkan bahwa terdapat urea dengan kadar tertentu dalam sampel tersebut. Warna yang dihasilkan oleh sensor akan dianalisis nilai RGBnya menggunakan *Adobe Photoshop CS5* untuk mengetahui intensitas warna yang dihasilkan. Dalam penelitian yang telah kami lakukan didapatkan jenis reagen asam terbaik yang digunakan dalam pembuatan sensor adalah asam fosfat dan asam sulfat. Dimana dengan adanya kombinasi kedua asam ini akan menghasilkan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 97,89 dengan waktu respon mulai terbentuknya warna adalah 3 menit 12 detik dan kestabilan warna yang didapatkan adalah 5 hari.

Kata Kunci: sensor urea, *diacetyl monoxime*, *thiosemicarbazide*, asam sulfat, asam fosfat, RGB

I. PENDAHULUAN

Penelitian sensor sampai saat ini masih merupakan suatu topik yang sangat luas dan melibatkan berbagai disiplin ilmu. Aplikasi dari teknologi sensor sendiri dapat ditemui dalam banyak bidang antara lain dalam bidang kesehatan dan analisis klinis. Sampai saat ini, pada umumnya analisis klinis dengan sampel darah atau urin masih terbatas dilakukan di laboratorium sentral rumah sakit yang dilengkapi dengan peralatan yang canggih, dilakukan oleh petugas yang terdidik, serta memerlukan biaya yang relatif tidak murah. Hal ini menyebabkan kesulitan besar bagi masyarakat yang tinggal dipedesaan dan jauh dari rumah sakit besar. Namun dengan kemajuan di bidang teknologi saat ini, dimungkinkan untuk melakukan analisis klinis menggunakan sensor yang dapat dilakukan di laboratorium ataupun puskesmas yang ada di desa-desa, lebih jauh lagi analisis atau pengukuran ini bisa dilakukan oleh si pasien sendiri.

Sensor urea merupakan salah satu contoh aplikasi sensor dalam bidang analisis klinis dan kesehatan. Sensor urea ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya urea dalam serum darah. Urea merupakan produk sisa hasil metabolisme protein yang diekskresikan melalui urin oleh ginjal. Urea dalam darah atau yang sering disebut dengan BUN (Blood Urea Nitrogen) dalam keadaan normal memiliki kadar 5-25 mg/dL. Peningkatan kadar urea dalam darah dapat disebabkan oleh meningkatnya aktivitas katabolisme protein jaringan, pemecahan protein yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya gagal ginjal (Shanmugam, 2010). Gagal ginjal terjadi ketika ginjal tidak mampu lagi mengangkut hasil metabolisme tubuh atau melakukan fungsi regulernya dalam hal filtrasi. Pada penderita gagal ginjal yang parah dapat mengalami komplikasi seperti stroke, jantung koroner, dan penyakit pembuluh darah perifer. Berdasarkan data mortality WHO South East Asia Region pada tahun 2010-2012 penderita penyakit gagal ginjal terdapat 250.217 jiwa (WHO, 2013). Sedangkan di Indonesia pada tahun 2009 tercatat sebanyak 5.450, tahun 2010 sebanyak 8.034 penderita, pada tahun 2011 meningkat sebanyak 12.804 penderita, dan pada tahun 2012 meningkat menjadi 24.141 penderita (Indonesia Renal Registry, 2012).

Metode penentuan kadar urea dalam darah ini telah dikembangkan sejak jaman dahulu kala, akan tetapi pada masa itu pemeriksaannya masih terbatas dilakukan di laboratorium dengan penggunaan reagen-reagen tertentu. Metode penentuan urea yang

ditemukan oleh Fearon dan dalam penelitiannya Feraon menggunakan urea yang direaksikan dengan diasetil pada suasana asam kuat akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah muda. Namun banyak kekurangan dalam metode ini seperti reaksi yang terjadi dalam medium asam kuat yang dapat mengalami pembentukan *hidroxylamine* yang dapat menurunkan sensitivitas analisis dan kestabilan warna yang dibentuk. Berbagai variasi reagen asam telah diuji dalam reaksi untuk efektivitasnya dalam menghilangkan *hydroxylamine* seperti dalam penelitian Rahmatullah (1980).

