

**PENENTUAN KESTABILAN DAN LINEARITAS PADA
BIOSENSOR ASAM URAT MENGGUNAKAN URIKASE
DARI *Lactobacillus plantarum* TERMODIFIKASI ZEOLIT
SECARA ELEKTROKIMIA**

FAHRUL KAMAL



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUANALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul Penentuan Kestabilan dan Linearitas Pada Biosensor Asam Urat Menggunakan Urikase dari *Lactobacillus plantarum* Termodifikasi Zeolit Secara Elektrokimia adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2014

Fahrul Kamal
NIM G44090093

ABSTRAK

FAHRUL KAMAL. Penentuan Kestabilan dan Linearitas pada Biosensor Asam Urat Menggunakan Urikase dari *Lactobacillus plantarum* Termodifikasi Zeolit secara Elektrokimia. Dibimbing oleh DYAH ISWANTINI PRADONO,NOVIK NURHIDAYAT, dan DEDEN SAPRUDIN.

Penggunaan biosensor untuk mengukur asam urat telah banyak dikembangkan dengan menggunakan urikase yang bekerja spesifik pada asam urat. Urikase murni sangat mahal harganya, sebagai alternatif digunakan urikase dari *Lactobacillus plantarum* untuk pengukuran asam urat. Namun, urikase yang dihasilkan dari *L.plantarum* memiliki stabilitas serta linearitas yang masih rendah. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini enzim urikase *L.plantarum* diimobilisasi pada zeolit alam (Bayah, Banten) sehingga meningkatkan stabilitas dan linearitasnya. Stabilitas dari biosensor asam urat bertahan hingga 22 hari. Pada rentang konsentrasi 0.4-4 mM dihasilkan sensitivitas sebesar $3.47 \mu\text{A mM}^{-1}$ dengan $R^2= 97.57\%$. Kondisi optimum yang diperoleh urikase *L.plantarum* yang diimobilisasi pada zeolit alam dengan desain *central composite* adalah pH 10, suhu 40°C , massa zeolit 255 mg, dan konsentrasi asam urat 3.8 mM.

Kata kunci: asam urat, urikase, zeolit.

ABSTRACT

FAHRUL KAMAL. Determination of Stability and Linearity of Biosensor Made of Electrochemically Modified Zeolites *Lactobacillus plantarum* Uricase. Supervised by DYAH ISWANTINI, NOVIK NURHIDAYAT, dan DEDEN SAPRUDIN.

Biosensor for uric acid measurement has been developed using uricase which works specifically for uric acid. uricase is expensive, therefore uricase from *Lactobacillus plantarum* was used for uric acid measurement as an alternative. However, the uricase from *L.plantarum* has low stability and linearity. Therefore, in this study, uricase from *L.plantarum* was immobilized on natural zeolite (Bayah, Banten) in order to increase its stability and linearity. Stability of uric acid biosensor could be sustained up to 22 days. Sensitivity of $3.47 \mu\text{A mM}^{-1}$ was obtained at concentration range of 0.4–4 mM with $R^2=97.57\%$. The optimum condition for the immobilized uricase with central composite design was at pH 10, temperature of 40°C , uric acid concentration of 3.8 mM, and zeolite mass of 255 mg.

Key words: uric acid, uricase, zeolite

**PENENTUAN KESTABILAN DAN LINEARITAS PADA
BIOSENSOR ASAM URAT MENGGUNAKAN URIKASE
DARI *Lactobacillus plantarum* TERMODIFIKASI ZEOLIT
SECARA ELEKTROKIMIA**

FAHRUL KAMAL

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains
pada
Departemen Kimia

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUANALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

Judul Skripsi: Penentuan Kestabilan dan Linearitas Pada Biosensor Asam Urat
Menggunakan Urikase dari *Lactobacillus plantarum* Termodifikasi
Zeolit Secara Elektrokimia

Nama : Fahrul Kamal
NIM : G44090093

Disetujui oleh

Prof Dr Dyah Iswanti Pradono, MScAgr
Pembimbing I

Novik Nurhidayat, PhD
Pembimbing II

Dr. Deden Saprudin, MSi
Pembimbing III

Diketahui oleh

Prof Dr Dra Purwatiningsih Sugita, MS
Ketua Departemen

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nyasehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah yang berjudul Penentuan Kestabilan dan Linearitas Pada Biosensor Asam Urat Menggunakan Urikase dari *Lactobacillus plantarum* Termodifikasi Zeolit Secara Elektrokimiasebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Penulis mengucapkan terima kasih atas semua bimbingan, dukungan, dan kerjasama yang telah diberikan oleh ibu ProfDrDyah Iswantini Pradono. M Agr selaku pembimbing I, bapak Dr Novik Nurhidayat. PhD selaku pembimbing II dan bapak Dr Deden Saprudin. MSi selaku pembimbing III. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Bapak Acun dan Mba Ratih atas diskusi dan saran berkaitan dengan penelitian. Terima kasih juga kepada bapak Ismail dan ibu Ai atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Kimia Fisik. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Ayah, Ibu, serta keluarga, atas segala doa dan kasih sayangnnya. Ucapan terima kasih kepada Rifka, Aji, Lila, Mba Imas, Bang Royhandan teman teman kimia angkatan 46 yang telah memberikan semangat dalam menyusun karya ilmiah ini.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

Bogor, Agustus 2014

Fahrul Kamal

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vi
PENDAHULUAN	1
METODE	3
Bahan dan Alat	3
Prosedur	3
HASIL DAN PEMBAHASAN	5
Pembuatan dan Karakterisasi Elektrode	5
Aktivasi zeolit	7
Pertumbuhan dan Pemanenan <i>L. plantarum</i>	7
Optimalisasi Enzim Urikase <i>L. plantarum</i>	7
Linearitas	10
Stabilitas	11
SIMPULAN DAN SARAN	12
Simpulan	12
Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	13
LAMPIRAN	16

DAFTAR TABEL

1 Arus oksidasi rata-rata beberapa jenis mediator	6
---	---

DAFTAR GAMBAR

1 Voltamogram siklik elektrode pasta karbon pada elektrode 49 ,51, dan 57	6
2 Voltamogram perbedaan arus oksidasi pada blanko dan asam urat	8
3 Kontur Warna Optimalisasi	9
4 Persamaan regresi dan linearitas	11

DAFTAR LAMPIRAN

1 Bagan alir penelitian	16
2 Hasil Optimasi	17
3 Pengukuran arus oksidasi	18
4 Stabilitas biosensor	19

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Asam urat lebih dikenal di masyarakat sebagai sebutan untuk suatu penyakit, tetapi sebenarnya asam urat merupakan produk akhir metabolisme purin dalam tubuh. Asam urat selalu ada dalam tubuh manusia, yang apabila kadarnya meningkat dapat menimbulkan beberapa keluhan. Peningkatan kadar asam urat darah atau hiperurisemia adalah kadar asam urat darah di atas 7 mg/dL pada laki-laki dan di atas 6 mg/dL pada perempuan (Mulyasuryani dan Hardiastutie 2011). Hiperurisemia menimbulkan keluhan kesehatan yang beragam, tetapi terdapat pula hiperurisemia yang tidak menimbulkan keluhan. Hal ini terjadi karena terdapat stadium hiperurisemia dan banyak faktor yang dapat mempengaruhi keadaan tersebut. Keluhan kesehatan itu sendiri merupakan suatu gejala dari beberapa penyakit, diantaranya gout arthritis akut, pembentukan tofus, pembentukan batu asam urat pada saluran kencing, dan gagal ginjal (gout nefropati).

Salah satu metode yang umum dan banyak digunakan untuk menentukan kadar asam urat adalah spektrofotometri, yang didasarkan atas serapan maksimum aktivitas enzim terhadap suatu substrat (Mateo *et al.* 2007). Metode spektrofotometri saat ini mulai dialihkan, karena kurang spesifik, mahal dan sangat peka terhadap cahaya. Sehingga, masih terdapat kendala untuk pengukuran pada sampel dengan konsentrasi yang tinggi. Maka, sangat penting dilakukan penggunaan metode yang tepat agar dapat mengukur sampel dengan konsentrasi yang tinggi. Metode elektrokimia merupakan metode yang tidak terkendala akantingginya konsentrasi sampel (Khasanah 2012).

Aslanoglu (2007) telah melakukan penentuan asam urat dengan metode *Glassy Carbon Electrode* (GCE) dengan *3-acetylthiophene* menggunakan voltametri siklik, menghasilkan linearitas dan limit deteksi yang baik. Liu *et al.* (2008) juga telah melakukan penentuan asam urat dengan metode GCE dengan *4-(2-pyridylazo)-resorcinol* yang menghasilkan linearitas puncak arus yang baik yaitu sebesar 1.0×10^{-8} - 5.0×10^{-5} mol/L dan limit deteksi (S/N=3) sebesar 1.0×10^{-9} mol/L. Khasanah (2012) menyatakan bahwa konsentrasi asam urat yang diperoleh dari analisis sampel serum baik menggunakan elektrode HMD (*Hanging Mercury Drop*) maupun HMD-cetakan molekul tidak jauh berbeda dibandingkan konsentrasi yang diperoleh menggunakan metode spektrofotometri. Seiring berjalannya waktu banyak peneliti menggunakan biosensor yaitu perangkat analisis yang menggabungkan komponen biologis dengan detektor fisikokimia (Arslan 2008). Keunggulan biosensor tersebut adalah akurat, praktis, selektif, dan cepat (Mulyasuryani dan Hardiastutie 2011).

Biosensor asam urat membutuhkan enzim urikase yang merupakan komponen penting untuk mendeteksi adanya asam urat dalam senyawa target. Enzim urikase yang pada umumnya diperoleh dari hewan vertebrata, namun isolasi yang rumit, ketersediaan bahan atau sumber enzim yang minim, dan biaya yang besar mendorong penggunaan sumber alternatif lain seperti kapang, khamir, dan bakteri (Attala *et al.* 2009). *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu bakteri penghasil enzim urikase yang telah diketahui memiliki aktivitas yang baik

terhadap asam urat. Bakteri ini dipilih karena mudah diperoleh, ketahanan hidupnya relatif tinggi, dan tidak sulit penanganannya (Rostini 2007). Bakteri *L. plantarum* diketahui dapat menghasilkan beberapa enzim yang dapat dimanfaatkan sebagai komponen pengenalan hayati biosensor. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri tersebut salah satunya adalah piruvat oksidase (POX) yang digunakan pada biosensor fosfat (Gavalas dan Chaniotakis 2001), Penelitian tersebut menghasilkan aktivitas, stabilitas dan keterulangan yang baik. Bakteri ini juga menghasilkan laktat oksidase (LOX) yang digunakan pada biosensor asam laktat (Gamella *et al.* 2010) yang menghasilkan standar deviasi relatif yang baik dan Mardiah (2010) menggunakan *L. plantarum* untuk menghasilkan urikase oksidase yang dapat digunakan untuk biosensor asam urat.

Biosensor yang dipakai seringkali masih mempunyai stabilitas yang rendah. Untuk meningkatkan stabilitas dari biosensor, enzim dapat diimmobilisasi pada suatu matriks nanokomposit. Liu *et al.* (2000) mengimmobilisasi *horseradish peroxidase* (HRP) pada *Glassy Carbon Elektrode* (GCE) untuk mendeteksi hidrogen peroksida yang menampilkan kestabilan yang baik serta transfer yang efisien antara HRP dengan elektrode. Lu (2004) memodifikasi GCE dengan nanopartikel emas untuk menentukan asam urat. Elektrode hasil modifikasi menunjukkan sensitivitas, keterulangan dan stabilitas yang baik. Zuo *et al.* (2008) menggunakan silver nanopartikel untuk mengimmobilisasi GOX yang menghasilkan aktivitas sebesar 91% selama 30 hari dalam buffer. Riyanto *et al.* (2012) juga memanfaatkan nanopartikel magnetik (Fe_3O_4) sebagai bahan aktif yang dapat mengimmobilisasi analit pada permukaan sensing sehingga dapat meningkatkan kinerja biosensor dan menyimpulkan bahwa nanopartikel magnetit dengan ukuran butir lebih kecil memiliki potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan dalam aplikasi biosensor SPR. Salah satu bahan yang berpotensi sebagai nanokomposit adalah zeolit. Balal *et al.* (2009) menggunakan nanopartikel zeolit termodifikasi FeCl_3 pada elektrode pasta karbon untuk mengukur dopamine dan triptopan yang menghasilkan arus yang lebih tinggi dibandingkan dengan elektrode tanpa penambahan zeolit. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan menggunakan enzim urikase dari *Lactobacillus plantarum* yang akan diimmobilisasi pada zeolit untuk lebih meningkatkan stabilitas dan aktivitasnya, serta menentukan kinetika dari biosensor agar dapat dikembangkan ke arah aplikatif.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, tanur, inkubator (Sanyo), autoklaf (Hariyama), sentrifus (Kokusen H-1500 F), seperangkat alat voltameter siklik (eDaq potensiostat E-Corder 410), gelas piala, labu takar, gelas pengaduk, termometer, pipet mikrometer (Gilson), pinset, pipet mohr/volumetrik, pH meter (TOA DK HM-250), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), dan elektrode. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bufer borat, sel *L. plantarum* Mar8, NaCl 0.85% (Himedia, India), akuades, grafit, minyak

parafin, glukosa (Himedia, India), pepton (Himedia, India), natrium asetat (Himedia, India), larutan garam, tween 80 (Applichem, Jerman), *beef extract* (Difco, USA), *yeast extract* (Himedia, India), DMSO (Merck, Jerman), HCl 3 M (Merck, Jerman), $K_3[Fe(CN)_6]$ (Merck, Jerman), 2,3-dimetoksi-5-metil-1,4 benzokuinon(Q_0) (Sigma, Jerman), ferosen (Merck, Jerman), urikase (Sigma, Jerman), asam urat (Nacalaic tesque, Japan), dan zeolit (Bayah, Banten).

Metode Penelitian

Penelitian aktivitas dan stabilitas enzim urikase dari bakteri *L. plantarum* diawali dengan pembuatan media GYP (*Glucose Yeast Peptone*), penumbuhan dan pemanenan *L. plantarum*, pembuatan elektrode pasta karbon, aktivasi zeolit, Immobilisasi *L. plantarum*, pengukuran elektrokimia, optimalisasi aktivitas urikase, penentuan kestabilan elektrode dan uji linearitas. Bagan alir penelitian ditampilkan pada lampiran 1.

Prosedur Penelitian

Media GYP (*Glucose Yeast Peptone*)

Media GYP padat dibuat dengan menimbang sebanyak 3.75 gram kalsium karbonat, 20 gram agar, 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 1,4 gram natrium asetat, 5 ml larutan garam, 10 ml tween 80, 2 gram *beef extract*, dan 10 gram *yeast extract* dilarutkan dalam 1000 ml akuades dan diaduk hingga larut. Setelah itu, larutan kemudian disterilisasi dengan autoklaf.

Media GYP Cair. Kandungan media cair sama dengan media agar tetapi tanpa diberi agar dan kalsium karbonat, selanjutnya proses sterilisasi tidak berbeda dengan sterilisasi media agar.

Penumbuhan dan Pemanenan *L. plantarum*

Sebanyak 5 ml media GYP cair dipipet ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 1 ose bakteri *L. plantarum* murni ditanam ke media GYP cair tersebut dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam, sebanyak 5 ml larutan GYP cair yang sudah ditumbuhi *L. plantarum* dipipet ke tabung sentrifugasi dan diputar pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, pelet dicuci 2 kali dengan akuades steril dan disentrifus pada kecepatan 10000 rpm selama 5 menit. Pelet *L. plantarum* yang sudah bersih diberi larutan fisiologis (NaCl 0.85%) sebanyak 1 ml, kemudian diukur nilai *Optical Density* (OD)₆₀₀ = 1.

Pembuatan Elektrode Pasta Karbon

Elektrode pasta karbon dibuat dengan cara grafit dicampur dengan paraffin cair (2:1), lalu digerus dengan mortar hingga terbentuk pasta. Setelah itu, pasta karbon dimasukkan ke dalam badan elektrode. Permukaan elektrode dihaluskan dan dibersihkan dengan amplas dan kertas minyak. Elektrode didiamkan selama 2 hari sebelum digunakan (Trivadila 2011).

Aktifasi Zeolit

Sebanyak 50 gram zeolit halus dicuci dengan akuades sampai pH netral, disaring, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C. Zeolit yang telah dikeringkan diaktivasi dengan menambah 250 ml HCl 3 M dalam gelas piala plastik dan diaduk selama 1 jam. Zeolit yang telah diaktivasi disaring, kemudian dicuci dengan akuades sampai pHnya netral. Larutan hasil saringan diuji kandungan klorin dengan AgNO₃ dan dicuci kembali dengan akuades sampai tidak mengandung klorin. Setelah pHnya netral dan bebas klorin zeolit dikeringkan pada suhu 300 °C selama 3 jam. Zeolit yang telah diaktivasi kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan 100 *mesh* (Arif 2011).

Imobilisasi *L. plantarum*

Matriks zeolit disuspensikan ke dalam 1 ml larutan fisiologis yang berisi pelet *L. plantarum*. Campuran tersebut kemudian diaduk dan didiamkan selama 1 jam. Sebanyak 7.5 µl pelet *L. plantarum* yang telah diimobilisasi dalam matriks zeolit diteteskan pada permukaan elektrode, dilapisi dengan membran dialisis, ditutup dengan jaring nilon, dan diikat dengan parafilm. Imobilisasi tanpa zeolit dilakukan dengan cara meneteskan secara langsung *L. plantarum* pada permukaan elektrode (Dai *et al.* 2004).

Pengukuran Elektrokimia

Pengukuran elektrokimia dilakukan dengan metode voltametri siklik menggunakan eDAQ potensiostat (Ecoder 410) yang dilengkapi perangkat lunak Echem v 2.1.0. Elektrode yang digunakan adalah elektrode Ag/AgCl, platina, dan pasta karbon yang berturut-turut sebagai elektrode pembanding, electrode pembantu (*counter*), dan elektrode kerja. Parameter pengukuran dibuat dengan *mode cyclic, initial -500 mV, final -500 mV, rate 250 mV/s, step W 20 ms, upper E 1100mV, lower E -200 mV, range 5 V, dan arus 100 µA*. Sebanyak 2 ml larutan bufer borat ditambahkan ke dalam sel pengukuran, lalu puncak arus yang terbentuk diamati sebagai puncak blanko. Setelah itu ditambahkan 100 µL asam urat dan diukur kembali perubahan atau kenaikan puncak arus yang terjadi.

Optimalisasi Aktivitas Urikase *L. plantarum*

Parameter optimalisasi yang akan dilakukan adalah suhu (20–40°C), pH (7–10), konsentrasi asam urat (0.1– 5 mM), dan bobot zeolit (50–260 mg). Metode yang digunakan untuk pengoptimuman aktivitas urikase adalah *Response Surface Method*. Metode ini dilakukan dengan cara memasukan kombinasi faktor-faktor peubah bebas pada perangkat lunak statistik Minitab. Setelah itu, percobaan dilakukan sesuai dengan kombinasi yang dihasilkan untuk mendapatkan nilai aktivitas optimumnya.

Penentuan Kestabilan Elektrode

Stabilitas elektrode ditentukan dari pengukuran aktivitas enzim urikase setelah didapatkan kondisi optimum aktivitas urikase secara langsung melalui pengukuran arus yang didapat. Pengukuran aktivitas secara langsung dilakukan pada elektrode yang telah dibuat dengan imobilisasi enzim urikase pada permukaan elektrode. Elektrode diukur ulang tiap kurun waktu 2, 4, 6, 8, 10 hari dan seterusnya hingga terjadi penurunan persentase stabilitas aktivitas urikase. Nilai aktivitas yang diperoleh pada pengukuran awal di anggap 100%.

Uji Linearitas

Linearitas dilakukan dengan variasi rentang konsentrasi substrat asam urat 0,4 – 4 mM (interval 0,4 mM) pada prosedur pengukuran elektrokimia di atas, kemudian dibuat kurva hubungan antarkonsentrasi substrat asam urat dengan aktivitas urikase. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi R^2 pada analisis regresi linier $y = a + bx$.

PEMBAHASAN

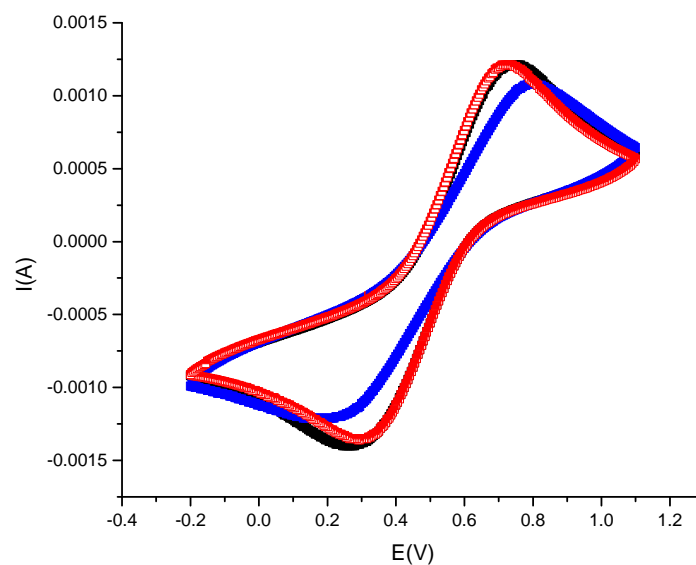
Pembuatan dan Karakterisasi Elektrode

Elektrode pasta karbon yang dibuat pada penelitian kali ini merupakan elektrode pasta karbon dengan campuran grafit, parafin cair dan mediator Q_0 . Parafin cair yang digunakan berfungsi untuk merekatkan grafit mediator serta zeolit yang akan digunakan nanti. Mediator yang digunakan pada penelitian kali ini adalah Q_0 yang merupakan mediator yang mampu bekerja dengan baik pada penentuan asam urat dengan enzim *L.plantarum*. Widyatmoko (2012) telah melakukan uji pada beberapa mediator pada penentuan asam urat (Tabel 1), dari ketiga jenis mediator Q_0 menghasilkan arus oksidasi paling tinggi dibandingkan dengan mediator lain pada pengukuran asam urat oleh enzim urikase *L.plantarum*.

Tabel 1 Arus oksidasi rata-rata beberapa jenis mediator

Mediator	Arus Oksidasi
Q ₀	28.2800
Ferosena	5.4400
K ₃ [Fe(CN) ₆]	4.2100

Karakterisasi elektrode dilakukan untuk mengetahui nilai arus dari elektrode yang akan dijadikan parameter pengukuran dengan metode voltametri siklik. Pengujian ini dilakukan menggunakan larutan K₃[Fe(CN)₆]. analisis dilakukan dengan rentang potensial -200 – 1100mV dan siklik 3. elektrode pembanding Ag|AgCl dan elektrode pembantu platina. Penelitian ini menggunakan 57 elektrode untuk di karakterisasi. Besar arus yang diperoleh pada elektrode dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar1 Voltamogram siklik elektrode pasta karbon pada elektrode 49 ■ 51 ■ dan 57 ■.

