

Disertasi

**DESAIN DAN APLIKASI BIOSENSOR MENGGUNAKAN ENZIM
URIKASE DARI BAKTERI TERMOFIL MATAUMPANA UNTUK
ANALISIS ASAM URAT PADA SERUM DARAH**

**DESIGN AND APPLICATION OF BIOSENSOR USING URICASE ENZYME FROM
MATAUMPANA THERMOPHILIC BACTERIA FOR ANALYSIS OF URIC ACID IN
BLOOD SERUM**

SARNI

H 013191005



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**DESAIN DAN APLIKASI BIOSENSOR MENGGUNAKAN ENZIM
URIKASE DARI BAKTERI TERMOFIL MATAUMPANA UNTUK
ANALISIS ASAM URAT PADA SERUM DARAH**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

**Program Studi
Ilmu Kimia**

Disusun dan diajukan oleh:

S A R N I

kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

DISERTASI

**DESAIN DAN APLIKASI BIOSENSOR MENGGUNAKAN ENZIM
URIKASE DARI BAKTERI TERMOFIL MATAUMPANA UNTUK ANALISIS
ASAM URAT PADA SERUM DARAH**

Disusun dan diajukan oleh

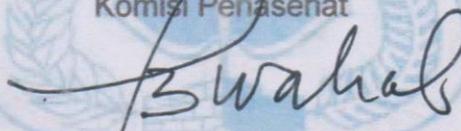
SARNI

NIM: H013191005

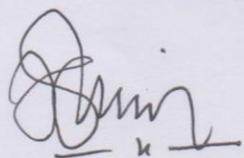
Telah Dipertahankan di Depan Panitia Ujian Disertasi
pada Tanggal 21 Agustus 2023
dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat



Prof. Dr. Abd. Wahid Wahab, M.Sc.
Promotor

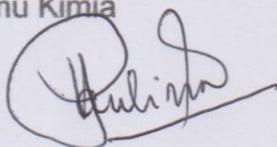


Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si.
Kopromotor



Dr. Abdul Karim, M.Si.
Kopromotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kimia



Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil.

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sarni

Nomor Mahasiswa : H013191005

Program Studi : Ilmu Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis berjudul :

Desain dan Aplikasi Biosensor Menggunakan Enzim Urikase dari Bakteri Termofil Mataumpana untuk Analisis Asam Urat pada Serum Darah

Benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apa bila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 21 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Sarni

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbil Alamin. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat, limpahan rahmat dan karunianya-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan merampungkan penulisan disertasi dengan judul “Desain dan Aplikasi Biosensor Menggunakan Enzim Urikase dari Bakteri Termofil Mataumpana untuk Analisis Asam Urat pada Serum Darah”. Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor di bidang Ilmu Kimia pada Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Penulis banyak mendapat kendala, kesulitan dan hambatan selama proses penelitian, mulai dari awal penelitian hingga tahap akhir penulisan disertasi ini. Namun, berkat kasih sayang dari Allah SWT dan semangat juang tinggi dari penulis serta bantuan dari berbagai pihak semua kendala dapat teratasi. Tak terbilang begitu banyak motivasi dan uluran tangan yang datang tanpa mampu untuk dibalas, serta begitu banyak harap dan doa yang menyertai hingga disertasi ini dapat dirampungkan. Oleh karena itu, dengan segenap jiwa, hati dan pikiran penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada Bapak Prof. Dr. Abd. Wahid Wahab, M.Sc selaku promotor, Ibu Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si dan Dr. Abdul Karim, M.Si, masing-masing selaku ko-promotor yang penuh kesabaran dan ketulusan untuk meluangkan waktu, mencurahkan seluruh perhatian, bimbingan, motivasi, nasehat dan saran yang sangat berharga dari awal perencanaan dan pelaksanaan penelitian hingga akhir penyusunan dan

penulisan disertasi ini. Penulis juga ucapkan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Dr. Nursiah La Nafie, M.Sc (almarhumah) yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya serta motivasi yang sangat berharga diakhir masa hidupnya dalam membimbing penulis pada awal penelitian, semoga amal ibadahnya diterima di sisi Allah SWT. Terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya pula penulis sampaikan kepada Bapak Prof. Dr. H. Muhammad Nurdin, M.Sc., Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Sukamto, MS., Bapak Dr. Maming, M.Si dan Ibu Dr. Siti Fauziah, M.Si selaku Tim penguji.

Pada kesempatan ini, penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Direktorat Sumber Daya Ditjen Pendidikan Tinggi atas kesempatan yang diberikan untuk menjadi bagian dari keluarga besar karyasiswa BPP-DN tahun 2019.
2. Direktur Politeknik Baubau atas rekomendasi untuk memperoleh beasiswa BPP-DN dari Kemendikbudristek dan Pendidikan Tinggi.
3. Rektor Universitas Hasanuddin dan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti Pendidikan Program Doktor.
4. Dekan Fakultas MIPA Unhas dan wakil-wakilnya beserta seluruh staf di Fakultas MIPA yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan dalam pelayanan administrasi selama mengikuti Pendidikan Program Doktor
5. Ibu Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil., dan Ibu Dr. Siti Fauziah, M.Si selaku ketua Program Studi Doktor Ilmu Kimia dan ketua Departemen Kimia

UNHAS beserta dosen dan staf departemen kimia terutama Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si dan Abdur Rahman Arif., S.Si., M.Si atas segala bantuan, saran dan kerjasamanya selama penulis menjalani studi.

6. Kepala dan seluruh Staff Laboratorium Biokimia, Kimia Fisika, Kimia Analitik, Kimia Anorganik, Kimia Organik dan Kimia Terpadu FMIPA Unhas, serta Laboratorium Biokimia UIN Alauddin Makassar atas segala bantuan dan fasilitas yang telah diberikan selama proses penelitian.
7. Ibu Sukmawati, S.Pd., M.Si, Ibu Damasiah, M.Si, Hadijah Enryani Ismail, ST., M.Si, Andi Sitti Mulyani beserta staf yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan dalam melakukan penelitian pada Laboratorium Quality Control SMTI Makassar.
8. Rekan-rekan tim Peneliti Laboratorium Biokimia (Fatam, Yura, Yuyun, Huda, Aidul, Ilham, dan Jeje), terkhusus pada Nure, Lulu, Mira, Besse, Sakinah, Nano, Jumardi, dan Inal) atas bantuan dan kebersamaannya selama di Lab.
9. Teman-teman seperjuanganku mahasiswa S3 Ilmu Kimia Angkatan 2019; Kak Ida Ifadaliah, La Kolo, Khadijah dan Sernita Jazakumullahu khoiron atas semua pengalaman, dukungan, bantuan, semangat dan kebersamaannya yang indah di dalam suka dan duka selama menjalani studi. Semoga kesuksesan dan kebahagiaan selalu menyertai kita dimanapun berada, Amin.
10. Rekan-rekan program S3 Pasca Kimia Unhas; Asmi, Bahrun, Akbar, Icha, Eka putri, Diana, Syamsidar, Subakir atas motivasi, bantuan dan

dukungannya.

11. Rekan-rekan mahasiswa S1 dan S2 Kimia Unhas (Terkhusus Tim Biosensor Triana Febrianti atas motivasi, semua bantuan dan kerjasamanya selama ini dan Ita azis trimakasih), Tim Kimia Fisika (Putut, Sam, Andin, Afni, Eka, lin, Elva, Ridha, Nurul amaliah, Liki), Tim Organik (Nunu, Maje, Musni, Salman, Fatin, andrif, alvi) atas segala bantuannya.
12. Rekan-rekan Komunitas E-Network Oriflame terutama Uplineku Selpa Sugiarto atas motivasi dan dukungannya baik dalam bisnis maupun studi penulis.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan studi, semoga mendapat pahala yang berlipat ganda disisi Allah SWT.

Secara khusus penulis menyampaikan terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang tulus kepada :

1. Ayahanda **La Uga** dan mama tersayang **Wa Sida** (Almarhumah) atas segala cinta dan kasih sayang, keikhlasan dan doa restu yang tak henti-hentinya kepada penulis hingga hari ini.
2. Suamiku tercinta **Abdul Malik Hud, SE. M.Kes** yang membersamaiku dalam suka dan duka, atas doa restu, dukungan, pengertian, kesetiaan dan kesabarannya dalam keseharian mendampingi penulis.
3. Ayahanda mertua **H. Hud Sjafar** (alm) dan mama mertuaku tersayang **Hj. Muntafia Hud** (Almarhumah) atas perhatian, dukungan dan doanya hingga akhir masa hidupnya.

4. Kakak-kakakku tersayang Salwiah, S.Pd, Darmin, S.Pd + Martia, Amd.Keb, Bardin, S.Pd + Aznia, SKM, dan adik-adikku Hasrin, Amd + Rahmaniar Azi, S.Sos, Idayati, S.Si atas segala perhatian, pengertian, bantuan dan dukungannya baik dukungan moril dan materil selama ini.
5. Kakak-kakak iparku Ir. Syahrir Hud, M.Si & Suarni, ST. MT, Drs. Suhri Hud, M.Si, Syarif Hud + kak Nana, Muzdalifah Hud, S.Pd + Kak Rahman (alm), Kak Sadri, Kak Tima, Kak Kifli + kak Yanti, adinda Surya Hud, S.Pt, M.Si + Hadi Purnomo, S.Pi atas segala perhatian, pengertian, bantuan dan dukungannya.
6. Ponakan-ponakanku tersayang dr. Faradila Ilmi Auliah, S.Ked + dr. Agung Heriadi, S.Ked, Fanandi Noor Ilmi, ST, Maulidayana Ilmi, S.Pd, Muh. Farhan Ilmi, Fahrunnisa Ilmi (seksi sibukku), Al Faruq Ilmi, Muh. Fadil Algifari Ilmi, Firdha Nurul Ilmi, Faiz Ilmi, Aluna Almaira Ilmi, Rika Rafika Ilmi, Dina Altafunnisa Ilmi, Kaila Ilmi, Rafa Ilmi, dan Muh Hannan Ilmi atas doa dan dukungannya.

Penulis menyadari Disertasi ini masih jauh dari sempurna sehingga masih diperlukan saran dan kritikan yang membangun dari semua pihak untuk bisa jadi sempurna. Akhir kata penulis menaruh harapan besar kiranya Disertasi ini bisa bermanfaat bagi umat manusia dan berkontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Semoga Allah SWT senantiasa menambahkan ilmu pengetahuan kepada kita semua dan segala hal yang telah dilakukan bernilai ibadah, Amin

Wabillahi Taufiq wal Hidayah, Wassalamu Alaikum Warahmatullahi
Wabarakatuh

Makassar, 21 Agustus 2023

Penulis

Sarni

ABSTRAK

SARNI. Desain Dan Aplikasi Biosensor Menggunakan Enzim Urikase Dari Bakteri Termofil Mataumpna Untuk Analisis Asam Urat Pada Serum Darah (dibimbing oleh **Abd Wahid Wahab, Hasnah Natsir, dan Abdul Karim**)

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim urikase dari bakteri termofil Mataumpna Kabupaten Buton Sulawesi Tenggara dan mendesain biosensor asam urat menggunakan urikase yang dapat digunakan untuk analisis asam urat yang pada serum darah. Proses ini dimulai dengan skrining, isolasi dan identifikasi mikroba termofil penghasil urikase, selanjutnya produksi dan karakterisasi urikase, serta desain biosensor menggunakan teknik amobilisasi enzim urikase pada membran kitin-selulosa asetat dengan metode voltametri siklik dan selanjutnya dilakukan karakterisasi biosensor dan diaplikasikan untuk analisis asam urat dalam serum darah. Hasil penelitian menunjukkan 2 isolat terpilih bakteri termofilik penghasil urikase dari sumber air panas Mataumpna Kabupaten Buton, Sulawesi Tenggara yaitu *Bacillus badius* W.IISRNa_2.1 dan *Bacillus altitudinis* W.IISRNs_1.1. Urikase diproduksi maksimum oleh *Bacillus badius* W.IISRNa_2.1 selama 12 jam pada suhu 45°C dan urikase murni diperoleh pada fraksi 12 dari hasil fraksinasi Sephadex G-75 dengan aktivitas spesifik 9,871 U/mg dengan tingkat kemurnian 95,56 kali dengan berat molekul 28,95 kDa. Enzim ini bekerja maksimal pada kondisi optimum : pH 8,0; suhu 45°C; konsentrasi substrat 3,5 mmol, di aktifkan oleh ion logam Ba²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ dan K⁺ pada konsentrasi 0,05 mM, serta stabil pada pH 7,5-8,0 dan suhu 45°C. Perbandingan kitin-selulosa asetat 2:1 pada konsentrasi glutaraldehid 25% merupakan komposisi membran terbaik pada pembuatan elektroda K-CAUox untuk biosensor asam urat yang optimum pada pH 7,5, suhu 29°C, sensitif dan selektif spesifik pada asam urat dengan batas maksimum 218,78 ppm dan pemakaian 21 kali selama 21 hari. Biosensor dengan elektroda K-CAUox pada penelitian ini dapat dipakai untuk menentukan kadar asam urat dalam serum darah.

Kata Kunci : Biosensor, asam urat, enzim urikase, kitin-selulosa asetat, *Bacillus badius*

ABS TRACT

SARNI. Design and Application of Biosensor Using Uricase Enzyme From Mataumpana Thermophilic Bacteria For Analysis of Uric Acid in Blood Serum (dibimbing oleh **Abd Wahid Wahab, Hasnah Natsir, dan Abdul Karim**)

This study aims to isolate the uricase enzyme from the thermophilic bacterium Mataumpana, Buton Regency, Southeast Sulawesi and to design a uric acid biosensor using uricase that can be used for analysis of uric acid in blood serum. This process begins with screening, isolation and identification of uricase-producing thermophilic microbes, then production and characterization of uricase, as well as biosensor design using the technique of immobilizing the uricase enzyme on chitin-cellulose acetate membranes using the cyclic voltammetry method and then biosensor characterization and application for uric acid analysis in blood serum. The results showed that 2 selected isolates of uricase-producing thermophilic bacteria from Mataumpana hot springs, Buton Regency, Southeast Sulawesi, namely *Bacillus badius* W.IISRNa_2.1 and *Bacillus altitudinis* W.IISRNs_1.1. Uricase was produced maximum by *Bacillus badius* W.IISRNa_2.1 for 12 hours at 45°C and pure uricase was obtained in fraction 12 from the fractionation of Sephadex G-75 with a specific activity of 9.871 U/mg with a purity level of 95.56 times with a molecular weight of 28,95 kDa. This enzyme works optimally under optimum conditions: pH 8.0; temperature 45°C; substrate concentration of 3.5 mmol, activated by metal ions Ba²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ and K⁺ at a concentration of 0.05 mM, and stable at pH 7.5-8.0 and temperature 45°C. The ratio of chitin-cellulose acetate 2:1 at 25% glutaraldehyde concentration is the best membrane composition in the manufacture of K-CAUox electrodes for uric acid biosensors which are optimum at pH 7.5, temperature 29°C, sensitive and specific selective for uric acid with a maximum limit of 218,78 ppm and used 21 times for 21 days. Biosensor with K-CAUox electrode in this study can be used to determine uric acid levels in blood serum.

Keywords : Biosensor, uric acid, uricase enzyme, chitin-cellulose acetate, *Bacillus badius*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xxii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	9
C. Tujuan Penelitian	9
D. Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
A. Tinjauan Tentang Biosensor.....	12
B. Tinjauan Tentang Asam Urat.....	26
C. Enzim Urikase.....	28
D. Amobilisasi Enzim.....	30

E. Kitin.....	34
F. Selulosa Asetat.....	38
G. Glutaraldehida.....	40
H. Kerangka Pikir dan Hipotesis.....	42
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	47
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	47
B. Alat dan Bahan Yang Digunakan.....	47
C. Prosedur Penelitian.....	48
1. Screening, Isolasi dan Identifikasi Mikroba Termofil Penghasil Urikase.....	49
2. Produksi dan Karakterisasi Enzim Urikase.....	53
3. Isolasi Kitin dari Limbah Kulit Udang.....	64
4. Desain Biosensor Asam Urat.....	65
5. Pengukuran Asam Urat Pada Serum Darah.....	69
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	72
A. Skrining, Isolasi dan Identifikasi Mikroba Termofil Penghasil Urikase.	72
1. Skrining dan Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Urikase.....	72
2. Identifikasi Mikroba Termofil Penghasil Urikase.....	76
B. Produksi dan Pemurnian Enzim Urikase.....	86
1. Produksi Enzim Urikase.....	86
2. Fraksinasi Amonium Sulfat.....	89
3. Dialisis.....	91
4. Kromatografi Filtrasi Gel.....	92

C. Karakterisasi Enzim Urikase.....	94
1. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Urikase.....	95
2. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Urikase.....	96
3. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Urikase.....	98
4. Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim Urikase.....	99
5. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Stabilitas Urikase.....	103
6. Penentuan Berat Molekul Urikase.....	106
D. Isolasi Kitin.....	109
1. Karakterisasi Kitin.....	111
E. Desain dan Karakterisasi Biosensor Asam Urat.....	112
1. Perbandingan Bahan Membran Kitin Dan Selulosa Asetat.....	113
2. Pengaruh pH.....	121
3. Pengaruh Temperatur.....	124
4. Karakterisasi membran elektroda.....	126
5. Limit deteksi.....	129
6. Selektivitas elektroda urikase (K-CAUox)	130
7. Masa pakai elektroda.....	133
F. Pengukuran Asam Urat Pada Serum Darah.....	135
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	138
A. Kesimpulan.....	138
B. Saran.....	139
DAFTAR PUSTAKA.....	140
LAMPIRAN.....	149

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat bakteri penghasil Enzim urikase	29
2. Spesifikasi Kitin Niaga.....	37
3. Komposisi Medium Selektif.....	49
4. Komposisi Medium Produksi.....	54
5. Komposisi Gel Elektroforesis.....	62
6. Perbandingan Komposisi Bahan Membran Berbagai Elektroda.....	66
7. Indeks urikolitik beberapa isolat bakteri termofil sumber air panas Mataumpana > 1 pada suhu 45°C pH 7,0 dan 4 hari inkubasi.....	76
8. Karakteristik morfologi bakteri termofilik penghasil urikase isolat W.IIIA-2.1 dan Isolat W.IIIS-1.1.....	79
9. Hasil identifikasi fisiologi dan biokimia bakteri termofilik Mataumpana penghasil urikase.....	80
10. Analisis homologi dua bakteri termofilik Mataumpana penghasil urikase.....	83
11. Pola tingkat kemurnian urikase dari bakteri termofil <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada setiap tahap pemurnian.....	92
12. Beberapa urikase dari berbagai sumber mikroba.....	108
13. Persentase hasil kitin pada tiap tahap isolasi dari limbah udang putih (<i>Penaeus marguensis</i>)	109
14. Perbandingan karakteristik kitin hasil isolasi dari limbah udang putih (<i>Penaeus marguensis</i>) dengan kitin standar (<i>Sigma</i>) dan kitin standar (Menurut Protan Laboratories).....	110
15. Perbandingan gugus fungsi yang menyerap pada spektrum FTIR kitin sigma (standar) dan kitin hasil isolasi dari limbah udang putih (<i>Penaeus marguensis</i>)	112

16. Arus puncak dan potensial pada berbagai konsentrasi asam urat.....	119
17. Hubungan antara konsentrasi asam urat dengan arus puncak anoda pada berbagai pH.....	123
18. Hubungan antara konsentrasi asam urat dengan arus puncak anoda pada temperature 29°C dan 45°C.....	126
19. Pergeseran bilangan gelombang dari beberapa gugus fungsi pada membran.....	128
20. Potensial puncak oksidasi dan respon arus elektroda K-CAUox pada berbagai konsentrasi asam urat.....	130
21. Respon puncak arus oksidasi elektroda K-CAUox pada setiap konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm) terhadap perubahan waktu....	134
23. Hasil Pengukuran Asam urat serum darah dengan biosensor dan thermo scientific indiko.....	136

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ilustrasi pendeteksian pada biosensor.....	16
2. Berbagai ragam biosensor berdasarkan prinsip kerja Bioteteksinya.....	17
3. Skema sel biosensor elektrokimia.....	23
4. Struktur Asam Urat.....	26
5. Reaksi Urikase dengan Asam Urat.....	29
6. Berbagai metode immobilisation dari reagen pada material dukung.....	31
7. Struktur Kitin.....	36
8. Struktur Molekul Selulosa Asetat.....	39
9. Polimerisasi Glutaraldehida	41
10. Pengikatan enzim pada glutaraldehid.....	42
11. Diagram Alir Kerangka pikir penelitian.....	46
12. Desain Elektroda Urikase (K-CAUox).....	69
13. (a). Medium seleksi GYP padat mengandung asam urat di hari pertama inokulasi sebelum inkubasi, (b). Koloni bakteri termofil yang tumbuh pada medium luria bertani, (c). Koloni bakteri termofil urikase isolat W.IIIS-1.1, (d). Koloni bakteri termofil urikase isolat W.IIIA-2.1 pada media GYP padat 0,2% asam urat 45°C,pH	74
14. Hasil uji Indeks uricolitik dengan zona bening di sekitar koloni isolat (a). W.IIIA-2.1 dan (b). W.IIIS-1.1 setiap waktu inkubasi	75
15. Hasil pengamatan pewarnaan gram bakteri termofilik penghasil urikase (a) Isolat W.IIIA-2.1 dan (b) W.IIIS-1.1 di bawah	

mikroskop dengan pembesaran 1000x	78
16. Elektroferogram amplicon 16S-rDNA, A. 1 kb DNA Marker Ladder (Gene Ruler 1 kb DNA Ladder), B. 8=DNA galur W.IIIS-1.1 dan C. 6= DNA galur W.IIIA-2.1	82
17. Pohon filogenetik bakteri termofilik Mataumpana penghasil urikase Isolat W.IIIA-2.1	84
18. Pohon filogenetik bakteri termofilik Mataumpana penghasil urikase Isolat W.IIISRN _s _1.1	85
19. Kurva produksi enzim urikase dan pertumbuhan <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada λ 600 nm terhadap waktu inkubasi pada konsentrasi substrat (asam urat) 0,2%, pH 7,0; 45°C	87
20. Aktivitas enzim urikase dari <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 setiap fraksi amonium sulfat	90
21. Profil elusi urikase dari bakteri termofil <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada sephadexs G-75 dengan kondisi : bufer borat 0,02 M; pH 8,0 dan kecepatan elusi 0,3 mL/menit	93
22. Pengaruh pH inkubasi terhadap aktivitas enzim urikase dari <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1, pada suhu 45°C	96
23. Pengaruh suhu inkubasi terhadap aktivitas enzim urikase dari <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1, pada pH 8	97
24. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas urikase pada kondisi pH 8,0 dan suhu 45°C	99
25. Pengaruh beberapa ion logam konsentrasi 0,1 M dan 0,05 mM terhadap aktivitas urikase dari <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada kondisi : konsentrasi substrat 3,5 mM, pH 8,0 dan suhu 45°C	100
26. Pengaruh pH 7,5 dan pH 8,0 terhadap stabilitas urikase dari bakteri termofil <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada kondisi: konsentrasi substrat 3,5 mmol dengan suhu 45°C	104
27. Pengaruh suhu 40°C dan 45°C terhadap stabilitas urikase dari bakteri termofil <i>Bacillus badius</i> W.IIISRN _a _2.1 pada kondisi: konsentrasi substrat 3,5 mmol dengan pH 8,0	105
28. Elektforegram hasil Elektroforesis SDS-PAGE <i>Commassie Brilliant Blue dan Silver Stain</i> setiap tahap pemurnian enzim	

urikase dari bakteri termofil <i>Bacillus badius</i> W.IISRNa_2.1.....	107
29. Spektrum FTIR kitin hasil isolasi dari limbah udang putih (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	111
30. Elektroda K-CAUox pada berbagai perbandingan Kitin-CA.....	113
31. Voltammogram siklik elektroda biosensor K-CA dan K-CAUox.....	115
32. Reaksi oksidasi asam urat pada puncak arus anodik dan reduksi oksigen pada puncak katodik pada permukaan elektroda membran K-CAUox.....	116
33. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) perbandingan 2:1 pada berbagai konsentrasi asam urat.....	117
34. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) pada berbagai perbandingan membran dalam asam urat konsentrasi 10 ppm.....	118
35. Grafik hubungan antara arus puncak dengan log [asam urat].....	120
36. Grafik hubungan antara arus puncak dengan [asam Urat].....	120
37. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) pada berbagai konsentrasi asam urat pH 7,5.....	122
38. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) pada berbagai konsentrasi asam urat temperature 29°C.....	124
39. Spektra FTIR membran K-CA 2:1 (a) dan K-CA + Uox (b)	127
40. Limit deteksi biosensor asam urat pada kondisi optimum.....	130
41. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) buffer fosfat dan berbagai konsentrasi asam urat	131
42. Voltammogram siklik biosensor urikase (K-CAUox) buffer fosfat dan berbagai konsentrasi xantin.....	133

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian.....	149
2. Skema skrining dan isolasi bakteri dari sumber air panas Mataumpana Kabupaten Buton Sulawesi Tenggara.....	150
3. Skema identifikasi morfologi, fisiologi dan gen 16S rRNA dari bakteri termofil terpilih.....	151
4. Skema Optimasi Produksi Urikase dari Bakteri Termofil.....	152
5. Skema pemurnian urikase dari bakteri termofil.....	153
6. Skema karakterisasi urikase dari bakteri termofil.....	154
7. Tabel kejenuhan amonium sulfat pada suhu 4°C.....	155
8. Skema Pembuatan Membran.....	155
9. Skema Pembuatan Elektroda Urikase (K-CAUox).....	156
10. Lokasi pengambilan Sampel (Sumber Air panas Mataompana, Desa Watumotobe, Kecamatan Kapuntori, Kabupaten Buton Sulawsi Tenggara)	157
11. Hasil Screaning Bakteri Penghasil Enzim Urikase dari 57 isolat Bakteri Termofil dari Sumber Air Panas Mataumpana.....	158
12. Hasil Sequensing 16SrRNA reversed dar bakteri termofil <i>Bacillus altitudinis</i> W.IIISRNs_1.1.....	160
13. Hasil Sequensing 16SrRNA reversed dar bakteri termofil <i>Bacillus altitudinis</i> W.IIISRN _a _2.1.....	161
14. Hasil Pengukuran dan Kurva standar protein (crude enzim, dialisis dan Hasil kromatografi kolom Sephadeks G75).....	162
15. Spektrum kitin dari limbah udang putih hasil analisis FTIR.....	166

16. Hasil Pemeriksaan Penetapan Berat Molekul Protein Menggunakan Metode SDS PAGE Commassie Brilliant Blue & Silver Stain.....	167
17. Voltamogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 2:1 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm).....	169
18. Voltamogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 1:1 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	170
19. Voltamogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 1:1,5 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	171
20. Voltammogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 1 : 2 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	172
21. Voltammogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 1 : 2 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	173
22. Voltammogram siklik Elektroda Kitin-selulosa asetat 1,5 : 1 pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	174
23. Voltammogram siklik Elektroda Urikase dalam berbagai pH pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	175
24. Voltammogram siklik Elektroda Urikase dalam berbagai temperatur pada berbagai konsentrasi asam urat (10 – 160 ppm)	180
25. Voltammogram siklik Elektroda Urikase dalam Buffer fosfat dan berbagai konsentrasi xantin (10 – 80 ppm)	185
26. Spektra FTIR membran K-CA 2:1 dan membran K-CA 2:1 + Uox..	186
27. Reaksi yang terjadi pada proses pembentukan membran K-CA dan pembuatan Elektroda K-CAUox (amobilisasi enzim urikase)...	188
28. Hasil Uji Statistik (Uji t dua sampel berpasangan) dua cara pengukuran asam urat.....	190

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
B	Beta
Å	Angstrom
λ	Lamda (panjang gelombang)
E.C	<i>Enzim Code</i> (kode enzim)
°C	Derajat celsius
Ph	Potensial hydrogen (derajat keasaman)
G	Gram
dL	Desiliter
μ L	Mikro liter
Mg	Miligram
mL	Mililiter
LP	Liter
cm^{-1}	Per centimeter
U	Unit
M	Molar
mM	Milimolar
LA	Luria Agar
BSA	Bovin serum albumin
Ppm	Part per million

V	Volt
E	Potensial
Em	Elektroda membran
Ep	Elektroda Platina
Δ	Delta
Nm	Nano meter
Rpm	Rotasi per menit
OD	Optical density
ESI	Elektroda Selektif Ion
EKT	Elektroda Kawat Terlapis
FTIR	Fourier transform Infrared
%	Persen (per seratus)
v/v	Volume per volume
K-CA	Kitin selulosa Asetat
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetat
SDS-PAGE	Sodium deodesil sulfat- poliakrilamida gel elektroforesis
kDa	Kilodalton
Uox	Urikase
K-CAUox	Kitin selulosa urikase
GYP	Glucose Yeast Pepton
Iuc	Indeks Uricolitik

IMViC	<i>indole, Methyl Red, Voges-roskauer, Simon's Citrate</i>
MR	<i>methyl red</i>
SIM	<i>Sulphide Indole Motility</i>
TSIA	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
DNA	Asam deoksiribonukleat
16s-rRNA	Asam ribonukleotida ribosomal 16S
E_{pa}	Potensial puncak anoda
E_{pc}	Potensial Puncak katoda
ΔE_p	Delta Potensial
i_{pa}	Puncak arus anoda
i_{pc}	Puncak arus katoda
TOOS	N-etil-N-(hidroksi-3-sulfopropil)-m-toluidin

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Asam urat merupakan produk akhir utama metabolisme asam nukleat purin yang dilepaskan ke dalam serum darah atau diekskresikan oleh ginjal dalam urin (Fukuda *et al.*, 2019). Kecepatan ekskresi asam urat orang dewasa sehat adalah 0,6 g/24 jam (Devi and Pundir 2014). Konsentrasi asam urat normal dalam serum orang dewasa untuk pria adalah 3,5 - 7,0 mg/dL dan untuk wanita 2,6 - 6,0 mg/dL.

Peningkatan kadar asam urat dalam darah melewati batas normal dikenal dengan hiperurisemia. Kelebihan asam urat ini akan disimpan pada jaringan dan persendian sehingga menimbulkan inflamasi (Mulyasuryani and Srihardiastuti, 2011; Verdiasah, 2016). Hal ini disebabkan oleh asam urat yang dihasilkan tidak dapat dimetabolisme lebih lanjut karena tidak adanya ekspresi urikase pada manusia (Chaudhary *et al.*, 2013).

Pada dekade terakhir ini prevalensi penderita hiperurisemia cenderung meningkat di dunia. Hiperurisemia menimbulkan keluhan yang beragam, ada yang menimbulkan rasa nyeri dan ada pula hiperurisemia yang tidak ada keluhan. Hal ini terjadi karena terdapat tingkatan hiperurisemia dan banyak faktor yang dapat mempengaruhi keadaan tersebut. Gangguan kesehatan yang terjadi karena hiperurisemia merupakan suatu indikator atau gejala dari beberapa penyakit, di antaranya *gout arthritis* akut, pembentukan tofus, pembentukan batu asam urat pada

saluran kencing, dan gagal ginjal (gout nefropati) (Kamal, 2014). Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa kelebihan produksi asam urat dalam serum juga merupakan faktor risiko penyakit kardiovasikuler dan neurologis (Omar *et al.*, 2016). Oleh karena itu sangat penting untuk mengukur kadar asam urat dalam tubuh secara berkala, agar asam urat dapat dideteksi sedini mungkin sehingga dapat mencegah munculnya berbagai penyakit berbahaya.

Saat ini deteksi asam urat, umumnya menggunakan teknik *chemiluminescenc*, fluorosensi, kolorimetri, dan spektroskopi. Namun, semua metode ini membutuhkan peralatan yang besar, perlakuan sampel, pelarut berbahaya, keterampilan, waktu dan biaya besar serta banyak senyawa pengganggu lainnya sehingga mulai ditinggalkan (Ismarani, 2012; Fukuda *et al.*, 2019).

Selain beberapa tehnik tersebut, secara klinik asam urat juga biasa ditentukan dengan metode kolorimetri enzimatik dan fotometrik thermo scientific indiko, menggunakan enzim urikase melalui oksidasi cincin purin menjadi allantoin, karbon dioksida dan hidrogen peroksida. Dalam metode ini selain enzim urikase juga melibatkan enzim peroksidase yang mengkatalisis hidrogen peroksida yang dihasilkan menjadi produk berupa senyawa berwarna dengan adanya akseptor oksigen (Rifai *et al.*, 2018). Metode ini sangat spesifik dan sensitif, namun biaya enzim urikase dan peroksidase sangat mahal karena hanya dapat digunakan satu kali dan tidak dapat digunakan kembali (Jirakunakorn *et al.*, 2020). Teknik

kolorimetri enzimatis juga rentan terhadap interferensi dan masih memungkinkan adanya gangguan yang disebabkan oleh zat *exogenous* yang ada dalam cairan tubuh misalnya asam askorbat (Ismarani, 2012), dan *easy touch uric acid meter device* menggunakan strip asam urat, tapi stripnya hanya digunakan satu kali sehingga masih dikatakan mahal. Untuk mengatasi kelemahan yang ditimbulkan oleh beberapa metode analisis tersebut maka dikembangkan teknik biosensor elektrokimia untuk mendeteksi asam urat dengan pendekatan enzimatis. Teknik ini memiliki banyak keuntungan dalam hal prosedur yang sederhana, mudah dibawa, sensitivitas tinggi, akurat, kecepatan tinggi, dan biaya analisis yang lebih murah.

Biosensor merupakan suatu perangkat sensor yang memanfaatkan reaksi kimia dan biologis untuk mendeteksi dan mengkuantisasi analit spesifik berdasarkan penggabungan senyawa biologi dalam suatu transduser (Ismarani, 2012; Karim, 2016). Biosensor terdiri atas dua komponen utama yaitu bioreseptor dan transduser. Bioreseptor adalah molekul yang akan mengenali analit target. Interaksi spesifik antara analit target dan tempat pengenalan analit pada bioreseptor akan menghasilkan perubahan sifat kimia-fisika yang kemudian akan dideteksi dan diukur oleh transduser (Ismarani, 2012).

Ada tiga jenis sensor utama elektrokimia yaitu amperometrik, potensiometrik, dan konduktometri. Ketiga jenis desain biosensor ini dapat dilakukan dengan pengembangan elektroda enzim. Kinerja biosensor

elektrokimia untuk mendeteksi asam urat didasarkan pada teknik imobilisasi enzim pada elektroda (Fukuda *et al.*, 2019). Dengan teknik imobilisasi pada elektroda dapat mendeteksi analit pada level submikro menggunakan enzim dalam jumlah kecil dan dapat digunakan kembali (Erden and Kilic, 2013).

Pada dasarnya secara teori kinerja biosensor sangat dipengaruhi oleh aktivitas katalitik enzim, ketebalan membran dan pH larutan. Aktivitas katalitik enzim berhubungan dengan kecepatan reaksi, menurut persamaan Michaelis-Menten, kecepatan reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, namun pada keadaan tertentu akan dicapai kecepatan maksimum disaat enzim dijenuhkan oleh kenaikan konsentrasi substrat. Kondisi keasaman (pH) berhubungan dengan jenis ion dalam larutan, yang juga mempengaruhi kecepatan reaksi karena enzim hanya bekerja optimum pada pH tertentu. Enzim dapat dijaga aktivitasnya dengan mengamobilisasikannya pada membran. Ketebalan membran akan mempengaruhi laju difusi ion-ion hasil reaksi menuju permukaan elektroda (Mulyasuryani and Srihardiastuti, 2011; Prayoga *et al.*, 2014).

Matriks elektroda yang digunakan dalam pembuatan biosensor asam urat adalah enzim urikase yang diamobilisasi. Urikase merupakan jenis oksidoreduktase yang berperan dalam proses metabolisme nitrogen dan katalis spesifik dalam membuka struktur siklik pada asam urat membentuk senyawa yang dapat larut dalam air yaitu allantoin (Ram *et al.*, 2015), sehingga dapat diekskresikan dengan mudah oleh ginjal. Penelitian tentang

desain biosensor asam urat menggunakan enzim urikase sebagai enzim amobil telah banyak dilakukan, di antaranya : Widiyatmoko (2012) mengamobilisasi enzim urikase dengan zeolit alam untuk biosensor asam urat; Ismarani (2012) mengamobilisasi enzim urikase pada membran kulit telur; Devi dan Pundir (2013) mengamobilisasi urikase pada nano partikel besi oksida/kitosan-g-polianilin komposit film; Ramadhan *et al.* (2015) menggunakan SPCE-*Nata de Coco* sebagai media amobilisasi enzim urikase; Omar *et al.* (2016) melaporkan imobilisasi urikase pada grafen oksida (GO); Diana (2016) menggunakan karboksimetilselulosa-gelatin-zeolit untuk amobilisasi enzim urikase; Fukuda *et al.* (2016) melaporkan enzim urikase yang diamobilisasi pada karbon nano tube (CNT) yang didispersikan dalam larutan berair dengan surfaktan karboksimetilselulosa (CMC); Verma, S. *et al.* (2019) mengamobilisasi enzim urikase menggunakan nanopartikel emas yang dikombinasi dengan lapisan tipis nanokomposit grafen oksida (GO); Jirakunakorn, R. *et al.* (2020) mengembangkan biosensor asam urat amperometri dengan cara mengamobilisasi urikase pada komposit kitosan-grafen cryogel (cry) berpori yang dicetak pada lapisan biru prusia.

Enzim urikase diproduksi pada semua organisme meliputi bakteri, jamur, tanaman dan hewan kecuali manusia. Urikase yang dihasilkan berbeda tergantung pada metabolisme dari organisme inangnya (Omar *et al.*, 2016). Berdasarkan sumber-sumber enzim tersebut, mikroba lebih banyak digunakan untuk memproduksi enzim karena kesederhanaannya

dalam produksi, pemurnian dan proses optimalisasi (Khade *et al.*, 2018). Berbagai jenis bakteri yang dapat menghasilkan enzim urikase antara lain *Lactobacillus plantarum* (Iswantini *et al.*, 2011), *Bacillus sp* (Lutpiatina, 2015), *Bacillus cereus* (Khade *et al.*, 2018; Nanda and Babu, 2014), dan *Alcaligenes faecalis* GH3 (Dalfar *et al.*, 2019).

Bakteri yang unik dan mendapat perhatian khusus dari ilmuwan di beberapa tahun terakhir adalah bakteri termofilik, yang merupakan kelompok bakteri yang beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang bersuhu tinggi sekitar 45°C hingga 90°C bahkan sampai pada kondisi ekstim panas (Tuntun dan Huda, 2014). Mikroba yang dapat hidup pada lingkungan seperti ini mengandung suatu senyawa aktif yang dapat mempertahankan hidupnya.

Salah satu hal yang menyebabkan bakteri termofilik bertahan pada lingkungan ekstrim karena mengandung enzim ekstraseluler termostabil yang tahan terhadap suhu tinggi dan pH ekstrim dibandingkan mikroorganisme homolognya yang mesofil. Enzim urikase merupakan salah satu jenis enzim ekstraselular, sehingga bakteri termofil juga mengandung enzim urikase yang stabil aktivitasnya pada keadaan lingkungan ekstrim termasuk perubahan suhu tinggi dan pengaruh lingkungan kimia lainnya. Sebagai sumber enzim, bakteri dianggap menguntungkan karena mampu memproduksi secara cepat kandungan biomassa sehingga senyawa bioaktif bisa diproduksi lebih mudah, cepat dan banyak dalam skala bioteknologi (Ginting *et al.*, 2010).

Sumber air panas merupakan salah satu media pertumbuhan bagi bakteri termofilik yang banyak dieksplor. Salah satunya sumber air panas Mataumpana di Kabupaten Buton Sulawesi Tenggara. Dilihat dari lingkungan ekosistem dan habitat disekitar sumber air panas di daerah ini, memiliki potensi untuk menghasilkan mikroorganisme termofilik penghasil enzim ekstraseluler yang belum dieksplorasi sebelumnya, sehingga potensi dari bakteri termofilik tersebut perlu dikaji.

Pada penelitian ini, dikembangkan elektroda enzim untuk mendesain biosensor asam urat untuk analisis kandungan asam urat pada serum darah menggunakan enzim urikase yang diisolasi dari bakteri termofilik yang belum dilaporkan sebelumnya. Prinsip-prinsip dasar yang digunakan dalam konstruksi biosensor asam urat sama halnya dengan biosensor lainnya, namun pada biosensor ini menggunakan enzim urikase yang diamobilisasi pada lapisan membran dengan metode amperometri (voltametri siklik).

Pemilihan metode voltametri karena metode ini memiliki banyak kelebihan, diantaranya sensitivitas dan selektivitasnya tinggi, limit deteksinya rendah, waktu analisis cepat karena sedikit membutuhkan preparasi sampel dan dapat menganalisis dalam kisaran konsentrasi yang kecil maupun besar. Selain itu metode voltametri dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa yang memiliki sisi aktif baik untuk senyawa anorganik maupun organik (Wang, 2000). Asam urat merupakan salah satu

senyawa yang memiliki sisi aktif sehingga dapat dianalisis menggunakan metode ini.

Beberapa penelitian terdahulu tentang biosensor dengan teknik amobilisasi enzim, umumnya menggunakan membran dari polimer sintetik sebagai media amobil. Pada penelitian ini digunakan polimer alami kitin yang dapat diperoleh dari limbah kulit udang diformulasi dengan selulosa asetat dan glutaraldehida. Pemilihan kitin sebagai material biosensor karena kitin merupakan polimer yang stabil dan tidak bereaksi dengan berbagai zat kimia, mempunyai kekuatan mekanik yang besar, tahan terhadap tekanan tinggi, afinitasnya tinggi terhadap enzim, tidak toksik, banyak tersedia di alam dan harganya relatif murah (Dharmantaka, 2016; Karim, 2016). Penambahan selulosa asetat dimaksudkan untuk menambah homogenitas membran yang dihasilkan dan glutaraldehida sebagai agen pengikat silang. Desain biosensor asam urat dengan elektroda urikase dari bakteri termofilik yang diamobilisasikan pada membran kitin-selulosa asetat belum pernah dipublikasikan. Oleh karena itu penelitian tentang desain aplikasi biosensor asam urat untuk analisis asam urat pada serum darah perlu dilakukan.

Desain elektroda urikase sebagai biosensor asam urat dilakukan dengan tiga tahap utama. Pertama, isolasi kitin dari limbah kulit udang dan screening bakteri termofil urikase serta isolasi enzim urikase dari bakteri, Kedua mendesain elektroda urikase dengan teknik amobilisasi yang diaplikasikan pada berbagai larutan standar asam urat, dan tahap ketiga,

optimalisasi kinerja elektroda enzim yang dibandingkan dengan pengukuran spektrofotometri atau metode baku yang digunakan pada laboratorium kesehatan. Hasil desain dengan kinerja yang maksimal digunakan untuk menganalisis asam urat pada serum darah.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik spesies bakteri termofilik penghasil enzim urikase dari sumber air panas Mataumpana di Watumotobe, Kabupaten Buton, Propinsi Sulawesi Tenggara ?
2. Bagaimana karakteristik enzim urikase yang diisolasi dari bakteri termofil sumber air panas Mataumpana ?
3. Berapa komposisi membran kitin-selulosa asetat yang optimal dalam mendesain elektroda urikase untuk biosensor asam urat ?
4. Bagaimana kondisi optimal dan karakteristik biosensor asam urat meliputi limit deteksi, selektivitas, dan masa pakai membran elektroda urikase yang mempunyai kinerja maksimal ?
5. Seberapa sensitif hasil desain biosensor urikase untuk analisis asam urat pada serum darah?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk :

1. Skrining, isolasi dan karakterisasi bakteri termofilik penghasil enzim urikase pada sumber air panas Mataumpana di Watumotobe, Kabupaten Buton, Propinsi Sulawesi Tenggara,
2. mengisolasi dan mengkarakterisasi enzim urikase dari bakteri termofil Mataumpana Kabupaten Buton,
3. menentukan komposisi membran kitin-selulosa asetat yang optimal dalam pembuatan elektroda enzim urikase untuk biosensor asam urat,
4. menentukan kondisi optimal dan mengkarakterisasi biosensor asam urat yang mempunyai kinerja maksimal dengan limit deteksi, selektivitas tinggi dan masa pakai yang lebih lama,
5. mendesain biosensor urikase yang memiliki sensitifitas yang sama dengan standar laboratorium klinis untuk analisis asam urat yang terdapat pada serum darah.

D. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan dan pemanfaatan bioteknologi enzim dalam mendesain biosensor elektrokimia berbasis amobilisasi enzim urikase untuk mendeteksi asam urat dalam serum darah
2. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang potensi bakteri termofil sebagai sumber enzim yang digunakan sebagai matriks elektroda biosensor

3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomi dan mengurangi dampak negatif limbah kulit udang sebagai sumber kitin terhadap lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Tentang Biosensor

Sensor elektrokimia secara umum didefinisikan sebagai alat yang mampu menangkap fenomena fisika atau kimia kemudian mengubahnya menjadi sinyal elektrik baik arus listrik maupun tegangan (Adrian *et al*, 2002). Sensor utama elektrokimia ada tiga jenis yaitu potensiometrik, amperometrik dan konduktometrik. Sensor potensiometrik berdasarkan pengukuran perbedaan potensial antara dua elektroda (elektroda indikator dan elektroda pembanding), sensor amperometrik berdasarkan reaksi oksidasi reduksi dari spesi elektroaktif, dan arus resultan yang diukur, sedangkan sensor konduktometrik dilibatkan dalam pengukuran konduktivitas pada seri-seri frekuensi (Janata and Czechoslov, 2009).

Biosensor termasuk jenis sensor kimia (Putra, 2013), yang terdiri atas perlakuan biologis sebagai pengenalan molekul atau senyawa yang akan diukur dan transduser yang menangkap sinyal dari perlakuan biologis itu. Pada umumnya jenis transduser yang digunakan pada biosensor elektrokimia antara lain potensiometrik, amperometrik, konduktometrik dan voltametrik (Bean *et al.* 2006).

Biosensor didefinisikan oleh IUPAC sebagai perangkat terintegrasi mandiri yang mampu memberikan informasi analitik kuantitatif atau semi-kuantitatif spesifik menggunakan elemen pengenalan biologis (reseptor biokimia), yang dipertahankan dalam spasial kontak langsung dengan

elemen transduksi (Somerset, 2011). Biosensor pada umumnya menggunakan material biologi atau biomolekul (seperti jaringan, mikroorganisme, organella, enzim, antibodi, DNA dan sebagainya) sebagai komponen pendeteksi atau bioresseptor pada permukaan pengenalnya, sehingga perbedaan bioresseptor ini sangat berpengaruh terhadap spesifiknya analit yang akan diukur. Oleh karena itu secara umum biosensor dapat didefinisikan sebagai alat ukur yang memanfaatkan reaksi kimia dan biologis untuk mendeteksi dan mengkuantisasi analit spesifik berdasarkan biomolekul yang diterapkan pada transdusernya (Ismarani, 2012).

Dalam proses kerja biosensor, senyawa aktif biologi akan berinteraksi dengan molekul yang akan dideteksi yang disebut molekul sasaran. Hasil interaksi yang berupa besaran fisik seperti panas, arus listrik, potensial listrik atau lainnya akan dimonitor oleh transduser. Besaran tersebut kemudian diproses sebagai sinyal sehingga diperoleh hasil yang dapat dimengerti (Janata, 2009).

Desain Biosensor elektrokimia secara amperometri, potensiometri, dan konduktometri telah banyak dikembangkan salah satunya untuk mendeteksi asam urat. Biosensor ini berdasarkan reaksi oksidasi asam urat yang dikatalisis oleh enzim urikase menjadi allantoin, CO_2 , dan H_2O_2 . Deteksi asam urat secara amperometri didasarkan pada pengukuran arus dari H_2O_2 hasil reaksi atau jumlah O_2 yang terpakai, sedangkan secara potensiometri didasarkan pada perbedaan potensial pada elektrodanya (Ali

et al., 2011; Ivecovic *et al.*, 2012; Devi and Pundir, 2014). Biosensor konduktometri didasarkan pada perubahan daya hantar dalam larutan akibat ionisasi H_2CO_3 dalam air (Ramadhan *et al.*, 2015).

Beberapa penelitian tentang desain pembuatan biosensor asam urat telah dilakukan antara lain : Widiyatmoko (2012) melaporkan aktivitas dan stabilitas urikase dari *Lactobasillus plantarum* yang diimobilisasi dalam zeolit alam untuk biosensor asam urat; Ismarani (2012) mengamobilisasi enzim urikase pada Membran kulit telur; Devi dan Pundir (2013) merancang biosensor amperometri asam urat dengan mengamobilisasi urikase pada nano partikel besi oksida/kitosan-g-polianilin komposit film dengan posisi elektroda pada Pt; Ramadhan et al (2015) mengembangkan biosensor konduktometri asam urat dengan SPCE-Nata de Coco sebagai media imobilisasi enzim urikase; Omar et al (2016) melaporkan imobilisasi urikase pada graphen oksida (GO) melalui modifikasi kimia GO menggunakan 1-ethyl-3-(dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) dan Hidroksulfosucciniimide (NHS) sebagai reagen ikatan silang; Diana (2016) meneliti stabilitas biosensor asam urat dengan menggunakan karboksimetilselulosa-gelatin-zeolit untuk amobilisasi enzim urikase; Fukuda *et al* (2016) melaporkan Biosensor amperometri asam urat dengan enzim urikase yang di imobilisasi pada karbon nano tube (CNT) yang didispersikan dalam larutan berair dengan surfaktan karboksimetilselulosa (CMC); Verma S. *et al* (2019) mengamobilisasi enzim urikase menggunakan nanopartikel emas yang dikombinasi dengan lapisan tipis

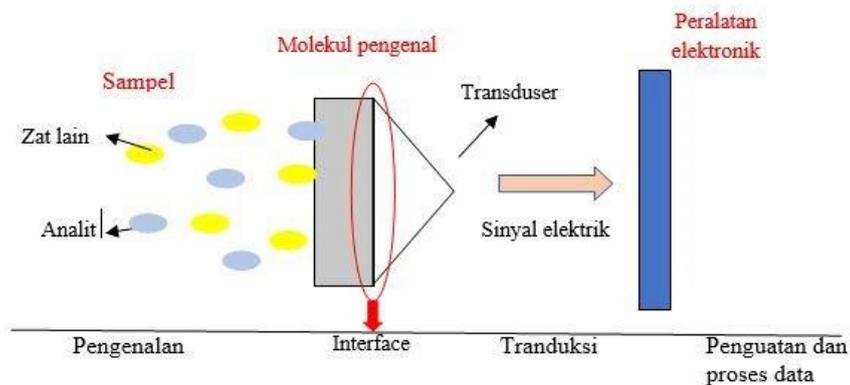
nanokomposit grafen oksida (GO) untuk menghasilkan biosensor asam urat yang sensitif dan selektif; Jirakunakorn R. *et al* (2020) mengembangkan asam urat amperometri dengan cara mengamobilisasi urikase pada platform cryogel (cry) berpori dari chitosan yang tergabung graphen yang dicetak di atas lapisan biru prusia yang diendapkan pada layar elektroda karbon.

1. Prinsip Biosensor

Pada dasarnya biosensor terdiri atas tiga komponen utama yaitu komponen biologi (bio-recognisi / bioreseptor), transduser (pengubah sinyal) dan sistem elektronik pemrosesan sinyal (*signal processing*) (Kuswandi, 2010). Komponen biologi yang umumnya digunakan dalam mendesain suatu biosensor dapat berupa enzim, organel, jaringan, antibodi, bakteri, jasad renik, dan DNA. Unsur biologi ini biasanya berada dalam bentuk teramobilisasi pada suatu transduser. Amobilisasi sendiri dapat dilakukan dengan berbagai cara baik secara adsorpsi fisik, penjerapan matriks maupun secara ikatan kovalen dengan transduser (Janata, 2009).

Transduser yang banyak digunakan dalam suatu biosensor adalah transduser elektrokimia, optoelektronik, kristal piezoelektronik, *field affect* transistor dan termistor. Proses yang banyak terjadi dalam transduser dapat berupa biosensor kalorimetri, biosensor potensiometri, biosensor amperometri, biosensor optik maupun biosensor *piezo*-elektrik, dimana proses ini akan menghasilkan sinyal elektronik secara diskret atau kontinyu yang proporsional dengan jumlah suatu analit atau komponen yang akan

diukur (Kuswandi, 2010). Proses pendeteksian biosensor dapat ditunjukkan pada Gambar 1

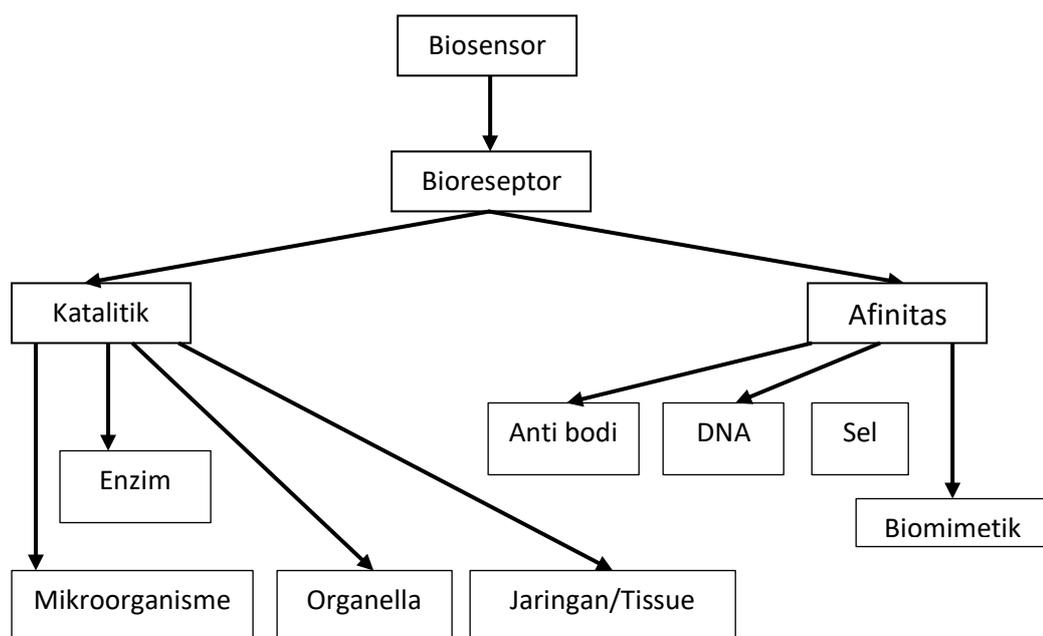


Gambar 1. Ilustrasi pendeteksian pada biosensor (Faizah *et al.*, 2018)

2. Komponen Biodeteksi

Komponen pendeteksi atau komponen pengenal (*recognition element*) analit ini merupakan komponen kunci dari setiap piranti sensor. Dalam biosensor komponen ini biasanya disebut biodeteksi (biological recognition element/bioreceptor) yang dapat berupa enzim, antibodi, DNA, dan reseptor lainnya. Secara garis besar, berdasarkan prinsip kerja biodeteksi yang digunakan yaitu katalisis dan afinitas, maka biosensor dapat dibagi menjadi 2 bagian besar yaitu katalitik biosensor (*catalytic biosensor*) dan afinitas biosensor (*affinity biosensors*). Pada *catalytic biosensor* (sering disebut metabolit biosensor) yang merupakan piranti biosensor yang mengukur konsentrasi analit baik berupa produk, atau reaktan/substrat atau inhibitor yang terlibat dalam sebuah reaksi biokatalitik. Salah satu yang digunakan untuk komponen biodeteksi yaitu sampel jaringan (*tissue*). Jaringan sebagai sumber enzyme yang dapat

mengkatalisis sebuah reaksi yang spesifik. Sedangkan *affinity biosensors* merupakan piranti biosensor yang menggunakan reseptor untuk berikatan (*binding*) dengan molekul analit secara ‘irreversibly’, sehingga menghasilkan perubahan fisika – kimia yang dapat dideteksi oleh sebuah transduser. Jenis biosensor berdasarkan prinsip kerja biodeteksi dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Berbagai ragam biosensor berdasarkan prinsip kerja biodeteksinya (Kusnadi, 2010).

3. Sensor Potensiometri

Sensor potensiometri merupakan sensor yang melibatkan teknik pengukuran potensial dari suatu sel elektrokimia pada arus nol (*zero current*), sehingga potensial yang dihasilkan akan sebanding dengan logaritma konsentrasi dari analit yang sedang diukur (Kuswandi, 2010). Sensor potensiometri merupakan sensor yang paling praktis penerapannya

sejak awal 1930-an karena sensor ini mudah digunakan, mudah dimengerti, mudah dikenali dan biayanya murah. Ada 3 jenis dasar perangkat potensiometrik ditinjau dari mekanisme kerjanya, yaitu : elektroda bermembran selektif ion, elektroda kawat berlapis, dan transistor efek medan (Janata, 2009).

Elektroda selektif ion adalah elektroda indikator yang mampu mengukur secara selektif aktivitas dari spesies-spesies ionik khusus. Dalam pernyataan klasik, elektroda-elektroda merupakan perangkat berdasarkan membran, terdiri atas material-material konduksi ion selektif yang memisahkan sampel dari dalam elektroda. Elektroda pertama merupakan elektroda kerja yang potensialnya ditentukan oleh lingkungannya, sedangkan elektroda pembanding memiliki potensial yang konstan, maka nilai perbedaan potensial (potensial kedua sel) adalah nilai perbedaan potensial oleh larutan yang mengandung ion analit (Wang, 2000).

Strategi-strategi yang berbeda untuk produksi suatu elektroda adalah yang selektif terhadap suatu spesies dan secara primer berdasarkan komposisi material membran. Penelitian dalam bidang ini telah dibuka untuk semua segi aplikasi untuk analit-analit yang hampir tidak terbatas jumlahnya, dimana yang membatasi hanyalah seleksi dopan dan matriks ionofor dari membran. Berdasarkan pada sifat alami membran, elektroda selektif ion (ESI) dapat dibagi menjadi 3 golongan yaitu ; elektroda gelas, cair dan padat. Lebih dari dua lusin ESI Orion, Radiometer, Corning, Beckman, Hitachi dan lainnya digunakan secara luas untuk analisis ion-ion

organik dan spesies kationik atau anionik dari berbagai variasi efluen, juga dalam pabrik dan monitoring obat, menggunakan elektroda membran (Wang, 2000).

Perangkat potensiometri yang paling luas digunakan adalah elektroda pH, yang telah digunakan dalam beberapa dekade. Kesuksesannya dihubungkan dengan keuntungan yang tidak perlu diragukan lagi, seperti kemudahan, kecepatan, non destruktif, biaya murah, kemampuan aplikasi pada kisaran konsentrasi yang besar dan kecil, terutama selektivitasnya yang sangat tinggi untuk ion-ion hidrogen. Elektroda gelas, berdasar atas membran gelas sensitif ion yang tipis adalah yang paling umum dan tersedia dalam berbagai bentuk dan ukuran. Pengukuran pH juga dapat dilakukan menggunakan sensor-sensor potensiometrik yang lainnya. Aplikasi elektroda gelas untuk kation monovalen, termasuk sensor-sensor natrium, litium, ammonium dan kalium yang berdasarkan atas komposisi-komposisi gelas baru, juga telah dilaporkan. Walaupun penggunaan elektroda membran gelas untuk mengukur pH larutan memiliki berbagai kesuksesan, pemanfaatannya dibatasi untuk pengukuran dalam media aqua. Penentuan ion hidrogen dalam larutan non aqua memerlukan koreksi-koreksi (Wang 2000).

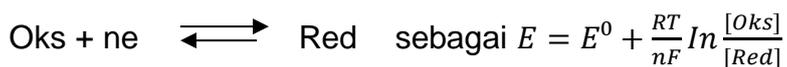
Elektroda membran cair, yang berdasarkan atas zat-zat yang cair yang tidak dapat bercampur dengan air dan terisi dalam membran polimerik, telah digunakan secara luas untuk pengukuran potensiometrik langsung dari beberapa kation polivalen dan anion-anion tertentu. Membran

polimerik digunakan untuk memisahkan larutan uji dari komponen terdalam yang mengandung larutan ion target. Pengenalan membran aktif dapat dilakukan oleh penukar ion cair atau senyawa makrosiklik netral yang memiliki dimensi berukuran molekul yang mengandung lubang untuk mengelilingi ion-ion target (Wang 2000).

Kemajuan dalam penelitian elektroda potensiometrik dapat dilihat dalam hasil kerja beberapa peneliti berikut ini, antara lain: 1) Rodweder (2002) telah menunjukkan penggunaan elektroda selektif ion berlapis epoksi grafit untuk penentuan kation dengan menggunakan formasi pasangan ion dengan kation tricaprilmetilaminium pada suatu matriks polivinilklorida (Kouassi *et al.*, 2005). 2) Pengembangan metode analisis keratin secara potensiometri dengan elektroda pasta karbon termodifikasi *molecularly imprinted polymer* (Hariati, 2016). 3) Konstruksi elektroda potensiometrik selektif ion Pb^{2+} jenis kawat berlapis yang berdasarkan atas ionofor 1,10-dibenzyl-1,10-diaza-18-crown-6 dan terdispersi dalam membran polivinilklorida telah digambarkan (Yuntarso *et al.*, 2018).

Transduser potensiometri mengukur perbedaan potensial di antara dua elektroda yaitu elektroda kerja dan elektroda referensi yang dicelupkan dalam suatu larutan pada aliran arus yang sebenarnya nol. Elektroda referensi mempunyai potensial konstan dan reproduibel yang tidak tergantung pada lingkungannya. Potensial elektroda kerja adalah potensial pada interface antara fasa padatan dan fasa cairan dimana reaksi oksidasi dan reduksi terjadi. Misalnya pada interface diantara kawat penghantar dan

sistem redoks, ada suatu pertukaran elektron di antara kawat dan senyawa yang dioksidasi dan direduksi. Kestimbangan tercapai ketika laju oksidasi sama dengan laju reduksi dan komposisi larutan di sekeliling elektroda adalah konstan. Kestimbangan potensial kemudian ditunjukkan sesuai dengan hukum Nernst bagi sistem;



Keterangan:

- E = potensial elektroda terukur
- E^0 = potensial elektroda standar
- R = tetapan gas ideal = $8,314 \text{ j mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
- T = temperatur mutlak (K)
- F = tetapan faraday = $96.500 \text{ coulomb ekivalen}^{-1}$
- [Oks] = konsentrasi bentuk teroksidasi
- [Red] = konsentrasi bentuk tereduksi

Pengubahan matriks polimer dari sensor potensiometrik oleh amobilisasi material biomedik dan biologis digunakan untuk mengubah pola-pola selektivitas ESI matriks. Aplikasi untuk sistem sensor potensiometrik dengan material biomedik dikenal dengan biosensor, termasuk penemuan enzim immunoassays. Jadi dapat disimpulkan bahwa sensor- sensor potensiometrik sudah sangat penting sejak tahun 1930, ketika komersialisasi elektroda gelas dihasilkan dalam penemuan salah satu perusahaan instrumen analitik yang paling sukses (Beckman Instruments). Sejarah juga menunjukkan sejak tahun 1960, ketika elektroda selektif ion melakukan perubahan terhadap analisis yang sulit dari ion-ion

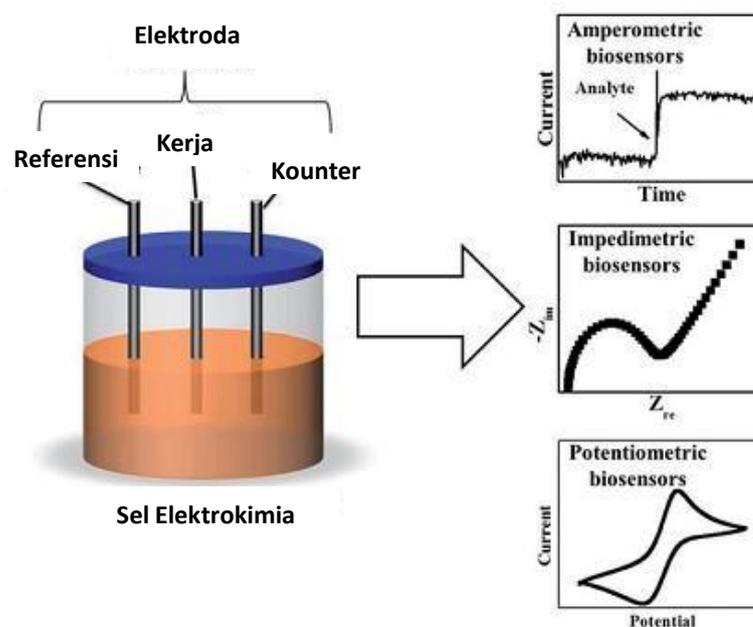
anorganik sampai sekarang, pertumbuhan paten untuk perumusan, pertumbuhan paten perumusan-perumusan yang berbeda dari elektroda gelas, untuk elektroda-elektroda yang berbeda jenis membrannya, ukuran dan bentuknya memberi bukti potensiometrik ion sensing yang tersedia secara Komersil. Sistem-sistem ini cenderung biayanya relatif rendah, mudah digunakan, bekerja otomatis dan mudah untuk pengambilan sampel yang cepat, dengan penggunaan matriks yang rendah dan dapat diaplikasikan pada volume yang kecil. Keuntungan-keuntungan ini membuat sensor potensimetrik menjadi pilihan ideal untuk pengukuran klinik, industri dan lingkungan dimana kecepatan, kemudahan dan akurasi begitu esensial (Brahim *et al.*, 2002).

4. Voltammetrik

Voltammetrik merupakan metode elektrokimia yang mengukur arus sebagai fungsi potensial yang diterapkan. Timbulnya sinyal arus pada analisis secara voltametri disebabkan oleh kemampuan gugus fungsi mengalami reaksi oksidasi-reduksi pada permukaan elektroda (Wang 2000). Arus yang diukur adalah arus difusi yaitu arus yang timbul karena adanya proses oksidasi atau reduksi analit elektroaktif pada permukaan elektroda (Skoog, 1992). Arus yang dihasilkan pada voltametri sebanding dengan konsentrasi analit dalam larutan.

Voltametri adalah salah satu jenis sensor elektrokimia yang mengamati kerja pada kurva arus-potensial. Teknik voltametri digunakan untuk menganalisis analit berdasarkan pengukuran arus sebagai fungsi

potensial. Sel voltametri menggunakan sistem tiga elektroda ditunjukkan pada Gambar 3, terdiri dari elektroda referensi, konter dan kerja, yang dicelupkan ke dalam buffer yang berisi analit. Tiga metode (amperometrik, potensiometri, dan impedimetri) digunakan untuk deteksi analit menggunakan biosensor elektrokimia (Soni *et al.*, 2018).



Gambar 3. Skema sel biosensor elektrokimia (Soni *et al.*, 2018)

Voltametri dikembangkan berdasarkan prinsip polarografi yang dikenal menggunakan tetesan air raksa (*Dropping Mercury Electrode*, DME) sebagai elektroda kerja, mikroelektroda lebih banyak digunakan dalam teknik voltametri sebagai elektroda kerja. Elektroda yang terpolarisasi adalah elektroda kerja (WE) pasangannya adalah elektroda pembanding (RE) yang bisa berupa kalomel (*Saturated Calomel Electrode*, SCE) atau Ag/AgCl. Elektroda kounter (CE) juga digunakan untuk ikut

mendukung proses-proses pertukaran elektron atau aliran arus dalam sel terutama untuk sistem yang menghasilkan arus yang cukup besar.

Teknik voltametri merupakan teknik elektrokimia dinamik (tidak pada arus nol). Proses oksidasi dan reduksi yang terjadi pada permukaan elektroda pada dasarnya merupakan transfer elektron atau transfer muatan. Arus yang diukur dalam ampere atau coulomb/detik dari kecepatan alir muatan. Reaksi elektrokimia pada permukaan elektroda dikendalikan dengan mengaplikasikan potensial pada elektroda. Potensial yang diaplikasikan disebut sinyal eksitasi dan arus yang diukur disebut sinyal hasil (Fifield and Haines, 1995).

Respon dari sel elektrokimia sebagai arus direkam dan ditunjukkan dalam kurva arus-potensial disebut voltamogram. Sumbu horizontal sebagai potensial dalam volt sedangkan sumbu vertikal sebagai arus dalam μA . arus konstan yang diperoleh setelah peningkatan arus secara tajam adalah arus batas (limiting current) sedangkan arus konstan yang diperoleh sebelum peningkatan arus secara tajam (pengukuran larutan blanko sebelum analit ditambahkan) disebut arus residu (residual current).

Voltammetrik siklik merupakan teknik yang paling banyak digunakan untuk memperoleh informasi kualitatif dan kuantitatif tentang reaksi elektrokimia (Puranto, 2010). Kelebihan suatu hasil voltammetrik siklik yaitu dapat memberikan informasi yang penting dengan cepat pada termodinamika proses reduksi/oksidasi dan kinetik reaksi transfer elektron heterogen, serta pada reaksi-reaksi kimia berpasangan atau proses

adsorpsi. Voltammetrik dapat memberikan suatu lokasi potensial reduksi/oksidasi dari spesies elektroaktif dan pengujian yang tepat dari efek media terhadap proses reduksi oksidasi (Harvey, 2000).

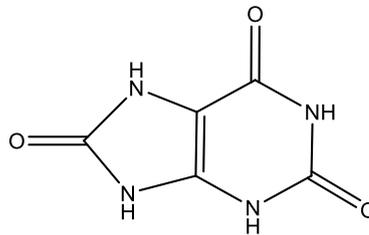
Voltammetrik siklik menerapkan pemindaian potensial secara linier pada elektroda kerja (dalam larutan tidak diaduk) menggunakan bentuk gelombang segitiga. Berdasarkan informasi apa yang diinginkan pada pengukuran, dapat digunakan siklus tunggal atau berulang-ulang. Selama pemindaian, potensiostat mengukur arus yang dihasilkan dari potensial yang dikenakan. Alur arus terhadap potensial yang dihasilkan disebut voltammogram siklik. Pemindaian ini dijabarkan secara umum dengan pemindaian awal E_i , pemindaian perubahan (switching) E_s dan pemindaian akhir E_f dan laju pemindaian dalam satuan V/s. Potensial sebagai fungsi waktu adalah : $E_f = E_i + vt$ (pemindaian maju) dan $E_f = E_s + vt$ (pemindaian balik)(Wang, 2000).

Pemindaian potensial ke arah negatif dipilih pada nilai di mana reduksi belum jadi. Pada saat potensial yang dikenakan mendekati nilai E° yang khas untuk proses redoks, arus katodik mulai meningkat sampai dicapai satu puncak. Setelah melintasi daerah potensial dimana proses reduksi terjadi, arah pemindaian potensial dibalik. Selama pemindaian balik, molekul reduksi (yang dihasilkan pada setengah siklus maju, dan terakumulasi di dekat permukaan elektroda) dioksidasi kembali menjadi molekul oksidasi dan dihasilkan pula puncak anodik (Wang, 2000).

B. Tinjauan Tentang Asam Urat

1. Gambaran Umum

Senyawa kimia asam urat mempunyai nama IUPAC 7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trion atau dengan nama lain 2,6,8-trioksipurina. Rumus molekul asam urat adalah $C_5H_4N_4O_3$ dengan berat molekul 168,11 g/mol dan massa jenis 1,89 g/mL. Asam urat termasuk asam lemah ($pK_a=5,75$) yang berupa kristal putih. Asam urat mengalami dekomposisi oleh pemanasan menjadi asam sianida dan sukar larut dalam air tetapi larut dalam gliserin dan basa (O'Neil, 2001). Struktur asam urat di tunjukkan pada Gambar 4



Gambar 4. Struktur asam urat (7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trion)

Asam urat ditemukan pada plasma ekstra seluler dan cairan synovial atau cairan sendi. Sebagian besar asam urat terdapat dalam bentuk monosodium pada pH 7,4 dan larut di dalam plasma pada konsentrasi 6,8 mg/dL, jika kadar asam urat lebih besar, plasma akan menjadi jenuh dan dapat mengendap membentuk kristal urat (Horrison, 2000).

Asam urat mempunyai fungsi sebagai antioksidan dan asam dalam regenerasi sel, peremajaan sel membutuhkan asam urat. Apabila tubuh kekurangan antiosidan, akan banyak oksidan atau radikal bebas yang membunuh sel-sel kita. Akibatnya, jika hal itu terjadi pada kulit maka kulit

akan mudah kusam dan tidak sehat. Manusia adalah satu-satunya mamalia yang tidak dapat membuat antioksidannya sendiri sehingga perlu memperoleh antioksidan dari luar, yaitu vitamin E dan vitamin C. Kedua vitamin tersebut banyak bekerja untuk menangkal radikal bebas dari luar tubuh tapi tubuh kita tidak bisa mensintesisnya sendiri harus ada suplemen dari luar. Fungsi ini tergantikan dengan adanya asam urat dalam tubuh (Soeroso, 2011).

2. Asam Urat dalam Tubuh Manusia

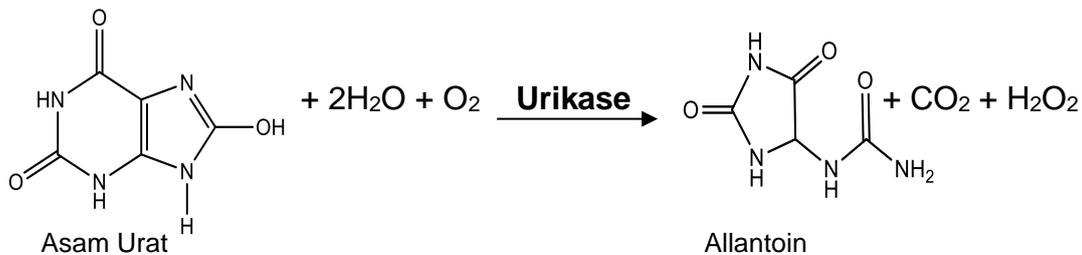
Asam urat (UA) merupakan produk akhir utama dari metabolisme purin yang dilepaskan ke dalam serum darah atau diekskresikan oleh ginjal dalam urin. Asam urat akan terakumulasi dalam serum dan sendi dan tidak dapat dimetabolisme karena tidak adanya ekspresi uricase pada manusia (Fukuda *et al.*, 2019; Khade *et al.*, 2018). Asam urat dapat berfungsi sebagai parameter diagnosis, dimana konsentrasi asam urat yang tinggi dalam darah dapat menandakan adanya berbagai macam penyakit seperti encok, gout arthritis akut, pembentukan tofus, pembentukan batu asam urat pada saluran kencing, dan gagal ginjal (gout nefropati)(Kamal, 2014). Penyakit gout dalam keadaan kronis, akan menyebabkan seseorang merasa kesulitan bahkan kehilangan kemampuan untuk bergerak karena rasa sakit yang muncul akibat akumulasi asam urat dalam bentuk kristal monosodium urat. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa kelebihan produksi asam urat dalam serum juga merupakan faktor risiko penyakit kardiovasikuler dan neurologis (Omar *et al.*, 2016).

Kecepatan ekskresi asam urat orang dewasa yang sehat adalah 0,6 g/24 jam (Devi and Pundir, 2014). Konsentrasi asam urat yang normal dalam serum orang dewasa adalah 3,5 - 7, 0 mg/dL untuk pria dan 2,6 - 6,0 mg/dL untuk wanita. Peningkatan kadar asam urat dalam darah melewati batas normal dikenal dengan hiperurisemia yang mana kelebihan asam urat ini akan disimpan pada jaringan dan persendian sehingga menimbulkan inflamasi (Mulyasuryani and Srihardiastuti, 2011; Verdiasah, 2016), sehingga pemantauan kadar asam urat dalam cairan tubuh secara berkala sangatlah penting. Banyak metode yang dapat digunakan untuk penentuan kadar asam urat. Pendekatan yang dapat digunakan antara lain metode *chemiluminescence*, *fluorescence*, *voltammetric-coulometric*, dan biosensor (Arora *et al.*, 2007).

C. Enzim Urikase

Urikase (urat oksidase) merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam metabolisme nitrogen dan katalis spesifik untuk oksidasi asam urat dengan bantuan air dan oksigen. Mekanisme reaksi oksidasi asam urat oleh urikase dapat dilihat pada Gambar 5. Urikase (EC 1.7.3.3) adalah enzim oksidoreduktase yang berperan dalam proses metabolisme nitrogen dan enzim ini memiliki berat molekul sebesar 125000 g/mol dengan nilai konstantanta *Michaelis-Menten* (K_M) dan pH optimum beragam sesuai sumber enzimnya. Katalisis enzim ini dilakukan dengan cara membuka cincin purin pada asam urat dengan keberadaan oksigen sebagai oksidator untuk menghasilkan allantoin dan karbon dioksida. Sementara O_2 tereduksi

menjadi hidrogen peroksida. Jumlah O_2 yang diperlukan serta karbon dioksida dan hydrogen peroksida yang dihasilkan setara dengan kadar asam urat dalam darah (Arslan, 2008) katalis spesifik dalam membuka struktur siklik pada asam urat membentuk senyawa yang dapat larut dalam air yaitu allantoin (Ram *et al.*, 2015).



Gambar 5. Reaksi urikase dengan asam urat

Tabel 1. Isolat bakteri penghasil enzim urikase

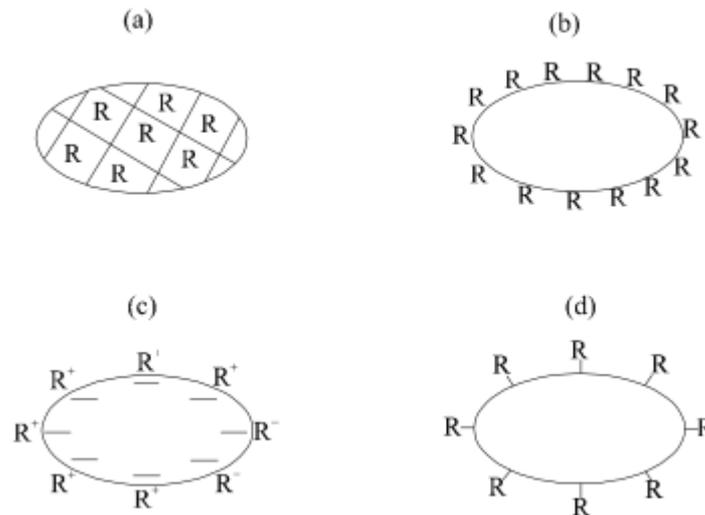
N o	Isolat bakteri	Aktivitas Urikase	Suhu optimum	pH optim um	Sumber Pustaka
1	<i>Microbacterium</i> sp	1,00 U/mL	37°C	8,5	Zhou <i>et al.</i> , 2005
2	<i>P. Aeruginosa</i> 5Y2	17,77 U/mL	30°C	8,0	Khade <i>et al.</i> , 2016
3	<i>B. thermocatenulatus</i>	1,25 U/mL	30°C	7,0	Lofy, 2008
4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,107 U/mL	37°C	8,0	Iswantini <i>et al.</i> , 2009
5	<i>Bacillus subtilis</i>	0,057 U/mL	35°C	8,0	Iswantin <i>et al.</i> , 2011
6	<i>Saccharopolyspora</i> sp PN R11	0,216 U/mL	37°C	8,5	Khucharoenphais an & Sinma, 2011
7	<i>Comamonas</i> sp BT UA	80 U/mg	37°C	7,0	Ghosh & Sarkar, 2014
8	<i>Alcaligenes faecalis</i>	42 U/mL	30°C	7,5	Badoei-dalfard <i>et al.</i> , 2019
9	<i>Bacillus cereus</i>	1,2282 U/mL	35°C	8,0	Iswantin <i>et al.</i> , 2011
10	<i>Bacillus cereus</i>	15,43 U/mL	30°C	8,5	Nanda & Babu, 2014
11	<i>Bacillus cereus</i>	26,3 U/mL	30°C	7,5	Khade <i>et al.</i> , 2018
12	<i>Bacillus</i> sp W.IVS-7	0,6897 U/mL	45°C	8,0	Sarni <i>et al.</i> , 2023

Urikase diketahui berasosiasi dengan mikrobodi pada jaringan hewan, jaringan tumbuhan, protozoa, alga, dan mikroorganisme. Di antara

sumber-sumber enzim tersebut, mikroba lebih disukai digunakan untuk memproduksi enzim karena kesederhanaannya dalam produksi, pemurnian dan proses optimalisasi (Khade *et al.*, 2018). Beberapa mikroorganisme penghasil enzim urikase yang telah diisolasi dapat dilihat pada Tabel 1.

D. Amobilisasi Enzim

Untuk membuat suatu sensor kimia bisa bekerja dengan baik, maka reagen kimia yang digunakan di dalamnya harus bisa terhubung dengan baik pada transduser. Proses ini biasanya dinamakan imobilisasi reagen. Imobilisasi reagen dapat didefinisikan sebagai pengikatan reagen pada fasa padat atau material pendukung secara merata, yang memungkinkan untuk terjadinya pertukaran dengan larutan sampel dimana terdapat analit untuk dideteksi. Pengikatan reagen ini dapat ditempuh dengan berbagai cara yaitu fisika dan kimia. Secara garis besar imobilisasi reagen dapat digolongkan pada dua jenis metode imobilisasi yaitu metode fisika dan metode kimia. Metode imobilisasi secara fisik meliputi proses penyerapan (adsorpsi), pemerangkapan (entrapmen), pengkapsulan (encapsulasi) dan interaksi elektrostatik, sedangkan secara kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan kros-linking. Adapun ilustrasi metode immobilisation reagen pada material pendukung tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Berbagai metode immobilisasi dari reagen pada material pendukung (a) gel entrapmen, (b) adsorpsi, (c) interaksi elektrostatis/ioni, (d) ikatan kovalen (Kuswandi, 2008).

Immobilisasi reagen biasanya banyak digunakan sebagai prekonsentrasi dalam suatu analisis, dimana analit biasanya dilewatkan pada reagen tersebut sebelum dilakukan langkah penentuan konsentrasi analit. Biasanya dalam immobilisasi reagen, faktor-faktor yang harus diperhatikan agar immobilisasi bisa berhasil adalah sebagai berikut:

- (a) material pendukung (solid support material) harus hanya berinteraksi dengan gugus tertentu dari reagen tersebut, yang bukan gugus aktif yang diperlukan untuk mengikat analit,
- (b) material tersebut cukup berpori untuk memfasilitasi terjadinya difusi analit ke dalam fasa reagen,
- (c) reagen tersebut cukup stabil dalam kondisi (biasanya temperature dan pH) yang dibutuhkan selama proses immobilisasi berlangsung,
- (d) proses pencucian yang digunakan untuk menghilangkan reagen

yang tidak terikat dengan baik harus tidak berpengaruh pada reagen yang telah diimobilisasi,

- (e) material pendukung tersebut harus tidak larut dalam air, stabil dan dapat mengikat reagen dengan cukup kuat pada permukaannya,
- (f) karakter mekanis dari material pendukung tersebut harus pula diperhatikan, khususnya bila immobilisasi reagen dibuat dalam bentuk membrane atau film, misalnya, menggelembungnya film atau membran (*swelling*).

Pengembangan biosensor yang didasarkan pada amobilisasi enzim dimaksudkan untuk mengatasi beberapa masalah seperti : kehilangan enzim, pemeliharaan untuk menjaga kestabilan enzim dan usia pemakaian biosensor, mengurangi waktu respon enzim, dapat dibuang setelah dipakai dan dapat dioperasikan dengan mudah serta dapat dibawa ke lapangan. Oleh karena itu, beberapa teknik amobilisasi perlu dikembangkan. Menurut Chibata (1998), beberapa teknik amobilisasi enzim yang dapat dikembangkan yaitu :

1. amobilisasi adsorpsi

Sistem amobilisasi adsorpsi dibagi menjadi dua yaitu ; 1) adsorpsi fisika, dimana enzim diadsorpsi pada bagian permukaan berdasarkan gaya Van der Waals antar materi yang berinteraksi, 2) adsorpsi kimia, merupakan adsorpsi melalui formasi ikatan kovalen, dimana adsorpsi enzim menyebabkan terjadinya perubahan pH, temperatur, ikatan ionik dan

substrat. Kelebihan sistem ini adalah proses amobilisasi terjadi secara cepat.

2. amobilisasi ikatan kovalen

Ikatan kovalen dapat digunakan pada amobilisasi komponen biologi ke dalam suatu matriks membran atau secara langsung masuk ke dalam melalui permukaan transduser. Ikatan tersebut memiliki kelebihan dimana biomolekul teramobilisasi pada permukaan dan mempunyai variasi yang banyak dari gugus fungsi yang tersedia untuk amobilisasi kovalen. Meskipun ikatan kovalen umumnya digunakan untuk teknik amobilisasi pada enzim dan antibody, tetapi tidak sepenuhnya digunakan untuk amobilisasi pada sel.

3. amobilisasi ikatan silang

Metode ini didasarkan pada pembentukan ikatan silang antara molekul dari bahan pendukung yang inert dan pereaksi fungsional. Prosedur ikatan silang menjadi hal yang menarik karena kesederhanaannya dan dapat terjadi ikatan kimia yang kuat pada biomolekul. Kelemahan utama adalah adanya aktivitas yang berkurang karena distorsi dari konformasi enzim aktif selama terjadinya ikatan silang.

4. amobilisasi penjerapan

Penjerapan sel dalam struktur polimer dapat menghasilkan penghalang difusi yang dapat mencegah transport analit dan hasil dalam pencucian, kesetimbangan serta langkah-langkah pengukuran, amobilisasi

enzim pada cara ini diikuti dengan elektropolimerisasi yang menyebabkan enzim akan dikungkung oleh elektropolimer yang terbentuk. Pada metode ini terjadi penghambatan proses difusi terhadap substrat.

E. Kitin

Kitin berasal dari bahasa Yunani yaitu *chiton* yang berarti lapisan kulit dan ditemukan pertama kali oleh Henri Bradconnot pada tahun 1811 yang diisolasi dari jamur, dan 10 tahun kemudian ditemukan kitin dari kulit serangga. Kitin sebagai prekursor kitosan merupakan polimer yang paling melimpah di laut dan terbesar kedua di bumi setelah selulosa. Kitin merupakan bagian konstituen organik yang sangat penting pada kerangka hewan golongan arthropoda, molusca, nematoda, *crustacea* (kepiting, udang dan lobster), alga, komponen struktural eksoskeleton insekta, protista dan dinding sel fungi (22-40%). Pada *crustaceae*, kitin merupakan struktur yang *rigid* pada *eksoskeleton* karena pada rantai polimer N-asetil-D-glukosamin terdapat ikatan hidrogen antar molekul membentuk mikrofibril yang stabil dan tidak larut dalam air (Marganof, 2003).

Kitin mempunyai rumus empiris $(C_6H_9O_4.NHCOCH_3)_n$ dan merupakan zat padat berbentuk kristal berwarna putih, tidak berasa dan tidak berbau. Kitin tidak larut dalam air, asam anorganik encer, alkali encer dan pekat, alkohol dan pelarut organik lainnya yang bersifat polikationik tetapi larut dalam asam-asam mineral yang pekat.

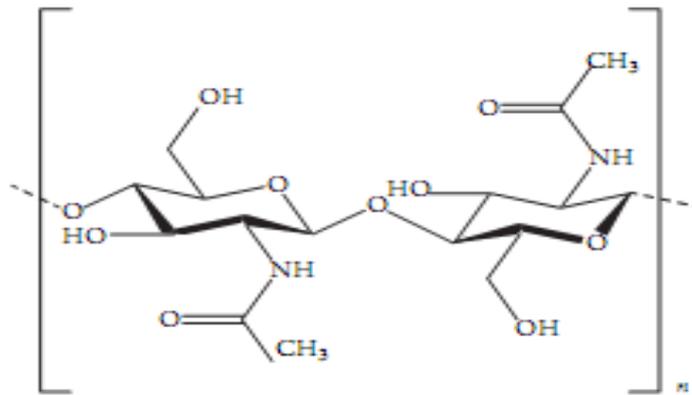
Kitin merupakan polimer berantai lurus yang tersusun oleh monomer β -(1,4)- N-asetil-D-Glukosamin atau dikenal dengan β -(1,4)-2-asetamida-2-

deoksi-D-glukosa. Polisakarida ini mempunyai berat molekul tinggi yang dapat dicerna oleh manusia, sedangkan kitosan merupakan kitin yang dihilangkan gugus asetilnya dengan menggunakan basa kuat. Kitosan memiliki persentase nitrogen lebih banyak daripada kitin. Gugus amina dan hidroksil di dalam kitosan menjadikan kitosan bersifat lebih aktif dan bersifat polikationik. Sifat tersebut dapat dimanfaatkan sebagai koagulan logam berat (Haliza, 2003; Durkin *et al.*, 2009).

Kitin berikatan glikosidik 1- 4 membentuk polimer linier dengan rantai panjang tanpa rantai samping yang secara kimia diidentifikasi serupa dengan selulosa. Perbedaannya dengan selulosa terdapat pada gugus hidroksil pada atom karbon alfa dari molekul selulosa diganti dengan gugus asetamida, pada atom C nomor 2 setiap monomer kitin merupakan gugus asetamida ($-NHCOCH$) (Nadarajah 2005). Struktur kitin dapat dilihat pada Gambar 7.

Dari sekian banyak sumber kitin dan kitosan, hanya kulit udang dan kepiting yang sudah dimanfaatkan secara komersial. Kulit udang dan rajungan merupakan limbah pengolahan udang dan rajungan yang mencapai 50%-60% berat utuh. Kandungan kitin dari limbah udang sebenarnya tidak terlalu banyak, akan tetapi limbah ini mudah diperoleh dan tersedia dalam jumlah yang besar sebagai hasil dari pengolahan udang. Kitin dari kulit krustacea tidak dalam bentuk murni, tapi umumnya terikat dengan protein, mineral dan berbagai macam pigmen. Sebagai contoh kulit udang mengandung 25-40% protein, 40-50% $CaCO_3$, dan 15-20% kitin,

tetapi besarnya komponen tersebut masih bergantung pada jenis udangnya (Purwatiningsih *et al.*, 2009).



Gambar 7. Struktur kitin (Lowdhi *et al.*, 2014)

Kitin dibuat dengan cara diisolasi atau diekstrak dari kulit udang dan rajungan dengan cara memisahkan mineral dan protein yang terikat padanya. Proses isolasi untuk tahap awal dilakukan pencucian terhadap limbah kulit udang tersebut lalu dikeringkan dan digiling (10 - 100 mesh). Proses selanjutnya terdiri atas tiga tahap untuk memperoleh kitin, yaitu : tahap pemisahan protein (deproteinasi) dengan menggunakan NaOH, tahap pemisahan mineral (demineralisasi) dengan menggunakan HCl, dan tahap penghilangan warna (dekolorisasi) dengan menggunakan NaHClO, H₂O₂. Setiap proses diikuti dengan tahap pencucian, pembilasan, penetralan pH dan pengeringan (Purwatiningsih *et al.*, 2009).

Tahap deproteinasi merupakan proses penghilangan protein yang terdapat pada limbah udang, dimana kadar protein dalam udang sekitar

21% dari bahan keringnya. Efektivitas proses bergantung pada kekuatan larutan basa dan suhu yang digunakan. Makin kuat basa dan suhu yang digunakan proses pemisahan tersebut makin efektif (Karmas, 1982 dalam Arif, 2013).

Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan senyawa anorganik yang terdapat pada limbah udang, dimana keberadaan senyawa ini berkisar antara 40 sampai 50% dari berat bahan keringnya (Suhardi, 1992 dalam Arif, 2013). Kandungan mineral utamanya adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_2(\text{PO})_4$ dalam jumlah kecil. Sedangkan tahap dekolorisasi bertujuan untuk menghilangkan zat warna (pigmen) yang terdapat dalam limbah kulit udang sehingga diperoleh produk kitin dengan penampakan yang lebih menarik (Purwatiningsih, 2009). Beberapa parameter spesifikasi kitin niaga dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Spesifikasi kitin niaga (Purwatiningsih et al, 2009)

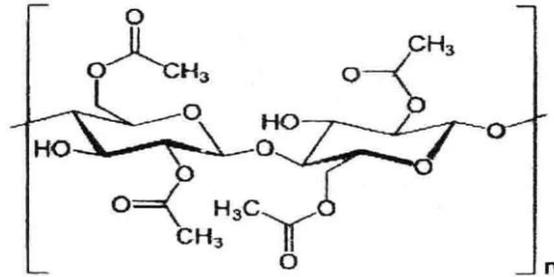
Parameter	Ciri
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air (% berat kering)	$\leq 10 \%$
Kadar abu (% berat kering)	$\leq 2 \%$
N-deasetilasi	$\geq 15 \%$
Kelarutan dalam :	
- Air	Tidak larut
- Pelarut organik	Tidak larut
- LiCl_2 /dimetiasetamida	Sebagian larut
Biodegradasi (enzim pemecah)	Lisozim dan kitinase

F. Selulosa Asetat

Selulosa asetat merupakan ester organik selulosa yang berupa padatan putih, tidak berbau, dan tidak berasa, dihasilkan melalui esterifikasi molekul selulosa dengan anhidrida asetat dan sejumlah katalis. Pembentukan selulosa asetat pada umumnya menggunakan bahan dasar selulosa dari kapas atau pulp kayu (Khadafi and Kencana, 2013), rami namun saat ini telah banyak dilaporkan penggunaan selulosa bakteri sebagai bahan dasar pembuatan selulosa asetat. Salah satunya oleh Seto dan Sari (2013) yang membuat selulosa asetat dengan bahan dasar nata de soya. Nata merupakan biomassa yang sebagian besar terdiri atas selulosa bakteri *Acetobacter xylinum* pada permukaan medium cair yang asam dan mengandung gula membentuk suatu lapisan atau massa dengan ketebalan beberapa centimeter (Asnetty, 2007; Seto and Sari, 2013).

Selulosa bakteri relatif lebih murni dibandingkan dengan selulosa kapas atau pulp kayu, karena relatif tidak bercampur dengan lignin, sehingga selulosa asetat yang dihasilkan juga menjadi lebih murni. Selulosa memiliki tiga gugus hidroksil per residu anhidroglukosa, sehingga dapat dibentuk menjadi selulosa mono-, di-, atau triasetat. Selulosa asetat yang homogen hanya diperoleh dari substitusi sempurna gugus-gugus hidroksil anhidroglukosa menjadi selulosa triasetat. Hal ini dapat terjadi karena sifat alami yang acak dari suatu reaksi (Roganda *et al.*, 2013). Jumlah gugus hidroksil yang tergantikan oleh gugus asetil berpengaruh terhadap aplikasi selulosa asetat. Sifat-sifat teknis selulosa asetat ditentukan oleh derajat

substitusinya, yang berperan terhadap aplikasi dan kelarutannya dalam suatu pelarut tertentu. Struktur selulosa asetat dapat dilihat pada Gambar.8.



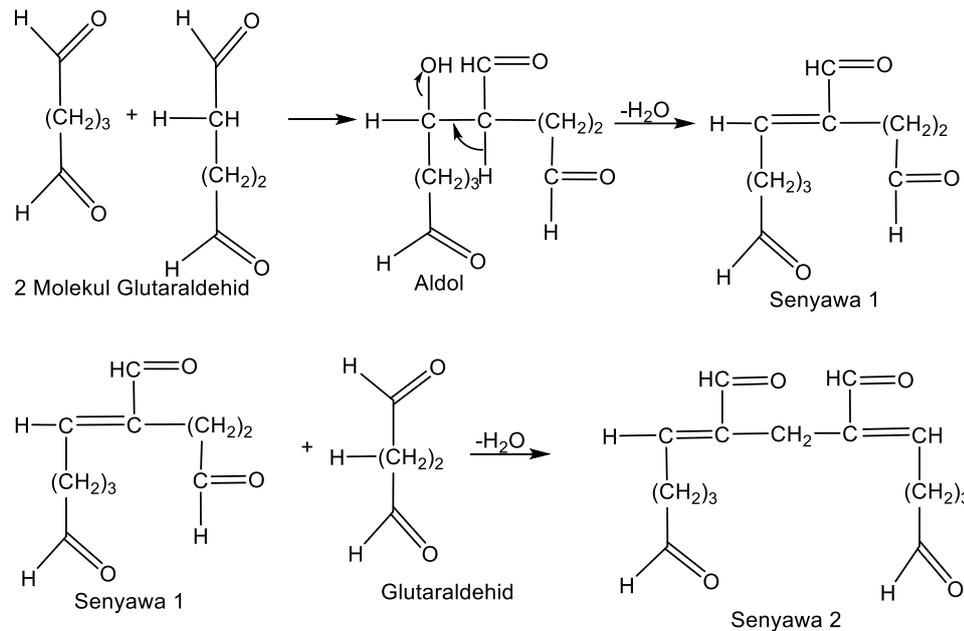
Gambar 8. Struktur molekul selulosa asetat (Roganda *et al.*, 2013).

Selulosa asetat merupakan bahan termoplastik pertama yang digunakan untuk *injection molding*. Selulosa asetat viskositas rendah digunakan dalam pabrik cat dan juga sebagai bahan pelapisan untuk kertas, logam, gelas dan bahan lainnya dan digunakan sebagai perekat untuk film topografi serta sebagai serat sintetik. Berkaitan dengan teknologi membran yang semakin berkembang, penggunaan selulosa asetat juga mempunyai peranan yang penting. Selulosa asetat yang strukturnya berpori dan rapat, merupakan bahan pembuat membran yang digunakan dalam osmosis balik untuk memurnikan air, pemekatan sari buah dan juga untuk membran desalinasi. Sifat membran yang dibuat dari selulosa asetat adalah tahan terhadap asam ataupun basa. Dalam proses pembuatan membran ini tidak diinginkan adanya selulosa triasetat tapi selulosa asetat sekunder (Roganda *et al.*, 2013).

G. Glutaraldehyd

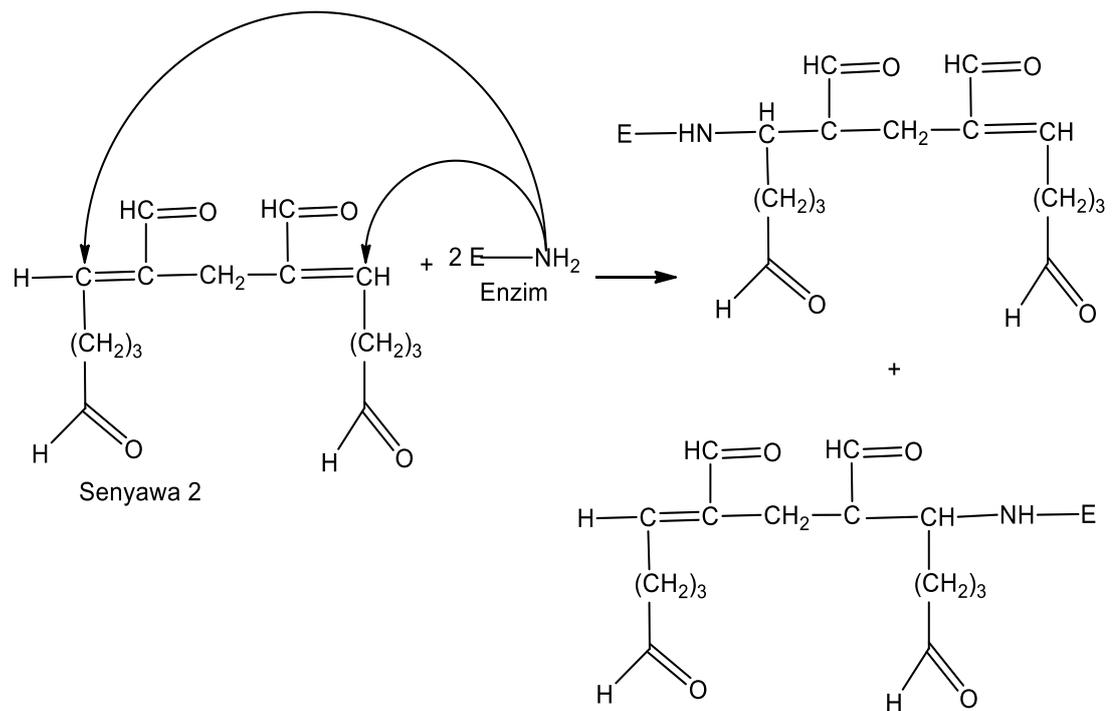
Glutaraldehyd adalah senyawa organik dengan rumus $C_5H_8O_2$ atau $CH_2(CH_2CHO)_2$, secara sistematis disebut sebagai pentana-1,5-dial. Glutaraldehyd merupakan cairan berminyak tidak berwarna, digunakan untuk mensterilkan peralatan medis dan gigi. Hal ini terutama tersedia sebagai larutan berair, dan kelompok larutan aldehyd yang terhidrasi (Kohlpaintner *et al.*, 2005).

Glutaraldehyd diproduksi secara industri oleh oksidasi siklopentana dan dengan reaksi Diels-Alder dari akrolein dan metil vinil eter diikuti oleh hidrolisis. Reaksi antara glutaraldehyd dengan molekul enzim pada proses amobilisasi belum jelas, tetapi diduga bahwa glutaraldehyd akan teradsorpsi secara fisik pada permukaan dan pori membran. Pada keadaan menempel, monomer glutaraldehyd dapat mengalami polimerisasi oleh reaksi kondensasi aldol yang menghasilkan alfa, beta- tak jenuh poli-glutaraldehyd (senyawa 2) seperti terlihat pada Gambar 9. Selanjutnya polimer glutaraldehyd dengan gugus amino dari protein enzim akan terikat secara kovalen seperti terlihat pada Gambar 10 (Karim, 2016).



Gambar 9. Polimerisasi glutaraldehid (Kohlpainter *et al.*, 2005)

Glutaraldehid sering digunakan dalam aplikasi biokimia sebagai krosslinker homobifungsional amina-reaktif. Suatu larutan glutaraldehid dari konsentrasi 0,1% sampai 1,0% dapat digunakan untuk sistem desinfeksi dan sebagai pengawet untuk penyimpanan jangka panjang. Glutaraldehid digunakan dalam mikroskop elektron biologis sebagai larutan fiksasi baik sendiri maupun campuran dengan formaldehid. Fiksasi biasanya diikuti dengan dehidrasi jaringan dalam etanol atau aseton, diikuti oleh embedding dalam resin epoksi atau resin akrilik (Karim, 2016).



Gambar 10. Pengikatan enzim pada glutaraldehid (dimodifikasi dari Kohlpaintner *at al.*, 2005)

H. Kerangka Pikir dan Hipotesis

1. Kerangka Pikir

Pada dekade terakhir prevalensi penderita *Hiperurisemia* yang disebabkan oleh peningkatan kadar asam urat dalam darah melewati batas normal cenderung meningkat di seluruh dunia. Kelebihan asam urat ini akan disimpan dalam jaringan dan persendian sehingga menimbulkan inflamasi. Kadar asam urat yang tinggi dapat mengindikasikan berbagai macam penyakit, seperti rematik, radang sendi, penyakit kardiovaskuler, penyakit saraf, resistensi insulin dan penyakit ginjal. Oleh karena itu perlu dilakukan pengukuran kadar asam urat di dalam tubuh secara akurat dan tepat agar

penyakit asam urat dapat dideteksi sejak dini sehingga tidak menimbulkan berbagai penyakit berbahaya.

Pada umumnya deteksi asam urat dapat dilakukan dengan metode elektrokimia, spektro UV, *chemiluminescence* dan kolorimetri. Namun metode ini memiliki kelemahan di antaranya membutuhkan peralatan besar, pelarut berbahaya, waktu, biaya yang mahal, selektivitas dan sensitivitasnya. Oleh karena itu suatu teknik pengukuran untuk mengatasi kelemahan yang ditimbulkan metode tersebut dikembangkan. Sekarang ini banyak dikembangkan metode analisis biosensor dengan pendekatan enzimatik. Penggunaan biosensor dengan tehnik amobilisasi enzim pada elektrodanya, memiliki kelebihan diantaranya dapat mendeteksi analit pada level sub mikro, menggunakan enzim dalam jumlah kecil dan dapat digunakan kembali, menjaga kestabilan enzim, menghemat waktu respon enzim, usia pemakaian enzim yang lebih lama, dan praktis bisa dibawa kemana saja..

Enzim urikase digunakan sebagai matriks elektroda biosensor asam urat, yang dihasilkan oleh semua organisme meliputi bakteri, jamur, tanaman dan hewan kecuali manusia. Di antara sumber-sumber enzim tersebut, bakteri lebih banyak digunakan dan lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat dan mudah ditingkatkan produksinya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan. Pada penelitian ini menggunakan urikase yang diisolasi dari bakteri termofilik. Bakteri ini unik karena mengandung senyawa aktif termasuk enzim ekstraseluler termostabil yang tahan

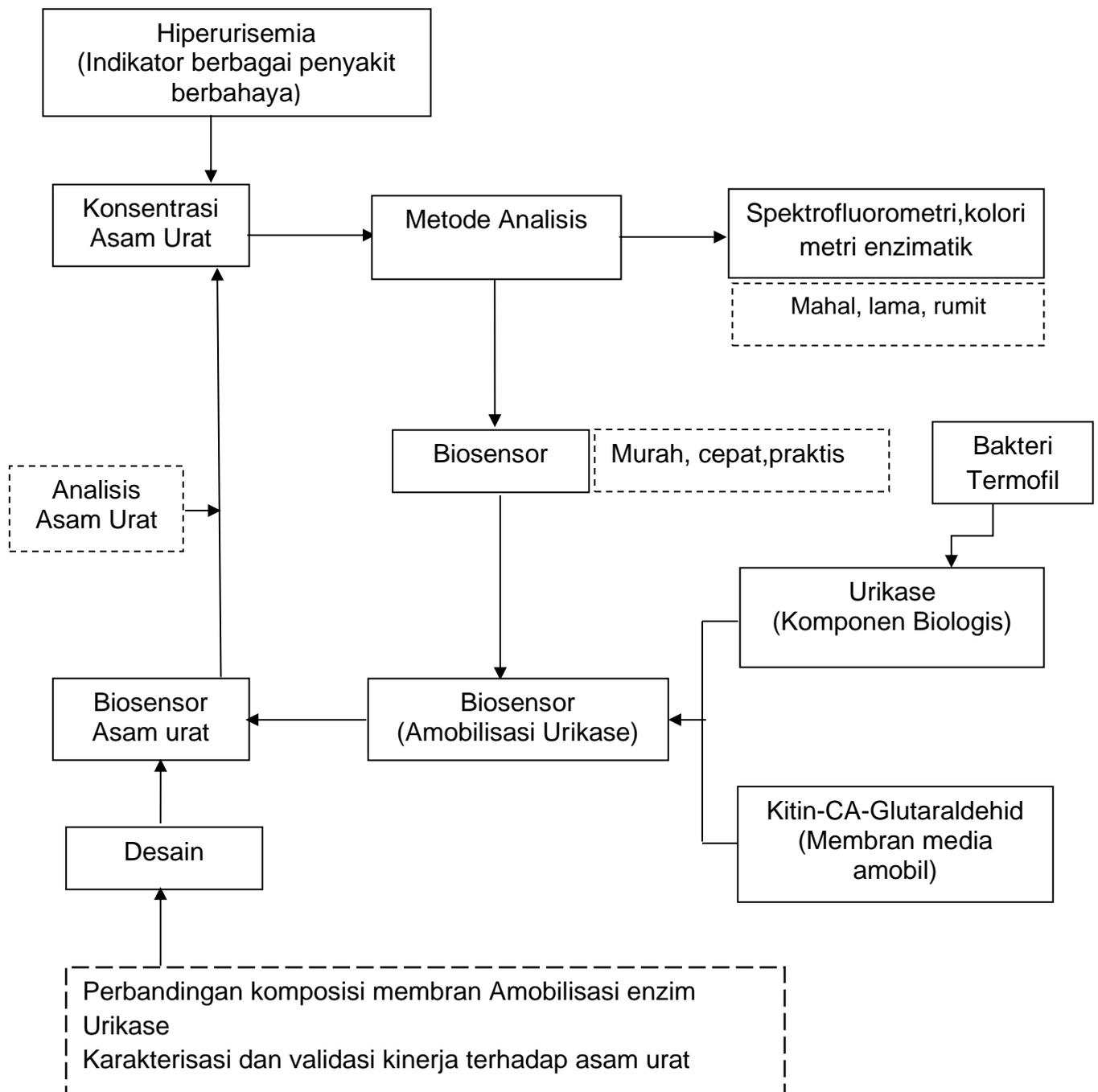
terhadap suhu tinggi, reagen kimia dan pH ekstrim dibandingkan mikroorganisme homolognya yang mesofil. Salah satu media pertumbuhan bakteri termofilik adalah sumber air panas. Enzim urikase yang digunakan pada penelitian ini bersumber dari bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Mataumpana yang berada di Kabupaten Buton Sulawesi Tenggara yang belum pernah dieksplorasi sebelumnya.

Desain biosensor asam urat pada penelitian ini menggunakan teknik amobilisasi enzim pada elektrodanya. Prinsip kerja biosensor didasarkan atas reaksi oksidasi asam urat oleh enzim urikase menjadi allantoin, CO_2 dan H_2O_2 . Deteksi secara amperometrik didasarkan pada pengukuran arus dari H_2O_2 hasil reaksi atau jumlah O_2 yang terpakai. Amobilisasi enzim urikase menggunakan bahan pendukung kitin-selulosa asetat dan glutaraldehid, yang akan berinteraksi membentuk suatu membran, sehingga komposisi membran kitin-selulosa asetat dan glutaraldehid akan mempengaruhi kinerja elektroda atau biosensor yang dihasilkan. Kinerja biosensor yang optimal dapat dilihat dari sensitivitas, selektivitas, waktu respons dan masa pakai elektroda tersebut. Membran kitin selulosa asetat juga memiliki kestabilan yang tinggi. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 11.

2. Hipotesis

- a. Sumber air panas Mataumpana di Kabupaten Buton mengandung bakteri termofil penghasil enzim urikase dengan karakter yang spesifik

- b. Bakteri termofil sumber air panas Mataumpana di Kabupaten Buton mengandung urikase dengan karakter yang baru dalam menguraikan asam urat menjadi allantoin.
- c. Komposisi membran kitin-selulosa asetat dan glutaraldehyd menentukan kinerja biosensor asam urat
- d. Kinerja biosensor asam urat yang maksimal dapat diketahui dengan melakukan karakterisasi dan validasi biosensor meliputi; limit deteksi, selektivitas, dan masa pakai elektroda biosensor.
- e. Biosensor urikase yang optimal memiliki sensitifitas yang sama dengan standar laboratorium klinik untuk analisis asam urat pada serum darah.



Gambar 11. Diagram alir kerangka pikir