Berdasarkan alasan-alasan yang sudah dipaparkan diatas, dilakukan variasi reagen asam guna mengetahui jenis reagen asam terbaik yang kemudian diimmobilisasikan secara adsorpsi pada plat silka gel. Sehingga didapatkan sebuah sensor urea yang memiliki kestabilan warna yang tinggi dan dapat memenuhi kebutuhan masyarakat akan piranti kesehatan yang murah, efektif dan efisien dalam hal pemeriksaan kadar urea dalam darah. Sensor yang dibuat pada penelitian ini dapat mendeteksi urea dari perubahan warna yang ditimbulkan saat sampel yang berupa larutan urea diteteskan pada plat yang telah terimmobil reagen *Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide* dan reagen asam. Sementara warna yang dihasilkan dianalisis secara digital berdasarkan model warna RGB.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan-Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah urea, diacetyl monoxime, thiosemicarbazide, $FeCl_3$, asam sulfat, asam fosfat, asam asetat, asam klorida serta plat silika gel sebagai matriks.

B. Pembuatan Reagen Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide (Shanmugam, 2010)

Diacetyl monoxim, dan Tiosemikarbazidamasing-masingditimbang sebanyak 0,1 gram dan 0,02gram. Kedua bahan dicampur dan dilarutkan ke dalam 50 mL aquades di beaker glass 100 mL. Larutan dipindahkan ke labu takar 100 mL lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

C. Pembuatan Reagen Asam

Reagen asam terdiri dari 3 variasi, yaitu asam fosfat-asam sulfat, asam fosfat-asam asetat, dan asam sulfat-asam klorida. Asam fosfat (H_3PO_4) dan asam sulfat (H_2SO_4) pekat masing-masing dipipet sebanyak 1 mL dan 6 mL ke dalam beaker glass 100 mL lalu ditambahkan 75 mL aquades. Campuran tersebut didinginkan dan ditambahkan 0,1 mL larutan FeCl_3 . Larutan diencerkan dengan aquades di labu takar 100 mL sampai tanda batas dan dihomogenkan. Dilakukan langkah yang sama pada jenis variasi reagen asam yang lain.

D. Immobilisasi Reagen Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide dan Reagen Asam pada Plat Silika Gel dalam Pembuatan Sensor Urea secara Adsorpsi

Dilakukan terlebih dahulu penentuan jenis reagen asam terbaik dengan prosedur sebagai berikut; disiapkan plat silika gel ukuran 2×2 cm yang telah diketahui beratnya. Disiapkan reagen identifikasi urea sebanyak 30 mL yang merupakan campuran reagen DAM-TSC (15 mL) dan reagen asam H_2SO_4 dan H_3PO_4 (15 mL). Diimmobilisasikan reagen identifikasi urea tersebut ke atas plat silika gel dengan teknik adsorpsi terbaik lalu plat ditimbang dengan neraca analitik. Dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan teknik pengeringan terbaik, lalu plat silika gel ditimbang dengan neraca analitik. Ditetesi plat dengan setetes sampel larutan urea menggunakan pipa kapiler. Plat didiamkan kemudian dipanaskan dengan waktu pemanasan terbaik dan dihitung waktu bercak warna mulai terlihat serta diamati kejelasan dan kestabilan dari bercak warna yang tersebut. Reagen DAM-TSC dan reagen asam akan membentuk warna merah muda dengan urea. Diulangi prosedur di atas dengan reagen asam lain yaitu CH_3COOH dan H_3PO_4 , HCl dan H_2SO_4 . Jenis reagen asam terbaik diperoleh dengan membandingkan waktu bercak warna merah muda mulai terbentuk pada masing-masing plat, kejelasan dan kestabilan dari bercak warna tersebut. Dihitung dan diidentifikasi jumlah zat cair yang teruapkan pada plat silika gel dari masing-masing perlakuan. Prosedur di atas diulangi sebanyak tiga kali pengulangan pada masing-masing jenis reagen asam.