Dari gambar diatas dapat terlihat arus oksidasi yang dihasilkan oleh elektrode 49, 51, dan 57. Karakterisasi dilakukan untuk melihat apakah elektrode yang akan kita gunakan dapat berfungsi dengan baik atau tidak. Berdasarkan hasil voltamogram, terdapat beberapa variasi arus yang dihasilkan saat karakterisasi. Perbedaan arus yang dihasilkan menunjukkan kualitas elektrode pasta karbon yang telah dibuat. Semakin tinggi arus yang dihasilkan kualitas elektrode nya pun semakin baik. Karakterisasi elektrode dilakukan untuk mencari nilai potensial yang relatif sama yang digunakan sebagai elektrode kerja untuk pengukuran asam urat. Gambar 1 menunjukkan adanya arus yang dihasilkan dari elektrode yang telah dikarakterisasi dan rentang arus yang dihasilkan tidak terlalu jauh, sehingga elektrode tersebut dapat digunakan untuk pengukuran optimasi, linearitas serta kestabilan.

Aktivasi zeolit

Aktivasi zeolit alam dapat dilakukan dengan dua metode yaitu secara kimia dengan penambahan asam dan secara fisika dengan pemanasan. Secara kimia, dengan penambahan HCl 3M, kation logam alkali atau alkali tanah yang terdapat dalam pori-pori zeolit akan tergantikan oleh ion H^+ dari HCl sehingga pori-pori zeolit akan lebih besar yang berakibat pada membesarnya daya serap dari zeolit. Selain itu penambahan HCl dapat melarutkan pengotor yang ada di dalam rongga zeolit. HCl 3M digunakan untuk mempercepat proses aktivasi tanpa merusak struktur zeolit yang digunakan (Arif 2011). Secara fisika aktivasi zeolit dilakukan dengan pemanasan dengan suhu $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk melepas molekul air dari kerangka zeolit yang menyebabkan zeolit mempunyai permukaan internal yang lebih luas dan terbentuk suatu rongga dengan permukaan yang lebih besar dan tidak lagi terlindungi yang berpengaruh terhadap proses adsorpsi sehingga mampu mengabsorpsi sejumlah besar substansi selain air serta mempertinggi keaktifan zeolit. Sehingga dalam prosesnya akan mempermudah penyerapan enzim urikase dari *Lactobacillus plantarum*.

Pertumbuhan dan Pemanenan *L. plantarum*

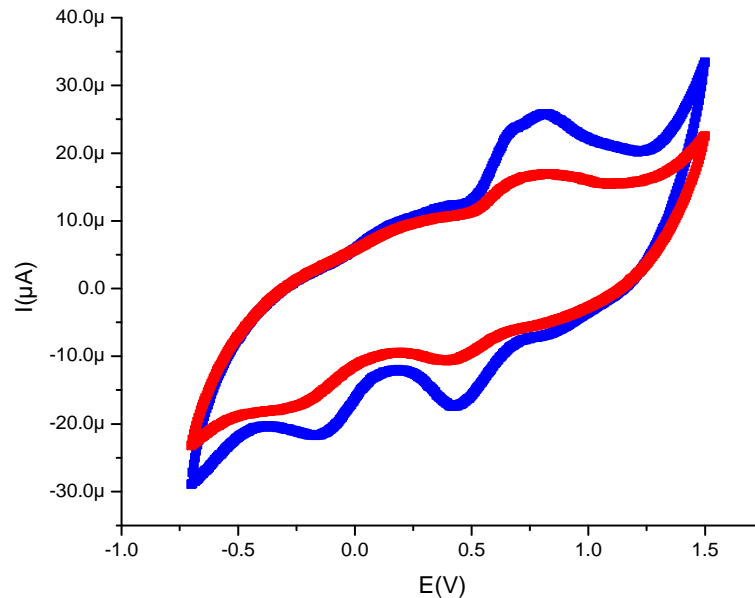
Pertumbuhan bakteri *L. plantarum* dilakukan pada media Glucose Yeast Peptone (GYP) cair yang berfungsi sebagai nutrisi, vitamin dan mineral bagi pertumbuhan *L. plantarum* dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah proses inkubasi, terbentuk endapan berwarna putih pada medium GYP cair, yang menandakan bahwa bakteri bereproduksi dan berkembang. GYP padat digunakan menyimpan bakteri *L. plantarum*. Pemanenan dilakukan pada GYP cair yang telah diinkubasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm agar bakteri terpisah dengan media yang digunakan. Lalu di cuci dengan akuabides untuk menghindari pengotor yang tersisa pada bakteri. Bakteri kemudian di suspensikan ke dalam larutan fisiologis (NaCl 0,85%). Enzim urikase *L. plantarum* dapat diperoleh dari sekresi bakteri tersebut, sehingga tidak diperlukan adanya pemecahan dinding sel pada bakteri. Bakteri dengan nilai *Optical Density* mendekati 1 ini kemudian diimobilisasi pada zeolit dan disimpan pada suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ agar urikase *L. plantarum* tidak rusak.

Optimalisasi Enzim Urikase *L. plantarum*

Komposisi optimalisasi elektrode ditentukan secara kualitatif dengan menggunakan *Response Surface Method* dan metode yang digunakan adalah *Central Composite Design* (CCD). Metode ini menggabungkan beberapa variabel dalam suatu percobaan. Sehingga interaksi antar variabel dapat diketahui secara optimal dengan sedikit jumlah percobaan yang harus dilakukan dibandingkan dengan teknik lainnya. Parameter yang digunakan yaitu pada suhu ($20\text{-}40\text{ }^{\circ}\text{C}$), berat zeolit (50-260 mg), pH (7-10) dan konsentrasi asam urat (0.1–5 mM). Komposisi dari hasil variasi yang dihasilkan dapat dilihat pada (lampiran 2).

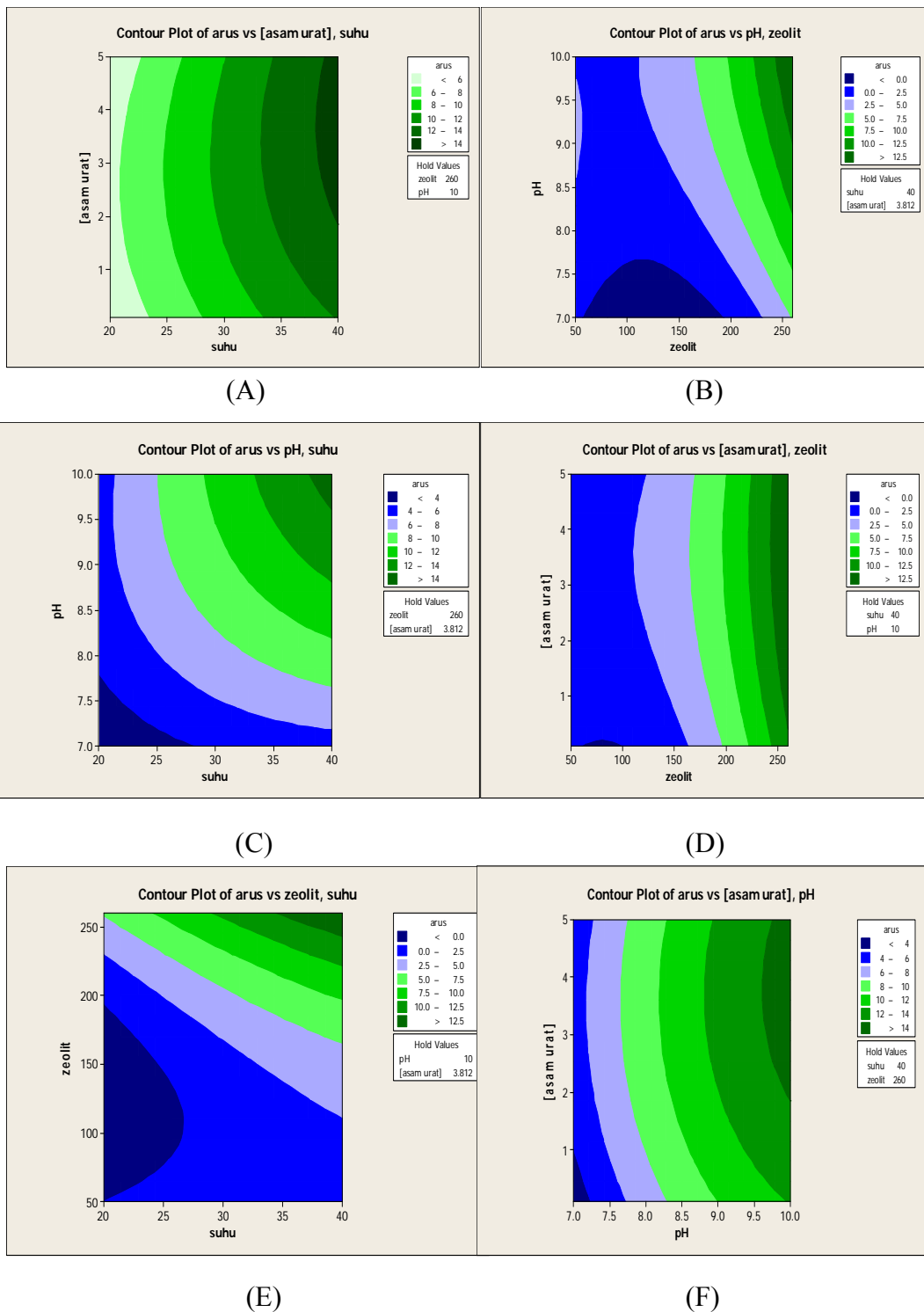
Pengukuran ini dilakukan pada rentang -700 hingga 1500 mV dengan laju sebesar 250 mV/s. hasil voltamogram siklik pada salah satu variasinya dapat

dilihat pada Gambar 2. Dari voltamogram siklik dapat dilihat bahwa penambahan asam urat dengan menggunakan elektrode pasta karbon berbasis *lactobacillus plantarum* yang diimmobilisasi pada zeolit bayah menghasilkan puncak arus yang lebih tinggi dibandingkan dengan bufernya.



Gambar 2 Voltamogram perbedaan arus oksidasi pada blanko dan asam urat 2,55 mM dengan pH bufer 8,5 zeolit 260 mg, Suhu 30 °C

Terjadi perbedaan puncak arus oksidasi antara bufer borat yang digunakan sebagai blanko dan ketika penambahan asam urat, pada Blanko terlihat bahwa puncak arus oksidasi nya rendah, namun ketika penambahan asam urat terjadi kenaikan puncak arus oksidannya. Meningkatnya puncak arus yang terjadi karena adanya proses oksidasi asam urat oleh enzim urikase menjadi alantoin, CO₂ dan Peroksida. Gambar 2 menunjukkan aktivitas oksidasi yang rendah pada blanko, penambahan asam urat mengakibatkan proses oksidasi sehingga terjadi kenaikan arus sebesar 9.58 μA. Setelah dilakukan pengukuran pada setiap sampel, data yang diperoleh di kalkulasi dengan menggunakan bantuan software Minitab untuk melihat daerah optimum biosensor asam urat. Daerah optimum dari aktivitas urikase dapat dilihat dari kontur warna yang ditampilkan. Pada kontur yang terbentuk juga dapat menjelaskan pengaruh parameter pada penentuan kondisi optimum dari aktivitas asam urat.



Gambar 3 Kontur hubungan asam urat dengan suhu (A), pH dengan Zeolit (B), pH dengan suhu (C), asam urat dengan zeolit (D), zeolit dengan suhu (E) dan asam urat dengan pH (F).

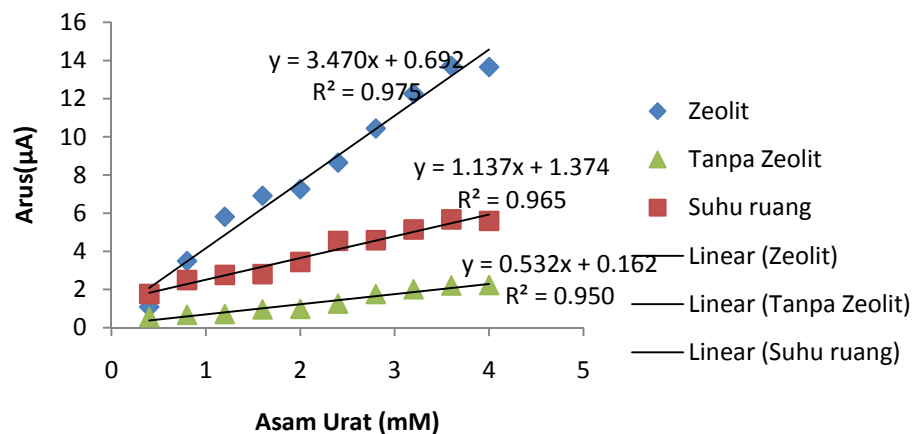
Pada Gambar 3 adanya hubungan antara konsentrasi asam urat, suhu, pH dengan zeolit. Gambar 3A menunjukkan semakin besar konsentrasi dan suhu yang

digunakan arus yang dihasilkan semakin besar pula, yang ditunjukkan dengan kontur warna yang semakin gelap ke arah kanan atas. Namun ada beberapa kondisi dimana arus turun dimana suhu naik pada rentang 20-25 °C yang dapat diartikan pada suhu tertentu enzim tidak bekerja secara optimal. Pada gambar 3B penggunaan zeolit 200–260 mg dan kenaikan pH meningkatkan arus, penggunaan zeolit yang dibawah 200 mg menyebabkan minimnya nya kenaikan arus, yang dapat diartikan bahwa minimnya zeolit untuk proses imobilisasi enzim menyebabkan kurang optimalnya arus yang dihasilkan. Gambar 3C terjadi kenaikan arus pada suhu yang berkisar antara 27–40 °C dan pH 7,6–10 yang membuktikan bahwa pada pH dan suhu tertentu enzim dapat bekerja optimal. Gambar 3D menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam urat dengan zeolit. Zeolit dengan berat 200–260 mg menaikkan arus sementara kenaikan konsentrasi pada zeolit dibawah 200mg tidak terlalu signifikan, begitu pula pada Gambar 3E kenaikan suhu tidak terlalu signifikan pada berat zeolit dibawah 200 mg dan pada gambar 3F pada hubungan antara pH dengan konsentrasi asam urat dapat terlihat bahwa ada nya titik jenuh pada saat peningkatan konsentrasi diatas 3,8 mM yang mengakibatkan tidak adanya kenaikan yang signifikan diatas konsentrasi tersebut. Alur kontur tersebut dapat menunjukkan kondisi optimum dari *L.plantarum* yang telah diimobilisasi pada zeolit, pH 10, suhu 40 °C, konsentrasi asam urat 3,8 mM, dan massa zeolit 255mg. Hasil yang diperoleh sedikit berbeda dengan Widyatmoko (2012) yang optimum pada suhu 40 °C dengan pH 7.6 namun masih masuk dalam selang pH optimum enzim urikase yaitu 7.5-10 (Mulyasuryani dan Hardiastutie 2011).

