



PENGGUNAAN WOLFRAM PADA POTENSIOMETRI UNTUK MENDETEKSI BUFFER POSPAT DAN ENZIM UREASE

Victor H. Sihombing dan Abd Hakim S

Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan
victorhasonangan@gmail.com, abdhakims07@gmail.com

Diterima: Agustus 2020. Disetujui: September 2020. Dipublikasikan: Oktober 2020

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan karakterisasi buffer fospat dan enzim urease melalui spektrum absorbansi UV-Vis dan FTIR menggunakan wolfram sebagai elektroda indikator. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode potensiometri yang dilakukan di laboratorium FMIPA UNIMED dan laboratorium Beacukai Belawan Medan. Karakterisasi absorbansi larutan elektrolit dalam variasi komposisi menggunakan UV – Vis menunjukkan bahwa larutan buffer pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes memiliki absorbansi tertinggi dibanding dengan larutan elektrolit dengan kandungan buffer pospat dan urea. Begitu juga dengan hasil FTIR menunjukkan hal yang serupa dimana larutan buffer pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes memiliki pola % T (transmisi) tertinggi dari larutan buffer posfat dan urea. Enzim urease pada penelitian ini berfungsi sebagai katalis. Berdasarkan karakterisasi UV-Vis dan FTIR menyimpulkan bahwa larutan buffer fospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes adalah yang terbaik.

Kata Kunci: Larutan Elektrolit, Wolfram UV-Vis, FTIR, Potensiometri, Biosensor

ABSTRACT

This study aims to characterize phosphate buffer and urease enzymes through UV-Vis and FTIR absorbance spectra using tungsten as an indicator electrode. The method used in this research is the potentiometric method which is carried out in the UNIMED FMIPA laboratory and Belawan Beacukai laboratory in Medan. Characterization of the absorbance of electrolyte solutions in variations in composition using UV-Vis showed that the phosphate buffer solution was 0.001 M pH 7.5 + KCl 0.001 M + urea 0.001 M + urease 3 drops had the highest absorbance compared with the electrolyte solution with buffer phosphate and urea contents. Likewise with the results of FTIR showed similar things where the phosphate buffer solution 0.001 M pH 7.5 + KCl 0.001 M + urea 0.001 M + urease 3 drops enzyme has the highest % T (transmission) pattern of phosphate buffer and urea solution. Urease enzyme in this study serves as a catalyst. Based on UV-Vis and FTIR characterization concluded that the phosphate buffer solution 0.001 M pH 7.5 + KCl 0.001 M + urea 0.001 M + urease 3 drops enzyme is the best.

Keywords: Electrolyte Solution, Tungsten, UV-Vis, FTIR, Potentiometry, Biosensor

PENDAHULUAN

Sensor potensiometri adalah alat yang mengukur tegangan antara dua elektroda indikator dan elektroda referensi tergantung pada konsentrasi analit, tanpa bertentangan dengan sel elektrokimia (Khopkar 1990; Skoog 2007; Wang, Xu, Zhang & Li 2008).

Analit mengikat bioreseptor ke permukaan elektroda indikator dalam larutan buffer, menghasilkan perbedaan potensial antara kedua elektroda. Sensor potensiometri memberikan peluang yang menarik dan dapat dicapai untuk melakukan analisis biomedis, lingkungan, dan industri dari laboratorium yang terpusat, karena sensor ini secara umum mudah digunakan, portabel, sederhana, dan murah (Gurtova, Ye & Chmilenko, 2013).

Besarnya potensial listrik pada sel potensiometri bergantung pada larutan elektrolit dan untuk memperoleh potensial listrik maksimal dilakukan optimalisasi larutan elektrolit. Sel potensiometri memerlukan bahan larutan elektrolit yang terdiri dari buffer sebagai penyetabil tegangan, enzim urease berfungsi sebagai katalis (pemercepat proses reaksi enzimatik), KCl untuk melihat aktivitas dan sensitifitas larutan dan urea sebagai analit dengan komposisi tertentu agar diperoleh hasil yang optimum (Gosser 1993; S, A. H 2018).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah potensiometri biosensor karena sel potensiometri menggunakan enzim. Sel potensiometri ISE (Ion Selective Electrode) larutan elektrolit yang terdiri dari buffer fosfat, KCl, enzim urease dan urea. Larutan elektrolit divariasikan konsentrasi pH dan molaritas. Tata cara optimalisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah (1) buffer pospat dioptimalisasi molaritas dan pHnya untuk mengetahui sifat asam-basanya buffer pospat, (2) buffer pospat ditambah KCl dan urea dioptimalisasi molaritas dan pHnya untuk mengetahui sensitifitas urea dan (3) buffer fosfat ditambah KCl, enzim urease dan urea dioptimalisasi molaritas dan pHnya untuk mengetahui kinerja katalis enzim urease dan respon waktu sinyal tegangan larutan elektrolit.

Telah dilakukan optimalisasi masing-masing buffer pospat, KCl, urea dengan enzim.

Buffer pospat 0,001M pH 7,5, KCl 0,001 M, urea 0,001 M (S., A. H 2018). Tata cara yang digunakan adalah buffer pospat dicampur dengan KCl dan enzim urease injeksi dengan urea 10 μ L tetapi hasilnya belum optimal. Untuk menghemat biaya dan waktu karakterisasi larutan elektrolit tidak dilakukan proses elektrokimia hanya mengkarakterisasi larutan elektrolit menggunakan FT-IR dan UV - Vis dari variasi molaritas dan pH. Berikutnya dilakukan respon waktu agar sel potensiometri berperan sebagai pengukur tegangan dalam selang waktu menggunakan potensiometer dan power lab melalui tampilan komputer.

Spektrofotometer UV-VIS adalah sejenis peralatan yang digunakan untuk mengukur serapan molekul organik atau anorganik yang diberikan sumber cahaya dengan rentang panjang gelombang di daerah UV-VIS (180-770 nm). Kelebihan metode ini di antaranya menghasilkan absorbans maksimum lebih besar dan analisisnya lebih cepat (Hikmatullah, 2013; Mulja & Suharman 1995).

Spektrofotometri FT-IR (Fourier Transform Infra Red) sangat penting dalam kimia modern, terutama dalam bidang kimia organik merupakan alat rutin dalam penemuan gugus fungsional, pengenalan senyawa, dan analisa campuran (Khan, Peh & Ching 2002; Tilstone 2006).

Biosensor enzim potensiometri adalah detektor yang mudah untuk kuantifikasi konsentrasi urea dalam proses industri, atau untuk memantau pasien dengan diabetes, kerusakan ginjal atau kerusakan hati (Lai, Peter, Brown & Spearman 2017). Pengukuran konsentrasi urea dalam darah menunjukkan indikasi ginjal dan fungsi hati, gagal hati / jantung, input katabolisme protein atau protein yang berlebihan, malnutrisi, kehamilan, syok dan tekanan (Davey 2005; S., A. H, Tarigan, Situmorang, Sembiring, 2019).

Berdasarkan keadaan diatas, maka dilakukan penelitian, dimana terlebih dahulu dikarakterisasi larutan elektrolit dengan menggunakan FT-IR, UV - Vis kemudian melakukan optimalisasi larutan elektrolit buffer fosfat ditambah urea dan buffer fosfat ditambah KCl, enzim urease diinjeksi dengan urea dan melakukan respon waktu larutan elektrolit

menggunakan sel potensoimetri menggunakan wolfram sebagai elektroda indikator.

METODE PENELITIAN

Bahan – bahan yang digunakan urea standar 56180 Sigma-Aldrich, KCl, baffle pospat KH_2PO_4 , Enzim EC 3.5.1.5 (Urease) U4002. Pengujian potensiometri dilakukan menggunakan elektroda indikator wolfram (W) dan elektroda referensi RE-5B Ag/AgCl MF-2052.

Sel-sel potensiometri terdiri dari elektroda referensi (Ag / AgCl) dan elektroda indikator (ion selektif (ISE)). Elektroda indikator dan elektroda referensi dicelupkan kedalam gelas ukur yang sudah berisi larutan elektrolit. Sel-sel potensiometri diisi dengan larutan buffer fosfat dan enzim urease dan diaduk sampai homogen (Wang , Xu , Zhang, Li 2008) . Gelas ukur diletakan diatas magnetik stirrer yang digunakan untuk mengaduk dan memanaskan larutan elektrolit saat dicampurkan. Elektrolit indikator dan referensi yang berfungsi sebagai sensor elektrokimia. Potensial tegangan yang dihasilkan elektroda dikonversi dengan potensiometer menjadi mV dan rekaman sinyal tegangan ditampilkan pada komputer.

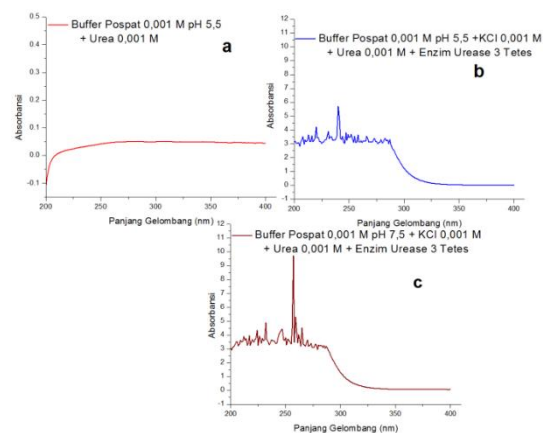
Pengujian larutan terdiri dari baffle pospat dan baffle pospat ditambah KCl, enzim urease dan urea. Larutan elektrolit dikarakterisasi menggunakan UV – Vis untuk melihat absorbansi dan FTIR untuk melihat gugus fungsinya. Kemudian larutan elektrolit dioptimalisasi melalui tahap-tahap berikut baffle pospat dioptimalisasi molaritas dan pHnya untuk mengetahui sifat asam-basanya, baffle pospat dan buffer fosfat ditambah KCl, enzim urease dan urea dioptimalisasi molaritas dan pHnya untuk mengetahui kinerja katalis enzim urease dan respon waktu sinyal tegangan larutan elektrolit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi UV-Vis

Pada gambar 1 (a) terlihat bahwa belum terbentuk puncak absorbansi pada panjang gelombang 200 – 300 nm, (b) terbentuk absorbansi pada panjang gelombang 240 nm dengan tinggi puncak absorbansi sebesar

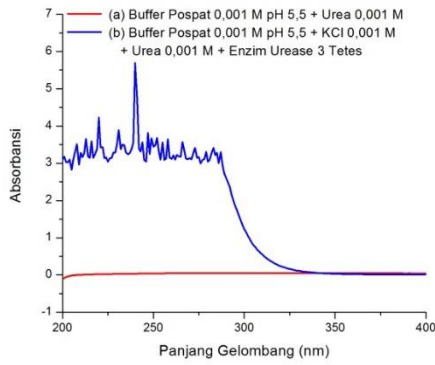
5,6939 dan (c) terbentuk absorbansi pada panjang gelombang 257 nm dengan tinggi puncak absorbansi sebesar 9,7281 dengan pelacakan pada panjang gelombang antara 200 – 400 nm.



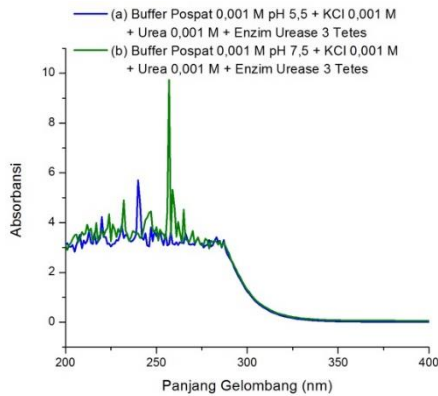
Gambar 1. Pola Absorbansi UV-Vis Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + Urea 0,001 M, (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes, (c) Buffer Pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes

Pada gambar 2 terlihat tiga larutan elektrolit dengan pH buffer pospat yang sama yaitu pH 5,5 yang terdiri dari (a) buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + urea 0,001 M, (b) buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M dan (c) buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes, menunjukkan absorbansi tertinggi terdapat pada larutan (c) sebesar 5,6939 pada panjang gelombang 257 nm.