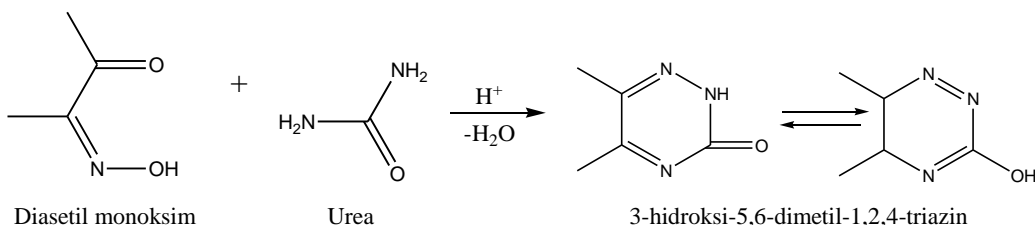
E. Analisis Data

Jenis reagen asam terbaik dalam pembuatan sensor urea pada plat silika gel dapat diketahui dengan analisa waktu respon warna mulai terbentuk, waktu warna mulai

pudar, kestabilan warna dan kejelasan warna yang terbentuk pada plat silika gel yang terimmobil reagen identifikasi urea, serta hasil dari nilai $\Delta Mean$ RGB. Analisa kejelasan warna dilakukan dengan mencari nilai RGB menggunakan *adobe photoshop CS5* yang kemudian nilainya dikonversikan ke $\Delta Mean$ RGB menggunakan *microsoft excel 2010*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan sensor kimia untuk mendeteksi adanya urea yang telah dilakukan pada penelitian ini untuk mengembangkan metode konvensional analisis urea secara spektrofotometri menggunakan reagen diasetil monoksim dan tiosemikarbazida (DAM-TSC). Sensor urea dibuat dengan cara mengintegrasikan reagen DAM-TSC dan reagen asam pada suatu padatan pendukung atau matriks. Pemeriksaan urea dengan sensor urea berdasarkan prinsip kolorimetri, yaitu adanya perubahan warna. Prinsip dari metode ini adalah reaksi kondensasi dimana diasetil monoksim dihidrolisis dibawah kondisi asam untuk menghasilkan diasetil yang kemudian bereaksi dengan urea membentuk warna kuning. Berdasarkan hasil studi dari Rosita dan Lugosi (1972) serta Beale dan Croft (1961) reaksi antara diasetil monoksim dan urea akan menghasilkan senyawa 3-hidroksi-5,6-dimetil-1,2,4,-triazin. Dimana reaksi yang terjadi adalah:



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

Untuk membentuk senyawa kompleks berwarna merah muda, urea dan diasetil monoksim direaksikan dengan reagen pengembang warna, yaitu tiosemikarbazida dan FeCl_3 . Berdasarkan penelitian Ratnam dan Anipindi (2012) mengenai studi terhadap 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) kemungkinan senyawa kompleks yang terbentuk berdasarkan adalah sebagai berikut:





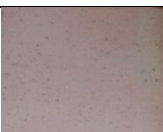
Penggunaan jenis reagen asam yang tepat sangat berperan penting dalam proses pembuatan sensor urea guna didapatkan warna kompleks merah muda yang lebih stabil dan memiliki stabilitas yang tinggi. Dari hasil penelitian Favreau dan Coloumbe (1963) yang menggunakan campuran asam sulfat, asam klorida dan asam fosfat sebagai reagen asamnya menyatakan bahwa penggunaan asam sulfat sendiri dengan konsentrasi optimum dapat meningkatkan stabilitasnya sebesar 25-30%. Sedangkan menurut Boyde dan Rahmatullah (1980) penggunaan reagen asam yang sangat kuat akan menurunkan stabilitas dari warna kompleks yang terbentuk, begitu pula sebaliknya dimana penggunaan reagen asam lemah dapat menurunkan intensitas warna kompleks yang terbentuk. Dalam hal ini kami mencoba untuk memvariasikan penggunaan jenis reagen asam guna didapatkan sensor urea yang memiliki kestabilan warna, sehingga pendeteksian urea dapat diketahui dengan terbentuknya warna merah muda secara optimal.