Linearitas

Linearitas untuk aktivitas *L.plantarum* dilakukan dengan 3 macam perlakuan yaitu pada perlakuan pertama urikase *L.plantarum* yang diimobilisasi dengan menggunakan zeolit pada suhu 40 °C, pH 10 dan komposisi zeolit 255mg, perlakuan kedua urikase *L.plantarum* langsung pada elektrode pada suhu 40 °C dan pH 10 (Gambar 4). Karena biosensor kurang praktis apabila menggunakan suhu 40 °C maka dilakukan perlakuan ketiga yang menggunakan suhu ruang pada pH 10 dan komposisi zeolit 225mg yang. Pengukuran dilakukan dengan rentang konsentrasi asam urat sebesar 0,4 – 4 mM. Gambar 4 menunjukkan linearitas dari sensitivitas *L.plantarum* dalam berbagai perlakuan dengan rentang konsentrasi sebesar 0.4–4 mM. Perlakuan dengan pengimobilisasian dengan enzim pada kondisi optimum menghasilkan sensitivitas yang paling tinggi yaitu mencapai $3.47\mu\text{A mM}^{-1}$ dengan $R^2= 0,9757$, sedangkan tanpa pengimobilisasian pada zeolit pada kondisi optimum, sensitivitas yang dihasilkan 6x lebih kecil yaitu sebesar $0.53\mu\text{A mM}^{-1}$ dengan $R^2= 0,9543$. Perlakuan dengan suhu ruang dengan pH 10 dan komposisi zeolit 255 mg menghasilkan sensitivitas yang cukup besar juga yaitu sebesar $1.13\mu\text{A mM}^{-1}$ dengan $R^2= 0.9658$, yang menunjukkan bahwa pada suhu ruang enzim urikase *L.plantarum* dapat bekerja dengan baik. Penjerapan enzim pada zeolit serta penggunaan variabel suhu dan pH optimum terbukti meningkatkan aktivitas dari kinerja enzim urikase sehingga dapat menghasilkan puncak arus oksidasi yang tinggi dengan linearitas yang baik.

Deyhimi dan Ahangsari (2003) telah melakukan penentuan asam urat pada serum darah dengan metode spektrofotometri dengan suhu 30°C yang menghasilkan sensitivitas sebesar $0.99 \mu\text{A mM}^{-1}$ sedangkan pada penelitian kali ini sensitivitas yang dihasilkan sebesar $3.47 \mu\text{A mM}^{-1}$ asam urat dengan rentang konsentrasi yang lebih lebar yaitu 0.4 – 4 mM enzim dapat bekerja dengan baik dan mencapai titik jenuh diatas 3.8 mM, yang membuktikan bahwa pengimobilisasian enzim urikase pada zeolit untuk pengukuran asam urat dapat meningkatkan rentang konsentrasi dari aktivitas dan sensitivitas enzim urikase *L.plantarum*.

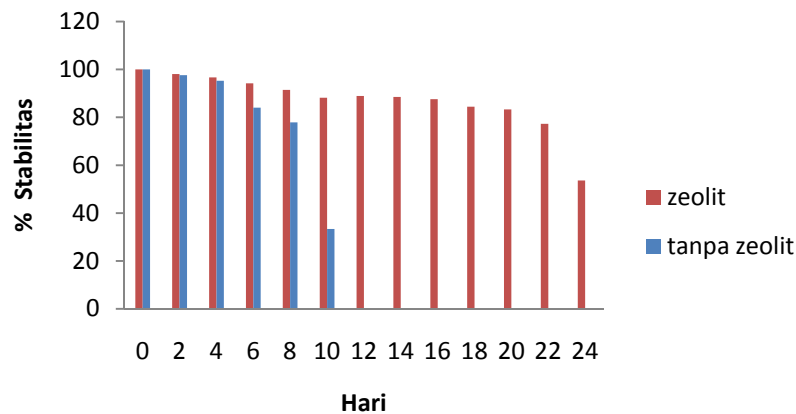


Gambar 4 Persamaan regresi dan linearitas hubungan konsentrasi substrat dengan aktivitas urikase.

Stabilitas

Menurut Mateo *et al.* (2007) imobilisasi enzim berfungsi untuk memaksimalkan kinerja enzim yang digunakan dan mengatasi permasalahan yang timbul akibat penggunaan enzim untuk biosensor seperti stabilitas. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan melakukan imobilisasi enzim dengan menggunakan material tertentu seperti zeolit. Stabilitas enzim dapat dijaga dan dikontrol dengan cara melakukan imobilisasi pada material yang memiliki pori dan untuk meningkatkan selektifitasnya dapat digunakan nanomaterial. Kestabilan elektrode di uji dengan menggunakan parameter optimum untuk urikase *L.plantarum* yang telah diperoleh. Kestabilan dari suatu elektrode digambarkan sebagai hubungan antara persen kestabilan dengan waktu pengujian (hari) dengan rumus:

$$\text{Stabilitas}(\%) = \left(100\% - \left(\frac{I_0 - I_t}{I_0}\right) \times 100\%\right)$$



Gambar 5 Kurva stabilitas urikase *L.plantarum*

Hasil pengujian stabilitas urikase *L.plantarum* dapat dilihat pada Gambar 5. Elektrode stabil sampai hari ke-8 untuk enzim yang tidak diimobilisasi pada zeolit, pada hari ke-10 kestabilan elektrode sudah turun hingga 33.33%. Sedangkan biosensor asam urat yang diimobilisasi dengan zeolit menunjukkan peningkatan pada waktu kestabilannya. peningkatan terjadi pada enzim yang diimobilisasi dengan zeolit, yang stabil hingga hari ke-22, aktivitas enzim yang terimobilisasi turun sebesar 35% pada hari ke 24. Ivekovic *et al.* (2012) telah menggunakan biosensor asam urat dari elektrode yang di modifikasi dengan film tipis N^{2+} yang kestabilannya sampai hari ke-28 dan turun hingga 65% pada hari ke-42. Zuo *et al.* (2008) menggunakan silver nanopartikel untuk mengimobilisasi GOX yang menghasilkan aktivitas sebesar 91% selama 30 hari. Sensitivitas alat serta enzim yang digunakan dapat mempengaruhi tingkat stabilitas dari elektrode yang digunakan, namun demikian kestabilan yang diperoleh tidak jauh berbeda. Kestabilan elektrode dengan imobilisasi meningkat 4 kali lebih besar dibandingkan dengan enzim tanpa imobilisasi. Peningkatan kestabilan dari elektrode tersebut disebabkan enzim yang terjerap pada zeolit alam terlindungi sisi aktif nya tanpa merubah struktur serta fungsi enzim, sehingga meminimalisir adanya kerusakan atau denaturasi oleh panas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Aktivitas enzim urikase *L.plantarum* dapat bekerja dengan baik pada suhu ruang, dengan pH optimum 10, peningkatan zeolit sebagai matriks pengimobilisasi dapat meningkatkan besarnya arus yang dihasilkan. Dengan lebar rentang pengukuran 0.4 – 4mM elektrode menunjukkan ke linear an yang baik, ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi yang cukup besar elektrode dapat bekerja dengan baik. Imobilisasi urikase *L.plantarum* meningkatkan kestabilan dari elektrode 4 kali lebih besar dibandingkan dengan tanpa diimobilisasi terlebih dahulu.

Saran

Penentuan kadar asam urat perlu dilakukan dengan menggunakan sampel sebenarnya seperti urine atau serum darah. Penggunaan zeolit alam lain dan buffer asam juga perlu dilakukan agar dapat mengetahui pengaruhnya terhadap arus yang dihasilkan. Metode validasi yang belum dilakukan seperti limit deteksi, keterulangan dan *range* perlu untuk di uji.

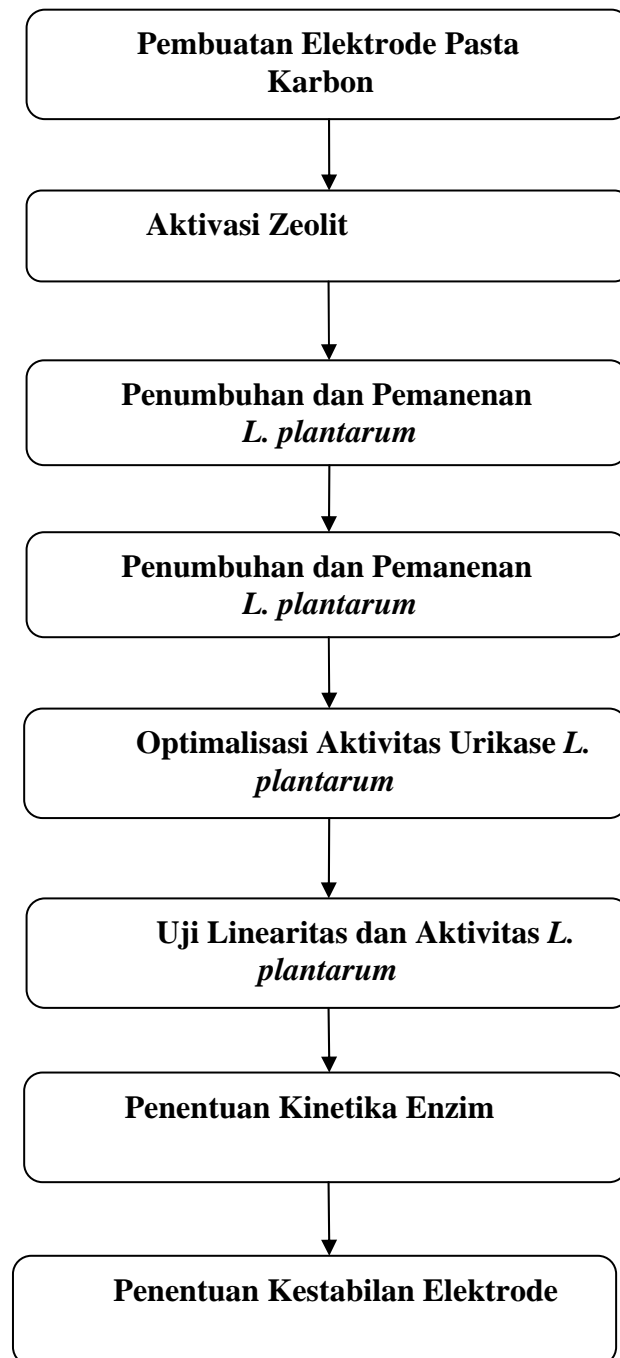
DAFTAR PUSTAKA

- Amine A, Mohammadi H, Bourais I, Palleschi G. 2006. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring. *Biosensors and Bioelectronics* 21: 1405-1423.
- Arif Z. 2011. Karakterisasi dan modifikasi zeolit alam sebagai bahan mediapendeteksi studi kasus : kromium heksavalen [tesis]. Bogor (ID) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Arslan F. 2008. An amperometric biosensor for uric acid determination prepared from uricase immobilized in polyaniline-polypyrrole film. *Sensors Articals* 8:492-500.
- Aslanoglu M, Kutluay A, Abbasoglu S, Karabulut S. 2007. A Poly(3-acetylthiophene) Modified Glassy Karbon Electrode for Selective Voltammetric Measurement of Uric Acid in Urine Sample. *Chem. Pharm. Bull.* 56(3) 282—286.
- Attala MM, Farag MM, Eman RH, Abd-El-Lataif MS, Nehad EA. 2009. Optimum conditions uricase enzyme production by *Gliomastix gueg*. *Microbiol* 5:45-50.
- Balal K, Mohammad H, Bahareh , Ali B.Maryam H, Mozghan Z. 2009. Zeolite nanoparticle modified karbon paste electrode as a biosensor for simultaneous determination of dopamine and tryptophan. *Chin Chem.* 56 : 789-796.
- Coradin T, Boissiere M, Livage J. 2006. Sol-gel Chemistry in Medicinal Science. *Current Medicinal Chemistry* 13:99-108.
- Dai Z, Liu S, Ju H. 2004. Direct electron transfer of cytochrome c immobilized on a NaY zeolite matrix and its application in biosensing. *J Elec Act* 49:2139-2144
- Deyhimi F, Ahangari RS. 2003. An initial-rate potentiometric method for the determination of uric acid using a fluoride ion-selective electrode. *Talanta* 61:493-499.
- Gamella M, Campuzano S, Conzuelo F, Curiel J.A, Munoz R, Reviejo, Pingarron J.M. 2010. Integrated multienzyme electrochemical biosensors for monitoring malolactic fermentation in wines. *Talanta* 81:925-933.
- Gavalas VG, Chaniotakis NA 2001. Phosphate biosensor based on polyelectrolyte-stabilized pyruvate oxidase. *Analytica Chimica Acta* 427:271-277.

- Giraud, E. 1993. Contribution to the physiological and enzymological study of a new amyolytic strain of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented cassava. Ph.D thesis. The University of Provence, Aix-Marseille I, France
- Gupta R, Chaudhury N.K. 2007. Entrapment of biomolecules in sol-gel matrix for applications in biosensors: Problems and future prospects. *Biosensors and Bioelectronics* 22:2387-2399.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1: 117-135.
- Hasebe Y, Wang Y. 2011. Acridine orange-induced signal enhancement effect of tyrosinase-immobilized karbon-felt-based flow biosensor for highly sensitive detection of monophenolic compounds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399:1151-1162.
- Iswantini D, Nurhidayat N, Trivadila. 2011. Glucose biosensor using selected Indonesia bacteria. *Microbiol Indones* 5:9-14.
- Ivekovic D, Japec M, Solar M, Zivkovic N. 2012. Amperometric Uric Acid Biosensor with Improved Analytical Performances Based on Alkaline-Stable H₂O₂ Transducer. *Int. Electrochem. Sci.* 7:3252 - 3264
- Jiang H, Zhao Z. 2010. *Enzyme Based Electrochemical Biosensor*. Vukavar (HR) : Intench.
- Kertia N, Widodo S. 2009. Arthritis gout dengan nefropati urat : suatu studi kasus. *Berkala Kesehatan Klinik* 14:56-67.
- Khalilzadeh B *et al.* 2009. Zeolite nanoparticle modified karbon paste electrode as abiosensor for simultaneous determination of dopamine and tryptophan. *Chin Chem Soc* 56:789-796.
- Khasanah M. 2012. Pengembangan metode voltametri lucutan untuk analisis asam urat melalui pelapisan elektrode dengan polimer cetakan molekul [disertasi]. Yogyakarta (ID) :Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gajah Mada.
- Kotzian P, Brazdilova P, Rezkova S, Kalcher K, Vytras K. 2006. Amperometric glucose biosensor based on radium dioxidemodified karbon ink. *Electroanalysis* 18:1499-1504.
- Liu A, Chen W, Huang L, Lin X. 2008. A Polymer Film Modified Sensor for Voltammetric Determination of Uric Acid in the Presence of Ascorbic Acid and Its Application in Urine. *Chem. Pharm. Bull.* 56(12) 1665—1669.
- Liyonawati. 2012. Aktivitas dan stabilitas superoksida dismutase dari ekstrak *Escherichia coli* diimobilisasi pada zeolit alam sebagai biosensor antioksidan. [skripsi]. Bogor: Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor
- Lu L, Lin X. 2004. Glassy karbon electrode modified with gold nanoparticles and DNA for the simultaneous determination of uric acid and norepinephrine under coexistence of ascorbic acid. *Analytical sciences*: 20.
- Mardiah DE. 2010. Aktivitas urikase yang dihasilkan dari berbagai sel *Lactobacillus plantarum* dan parameter kinetiknya [skripsi]. Bogor (ID) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Martin C. 2011. Prinsip Biosensor. [http://www.newsmedical.net/health/Biosensor-Principle-\(indonesia\).aspx](http://www.newsmedical.net/health/Biosensor-Principle-(indonesia).aspx) [18 September 2013].

- Mateo C, Palomo JM, Lorente GF, Guisan GF, Lafuente RF. 2007. Improvement of enzyme activity, stability, and selectivity via immobilization technique. *Enzymitech* 40:1451-1463.
- Mulyasuryani A, Hardiastutie A. 2011. Conductimetric biosensor for the detection of uric acid by immobilization uricase on nata de coco membrane. *Anal Chem Insights* 6:47-51
- Nien PC, Chen PY, Ho CK. 2009. Fabrication on amperometric cholesterol biosensor by covalent linkage between poly(3-thiopheniac acid) and cholesterol oxidation. *Sensors* 9:1794:1806.
- Ogawa T, Hashikawa S, Asai Y, Sakamoto H, Kenji Yasuda, Makimura Y. 2006. A new synbiotic, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* together with dextran, reduces murine and human allergic reaction. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 46:400-409.
- Riyanto A, Listiawati D, Suharyadi E, Abraha K. 2012. Analisis Struktur Kristal dan Sifat Magnetik pada Nanopartikel Magnetit (Fe_3O_4) sebagai Bahan Aktif Biosensor Surface Plasmon Resonance (SPR). *Pertemuan Ilmiah XXVI HFI Jateng & DIY*. Purworejo.
- Rostini I. 2007. Peranan Bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) terhadap masa simpan filet nila merah pada suhu rendah [tesis]. Jatinangor (ID) : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjajaran.
- Shankar SS, Kumara BE, Chandra U, Sherigara BS. 2011. Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid at poly(crystal violet) modified karbon paste electrode. *J Bioelectrochem* 5:462-477.
- Taufan B. 2012. Validasi metode biosensor elektrokimia berbasis superoksida dismutase untuk mengukur kapasitas anti oksidan [skripsi]. Bogor (ID) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Trivadila. 2011. Biosensor antioksidan menggunakan superoksida dismutase *Deinococcus radiodurans* yang diimmobilisasi pada permukaan elektrode pasta karbon dan parameter kinetiknya [tesis]. Bogor (ID) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Varoyd C, Gligor D, Muresan ML. 2007. Karbon paste electrodes incorporating synthetic zeolites and methylene blue for amperometric detection of ascorbic acid. *Babesbolia* 1:1-10.
- Weniarti. 2011. Biosensor antioksidan berbasis superoksida dismutase *Deinococcus radiodurans* diimmobilisasi pada nanokomposit zeolit alam Indonesia [tesis]. Bogor (ID) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Widianti T. 2006. Pengujian kapasitas tukar kation zeolit sebagai penukar kation alami untuk pengolahan limbah industri. Tangerang (ID) : Pusat Penelitian Sistem Mutu dan Pengujian-LIPI.
- Widyatmoko O. 2012. Aktivitas dan Stabilitas Urikase *Lactobacillus plantarum* yang Diimmobilisasi pada Zeolit Alam untuk Biosensor Asam Urat [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Zuo S, Teng Y, Yuan H, Lan M. 2008. Development of a Novel Silver Nanoparticles-Enhanced Screen-Printed Amperometric Glucose Biosensor. *Analytical Letter* 41:1158-1172.

Lampiran 1 Diagram alir penelitian



Lampiran 2 Hasil optimasi pengukuran asam urat dengan desain central composite

No	Suhu (°C)	zeolit (mg)	pH	[asam urat] (mM)	arus (µA)
1	35	207.5	7.75	3.775	2.09
2	35	102.5	9.25	1.325	1.29
3	25	207.5	9.25	1.325	3.07
4	25	207.5	7.75	3.775	1.90
5	30	155.0	8.50	2.550	1.33
6	40	155.0	8.50	2.550	2.75
7	30	260.0	8.50	2.550	9.58
8	30	155.0	8.50	5.000	2.27
9	30	155.0	8.50	2.550	2.24
10	30	50.0	8.50	2.550	3.87
11	30	155.0	7.00	2.550	0.58
12	35	102.5	9.25	3.775	0.77
13	35	207.5	9.25	3.775	7.13
14	30	155.0	8.50	2.550	3.21
15	25	102.5	7.75	3.775	0.53
16	25	102.5	9.25	3.775	1.32
17	25	102.5	7.75	1.325	0.53
18	30	155.0	8.50	2.550	1.89
19	30	155.0	8.50	2.550	1.42
20	20	155.0	8.50	2.550	1.40
21	30	155.0	10.00	2.550	2.32
22	25	207.5	9.25	3.775	1.41
23	35	207.5	7.75	1.325	1.96
24	35	102.5	7.75	1.325	1.22
25	30	155.0	8.50	2.550	2.17
26	30	155.0	8.50	2.550	1.44
27	30	155.0	8.50	0.100	0.52
28	25	207.5	7.75	1.325	2.08
29	35	207.5	9.25	1.325	5.26
30	25	102.5	9.25	1.325	0.88
31	35	102.5	7.75	3.775	0.76

Lampiran 3 Pengukuran arus oksidasi pada aktivitas urikase *L.plantarum* dengan zeolit pada pH 10, suhu 40 °C

No.	[asam urat] (mM)	Arus (μ A)
1	0.4000	1.0800
2	0.8000	3.4900
3	1.2000	5.8100
4	1.6000	6.9100
5	2.0000	7.2600
6	2.4000	8.6500
7	2.8000	10.4400
8	3.2000	12.2600
9	3.6000	13.7200
10	4.0000	13.6600

Lampiran 4 Pengukuran arus oksidasi pada aktivitas urikase *L.plantarum* tanpa zeolit pada pH 10, suhu 40 °C

No.	[asam urat] (mM)	Arus (μ A)
1	0.4000	1.7600
2	0.8000	2.4900
3	1.2000	2.7600
4	1.6000	2.8000
5	2.0000	3.4400
6	2.4000	4.5400
7	2.8000	4.5800
8	3.2000	5.1400
9	3.6000	5.6700
10	4.0000	5.5900

Lampiran 5 Pengukuran arus oksidasi pada aktivitas urikase *L.plantarum* dengan zeolit pada pH 10, suhu 27°C

No.	[asam urat] (mM)	Arus (μ A)
1	0.4000	0.5500
2	0.8000	0.6700
3	1.2000	0.7100
4	1.6000	0.9500
5	2.0000	0.9800
6	2.4000	1.2600
7	2.8000	1.7600
8	3.2000	2.0100
9	3.6000	2.2100
10	4.0000	2.2300

Lampiran 6 Stabilitas biosensor asam urat enzim urikase *L.plantarum*

Waktu (Hari)	Zeolit		Tanpa Zeolit	
	Arus (μA)	Kestabilan (%)	Arus (μA)	Kestabilan (%)
0	5.15	100	2.94	100
2	5.05	98.05	2.87	97.62
4	4.98	96.70	2.80	95.24
6	4.85	94.17	2.47	84.01
8	4.71	91.45	2.29	77.90
10	4.54	88.15	0.98	33.33
12	4.58	88.93		
14	4.56	88.54		
16	4.57	87.57		
18	4.35	84.46		
20	4.29	83.30		
22	3.98	77.28		
24	2.76	35.59		

Perhitungan Hari ke-2 dengan zeolit:

$$\begin{aligned}
 \text{Stabilitas}(\%) &= (100\% - (\frac{I_0 - I_t}{I_0}) \times 100\%) \\
 &= (100\% - (\frac{5.15 - 5.05}{5.15}) \times 100\%) \\
 &= 98.05\%
 \end{aligned}$$

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Wonosobo pada tanggal 18 September 1990 dari Ayah Drs. Akhmad Mubarok dan Ibu Zakiyah. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis menyelesaikan sekolah di SMAN 1 Ciputat pada tahun 2009. Pada tahun yang sama, penulis diterima di Institut Pertanian Bogor pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti masa perkuliahan, penulis pernah mengikuti Himpunan Organisasi IMASIKA. Penulis juga mengikuti kegiatan praktik lapangan di Balai Veteriner dari bulan Juli sampai Agustus 2012.