Pada gambar 3 terlihat bahwa larutan elektrolit menggunakan bahan yang sama tetapi konsentrasi dan molaritas yang berbeda. Berdasarkan gambar ini terpilih larutan elektrolit yang terbaik (buffer pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes) dengan absorbansi sebesar 9,7281 pada panjang gelombang 257 nm.



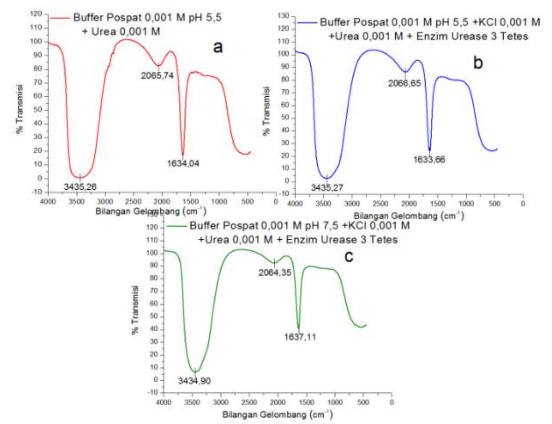
Gambar 2. Pola Absorbansi UV-Vis Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + Urea 0,001 M, (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M, (c) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes



Gambar 3. Pola Absorbansi UV-Vis Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes dan (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes

Hasil Karakterisasi Spektrofotometer FTIR

Pada gambar 4 terlihat bahwa daerah serapan pertama larutan (a) buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + urea 0,001 M berada di bilangan gelombang 3435,26 dengan transmisi sebesar 0.64 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus N – H. Daerah serapan kedua berada di bilangan gelombang 2065,74 dengan transmisi sebesar 82,31 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus O – H. Daerah serapan ketiga berada di bilangan gelombang 1634,04 dengan transmisi sebesar 17,31 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus C = O.



Gambar 4. Pola Trasmisi FTIR Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + Urea 0,001 M, (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes, (c) Buffer Pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes

Pada daerah serapan pertama larutan (b) buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes berada di bilangan gelombang 3435,27 dengan transmisi sebesar 2,63 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus N – H. Daerah serapan kedua berada di bilangan gelombang 2066,65 dengan transmisi sebesar 86,47 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus O – H. Daerah serapan ketiga berada di bilangan gelombang 1633,66 dengan transmisi sebesar 23,94 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus C = O.

Pada daerah serapan pertama larutan (c) buffer pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes berada di bilangan gelombang 3434,90 dengan transmisi sebesar 6,56 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus N – H. Daerah serapan kedua berada di bilangan gelombang 2064,35 dengan transmisi sebesar 92,43 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus O – H. Daerah serapan ketiga berada di bilangan gelombang 1637,11 dengan transmisi sebesar 40,99 dan hasil tersebut menunjukkan adanya gugus C = O.

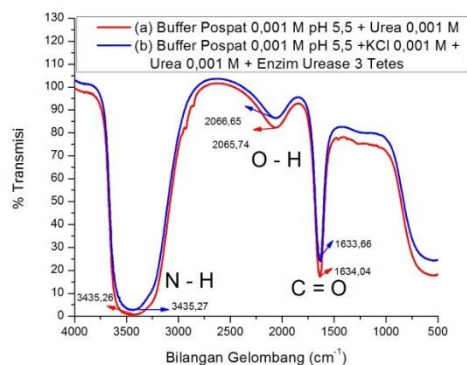
Tabel 1. Tabel Hasil Karakterisasi FTIR Larutan Elektrolit

Larutan	Bilangan	%	Gugus
---------	----------	---	-------

Elektrolit	Gelombang cm^{-1}	Transmisi	Fungsi
Buffer Pospat pH 5,5 + Urea	3435,26	0.64	N - H
	2065,74	82.31	O - H
	1634,04	17.31	C = O
Buffer Pospat pH 5,5 + KCl + Urea + Enzim Urease	3435,27	2.63	N - H
	2066,65	86.47	O - H
	1633,66	23.94	C = O
Buffer Pospat pH 7,5 + KCl + Urea + Enzim Urease	3434,90	6.56	N - H
	2064,35	92.43	O - H
	1633,66	40.99	C = O

Pada tabel 1 menunjukkan hasil bilangan gelombang yang terbaca dari keempat grafik panjang gelombang.

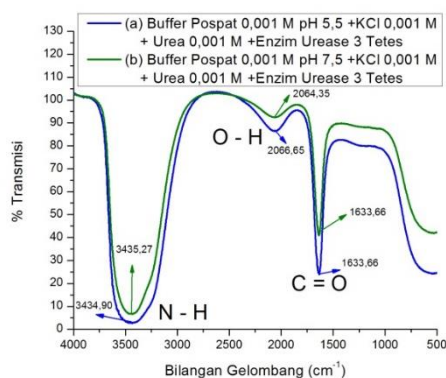
Pada gambar 5 dapat dilihat bahwa daerah transmisi dari kedua larutan elektrolit tersebut yang terserap adalah daerah bilangan gelombang 3400, 2000 dan 1600 cm^{-1} , yang mana daerah puncak tersebut menunjukkan adanya ikatan N - H , O - H, C - O. Dari kedua larutan tersebut menunjukkan transmisi tertinggi terdapat pada larutan (b) sebesar 103.63. Adanya proses penambahan KCl dan enzim urease menyebabkan terjadi penurunan serapan, serapan IR bergeser dan terbentuknya serapan baru di daerah bilangan gelombang tertentu. Perubahan pola spektrum yang terjadi karena proses aktivasi atau penambahan zat (Lempang, Wasrin & Gustan 2011).



Gambar 5. Pola Trasmisi FTIR Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + Urea 0,001 M, (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes

Larutan (b) mengalami kenaikan serapan jika dibandingkan dengan (a), pergeseran bilangan gelombang dan %T pada gugus fungsional OH setelah diaktivasi dengan enzim urase yang fungsinya sebagai katalis. Keadaan yang terprotonasi menunjukkan bahwa ikatan O-H telah dinaikkan karakter ikatan dan panjangnya bertambah sehingga terjadi penurunan vibrasi (Sastrohamidjojo 1991). Penurunan vibrasi tersebut menyebabkan terjadinya pergeseran bilangan gelombang dan kenaikan %T (b) setelah diaktivasi dengan enzim urease 3 tetes.

Pada gambar 6 menunjukkan bahwa adanya perbesaran atau meningkatkan pola transmisi yang terjadi pada buffer pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes. Sedangkan buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes menurunkan pola transmisi. Pola spektrum FTIR pada trasmisi (b) yang memiliki pH lebih tinggi pada gambar 6 menunjukkan bahwa trasmisi yang dihasilkan cenderung bersifat lebih polar (Wibowo, Wasrin & Gustan 2011).



Gambar 6. Pola Trasmisi FTIR Menggunakan Larutan (a) Buffer Pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes dan (b) Buffer Pospat 0,001 M pH 7,5 + KCl 0,001 M + Urea 0,001 M + Enzim Urease 3 Tetes

Dari hasil pengujian UV-Vis disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi akan menambah besar absorbansi dari larutan elektrolit. Dan pola absobansi UV-Vis larutan buffer fosfat dengan KCl, urea dan enzim urease lebih menonjol dibanding dengan larutan elektrolit dengan kandungan buffer pospat dan urea seperti pada gambar 2 Begitu juga dengan hasil FT-IR menunjukkan hal yang serupa dimana larutan buffer posfat dengan KCl dan urea mengalami peningkatan transmisi dari larutan buffer posfat dan urea seperti pada gambar 5, sedangkan larutan buffer fosfat dengan KCl, urea dan enzim urease kembali memicu transmisi larutan buffer fosfat dan urea, jadi enzim urease tersebut mengikuti fungsinya sebagai katalis (pemercepat reaksi).

Perlu diperhatikan penambahan setiap zat dalam suatu larutan yang berperan sebagai peningkatan transmisi dan katalis melalui FTIR. Perlu mensinkronisasikan pola absorbansi dengan pola transmisi suatu larutan elektrolit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Variasi komposisi larutan elektrolit yang digunakan dalam pH dan molaritas sebagai berikut (1) larutan pertama: buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + urea 0,001 M, (2) larutan ketiga: buffer pospat 0,001 M pH 5,5 + KCl 0,001 M + urea 0,001 M +enzim urease 3 tetes, (3) larutan keempat: buffer pospat 0,001

M pH 7,5 + KCl 0,001 M +urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes.

Karakterisasi absorbansi larutan elektrolit dalam variasi komposisi menggunakan UV – Vis menunjukkan bahwa larutan buffer pospat 0,001 M pH 7,5 +KCl 0,001 M +urea 0,001 M + enzim urease 3 tetes memiliki absorbansi terbaik. Karakterisasi gugus fungsi larutan elektrolit dalam variasi komposisi menggunakan FTIR menunjukkan bahwa buffer pospat 0,001 M pH 7,5 +KCl 0,001 M +urea 0,001 M +enzim urease 3 tetes memiliki % T (transmisi) terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Devey, Patrick, (2005). *At A Glance Medicine*, Jakarta, Erlangga
- Gurtova, O., Ye, L. & Chmilenko, F., (2013). Potentiometric propranolol-selective sensor based on molecularly imprinted polymer, *Analytical Chemistry Department* 2013, 405:287–295
- Gosser, D. K., (1993). *Cyclic Voltammetry Simulation and Analysis of Reaction Mechanism*, USA, VCH Publisher
- Khan, T. A., Peh, K. K., & Ching, H. S., (2002). Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan, *Journal Pharmacies Pharmaceutical Science*, Vol. 6(3):205-212
- Khopkar, S. M., (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Universitas Indonesia, Jakarta
- Lai C. Y., Peter J. S., Brown J. W. & Spearman P., (2017). A Urea Potentiometric Biosensor Based on a Thiophene Copolymer, *Biosensors* 2017, 7, 13;
- Lempang, M., Wasrin, S. & Gustan, P., (2011). *Struktur Dan Komponen Arang Serta Arang Aktif Tempurung Kemiri*, Bogor, Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan.
- Misnawati, L., (2017). Karakterisasi Sampel Hasil Preparasi Dan Sintesis Graphene Oxide Berbahan Dasar Minyak Jelantah Menggunakan Metode Liquid Mechanical Exfoliation Dalam Pelarut N-Heksana Dengan Variasi Waktu Blender Dan Konsentrasi Larutan Sebagai Upaya Pemanfaatan Limbah

Minyak Goreng, Yogyakarta,
Universitas Negeri Yogyakarta, Jurnal
Skripsi

- Mulja, M., & Suharman, (1995). Analisis Instrumental, Surabaya, Airlangga University Press
- S., A. H., (2018). Karakterisasi Urea Dalam Larutan Buffer Menggunakan Enzim Urease Dengan Metode Potensiometri, Prosiding Seminar Nasional SINASTEKMAPAN (E-Journal), Volume I November 2018 Universitas Quality, e-ISSN : 2654-8135
- S., A. H., Tarigan, K., Situmorang, M., Sembiring T., (2019). Characterization Membrane Composition Of PVA-Enzyme Coating PVC-KTpClPB As Urea Sensor With UV-VIS, SEMEDX and XRD, IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1317 (2019) 012042, DOI:10.1088/1742-6596/1317/1/012042
- Sastrohamidjojo, H., (1991). Spektroskopi,, Yogyakarta , Liberty Yogyakarta.
- Skoog, D. A., (2007). Principles Of Instrumental Analysis, CBS College Publishing, USA
- Tilstone, William. J., (2006). Forensic Science: An Encyclopedia of History, Method, And Techniques, ABX-CLIO Inc, California
- Wang, Y., Xu, H., Zhang, J. & Li, G., (2008). Electrochemical Sensor for Clinic Analisis, Review, 8, 2043-2081.
- Wibowo, S., Wasrin, S.,& Gustan, P., (2011). Aplikasi Arang Tempurung Kelapa sebagai Adsorben Udara Pembakaran untuk Meningkatkan Prestasi Sepeda Motor Bensin 4-Langkah, Lampung, Universitas Lampung
- Winata, I., (2013), Karakterisasi Jamu Oplosan Dengan Menggunakan Alat Spektrofotometer Fourier Transform - Infra Red (FT-IR) Di Balai Pengujian Dan Identifikasi Barang, Medan, Universitas Sumatera Utara