Variasi reagen asam yang kita gunakan dalam penelitian ini, yaitu asam fosfat (H_3PO_4)-asam asetat (CH_3COOH), asam fosfat (H_3PO_4)-asam sulfat (H_2SO_4) dan asam sulfat (H_2SO_4)-asam klorida (HCl). Pemilihan jenis reagen asam ini kami pilih berdasarkan kekuatan asam, guna mengetahui pengaruhnya terhadap warna kompleks yang terbentuk dan stabilitasnya. Penentuan jenis reagen asam terbaik didasarkan pada penentuan jumlah zat cair yang teruapkan dari masing-masing variasi reagen asam dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah zat cair yang teruapkan dari plat silika gel yang terimmobil reagen identifikasi urea dari masing-masing reagen asam, yang kemudian dilanjutkan dengan pengamatan terhadap waktu respon ketika mulai berubah warna, waktu kestabilan kompleks, warna kompleks yang terbentuk dan nilai $\Delta Mean$ RGB.

Adapun hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh dari masing-masing variasi reagen asam dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwasannya untuk reagen asam fosfat dan asam asetat terbentuk warna merah muda yang sangat lemah dengan waktu respon 9 menit 50 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB paling rendah. Untuk penggunaan jenis reagen asam kedua, yaitu asam sulfat dan asam klorida, warna merah muda yang dibentuk tidak terlalu kuat dengan waktu responnya adalah 5 menit 10 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 85,5. Sedangkan pada jenis asam ketiga yaitu

asam fosfat dan asam sulfat terbentuk warna merah muda yang sangat kuat dibandingkan pada variasi kedua asam sebelumnya dan waktu responnya adalah 3 menit 12 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB paling tinggi yaitu 97,89. Ditinjau dari kejelasan warna yang terbentuk, waktu respon dan nilai $\Delta Mean$ RGB dapat disimpulkan bahwa jenis reagen asam terbaik adalah pada asam sulfat dan asam fosfat. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan Coulombe dan Favreu dalam Rho (1980) bahwa penggunaan asam kuat akan memberikan hasil warna yang lebih tinggi dibandingkan dengan asam lemah, akan tetapi dengan pencampuran kedua jenis asam tersebut, warna yang dihasilkan akan jauh lebih baik dari pada hanya menggunakan salah satu jenis asam. Selain itu dalam penelitian Ratnam dan Anipindi (2012) tentang pembentukan senyawa kompleks pada senyawa Fe(III) dengan triazin disebutkan bahwa penggunaan asam fosfat akan meningkatkan kemampuan oksidasi dari Fe(III) dalam membentuk kompleks dengan triazin.

Tabel 1. Hasil pengamatan dari masing-masing variasi jenis reagen asam

Reagen Asam	Warna Kompleks	Waktu Respon	$\Delta Mean$ RGB
Asam fosfat dan asam asetat		9 menit 50 detik	76,22
Asam klorida dan asam sulfat		5 menit 10 detik	85,5
Asam fosfat dan asam sulfat		3 menit 12 detik	97,89

IV. KESIMPULAN

Jenis reagen asam terbaik yang digunakan dalam pembuatan sensor urea adalah asam fosfat dan asam sulfat. Dengan menggunakan kedua asam ini akan menghasilkan waktu respon yang lebih cepat yaitu 3 menit 12 detik dan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 97,89.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2012. Data Penderita Gagal Ginjal berdasarkan Indonesia Renal Registry. <http://pernefri-inasn.org/Laporan/4thAnnualReportOfIRR>. Diakses 12 Juli 2014.
- Anonim. 2013. Data Penderita Gagal Ginjal berdasarkan WHO. <http://www.academia.edu/6834088/>. Diakses 12 Juli 2014.
- Beale R.N, Croft D. A Sensitive Method for the Colorimetric Determination of Urea. *J Clin Pathol*. 1961 Jul;14:418–424.
- Coulombe JJ, favreau L. 1963 A New Simple Semimicro Method for Colorimetric Determination of Urea. *Clin Chem* :102–108.
- Rahmatullah, M dan T.R.C. Boyde. 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*. 37:453–462Rahmatullah (1980)
- Rosita, Yu Si Tan dan Lugosi. 1972. Reaction of Urea with Diacetyl Monoxime and Diacetyl. University of Windsor.
- Shanmugam, S., dkk. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited