

	<p>PEMANFAATAN NANOPARTIKEL EMAS (NPE) SEBAGAI PENDETEKSI KADAR ASAM URAT PADA URINE DENGAN METODE CITRA DIGITAL</p> <p>Rince Anugrah Ilahi^{*1}, M.Lutfi Firdaus², Hermansyah Amir³ ^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail: rinceanugrah122@gmail.com</p>					
						

ABSTRACT

This study aims to create a simple method for analyzing uric acid in human urine using gold nanoparticles (GNP) with digital images. The digital imagery method was used as a detector to replace the conventional spectrophotometer. In this study we conducted selectivity and sensitivity tests. The results showed a selective GNP against gout with a change in color from burgundy to orange, at a wavelength of 520 nm. The resulting orange color is then detected using a digital image method and the UV-Vis spectrophotometric method as a comparison for its accuracy testing. The results showed that digital images have an accuracy of 99% with sensitivity of the Limit of Detection (LOD) of smaller digital images (18,60 ppm), compared to the Limit of Detection (LOD) UV-Vis spectrophotometric method (40,76 ppm). The method we developed is then applied to determine uric acid in normal human urine samples. Results of uric acid analysis in human urine Sample A: 25.74 ppm, sample B: 34.03 and sample C: 28.74 ppm.

Key words : *Gold nanoparticles (NPE), gout, urine, digital imagery, UV-Vis spectrophotometer*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuat metode sederhana untuk menganalisis asam urat pada urine manusia menggunakan nanopartikel emas (NPE) dengan citra digital. Metode citra digital digunakan sebagai detektor untuk menggantikan spektrofotometer konvensional. Pada penelitian ini kami melakukan uji selektivitas dan sensitivitas. Hasil penelitian menunjukkan NPE selektif terhadap asam urat dengan adanya perubahan warna dari merah anggur menjadi orange, pada panjang gelombang 520 nm. Warna orange yang dihasilkan tersebut kemudian dideteksi menggunakan metode citra digital dan metode spektrofotometri UV-Vis sebagai pembandingan untuk uji akurasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa citra digital memiliki keakuratan sebesar 99% dengan sensitivitas *Limit of Detection* (LOD) citra digital yang lebih kecil (18.60 ppm), dibandingkan dengan *Limit of Detection* (LOD) metode spektrofotometri UV-Vis (40.76 ppm). Metode yang kami kembangkan ini kemudian diaplikasikan untuk menentukan asam urat pada sampel urine manusia normal. Hasil analisis asam urat pada urine manusia Sampel A : 25.74 ppm, sampel B : 34.03 dan sampel C : 28.74 ppm.

Kata Kunci : *Nanopartikel emas (NPE), Asam urat, urine, citra digital, spektrofotometer uv-vis*

PENDAHULUAN

Asam urat (*2,6,6-trihydroxypurine*) adalah hasil akhir dari metabolisme purin yang merupakan salah satu penyusun asam nukleat yang terdapat didalam inti sel tubuh [1]. Kadar asam urat normal pada orang sehat dewasa adalah berada dalam kisaran antara 0.13 – 0.46 μM dalam darah dan antara 1.49 – 4.50 μM didalam urine [2].

Dalam kondisi tertentu misalnya orang yang memiliki penyakit obesitas dan penimbunan glikogen, akan dapat mengakibatkan ginjal tidak mampu dalam mengeluarkan asam urat secara seimbang melalui urine sehingga akan terjadi kelebihan dalam asam urat didalam darah yang disebut dengan *hiperurisemia*.

Produksi asam urat secara berlebih akan menghasilkan tumpukan dan tertimbun pada

persendian dan organ lain dalam bentuk kristal-kristal sehingga penumpukan ini akan menyebabkan penyakit *Gouty Arthritis* (Pirai) atau encok [3].

Metode yang sering digunakan untuk menganalisis kadar asam urat selama ini adalah metode *strip* [4] tetapi metode ini memiliki kelemahan yaitu presisi dan akurasi kurang baik serta alat ini hanya bisa mendeteksi kadar asam urat pada rentang antara 0.3 sampai 1.6 mg/dL.

Selain itu juga dapat menggunakan metode spektrofotometri dengan alat spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 520-670 nm, namun metode ini memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu analisis lama, perawatan yang rumit dan volume sampel yang banyak [5].

Salah satu teknologi dibidang kimia yang baru-baru ini banyak digunakan sebagai alternatif

untuk menganalisis senyawa organik adalah Nanopartikel emas (NPE).

Selain itu salah satu metode analisis kuantitatif yang dapat digunakan untuk mengukur kadar ion logam pada suatu sampel hingga dengan konsentrasi ppb yaitu metode citra digital yang memanfaatkan sistem warna yaitu sistem RGB (Red, Green dan Blue) [6].

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian yang berjudul "Pemanfaatan Nanopartikel Emas (NPE) Sebagai Pendeteksi Kadar Asam Urat dengan Metode Citra Digital", yang diharapkan mampu menjadi alternatif analisis asam urat pada urine manusia.

METODE PENELITIAN

1. Pembuatan Larutan Stock dari HAuCl_4 0.25 mM

Larutan HAuCl_4 0.25 mM dibuat dengan mengambil 170 μL HAuCl_4 yang memiliki konsentrasi awal 52.04 mM kemudian diencerkan menjadi 35 mL dan dihomogenkan.

2. Pembuatan larutan stock Natrium sitrat ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) 2.5 mM

Pembuatan larutan stok Natrium sitrat dibuat dengan cara melarutkan serbuk Natrium sitrat sebanyak 51.45 mg dan diencerkan menjadi 35 mL.

3. Pembuatan Larutan Stock Asam Urat

Larutan stock Asam Urat dibuat dengan deret kadar, masing-masing sebesar 0 : 10; 25; 50 ;75; 125 dan 150 ppm

4. Sintesis Nanopartikel Emas (NPE)

Sebanyak 35 mL larutan HAuCl_4 0.25 mM dimasukan kedalam gelas kimia 100 mL diaduk dan dipanaskan menggunakan hotplate sampai suhu 75 derajat C. Setelah itu ditambahkan sebanyak 35 mL natrium sitrat 2.5 mM lalu diaduk kembali sampai berubah warna (selama 15 menit).

5. Penentuan Keselektifan NPE

Selektivitas merupakan faktor penting untuk aplikasi analisis kuantitatif. Hal ini di perlukan untuk melihat respon yang selektif terhadap zat pengganggu lainnya yang berpotensi ada dalam sampel yang dianalisis.

Sebanyak 1 mL larutan NPE yang telah dibuat dimasukan kedalam kuvet, kemudian masing-masing sebanyak 1 mL larutan standar yang mengandung ion termasuk ion anorganik

(NaCl dan KCl), dan senyawa kecil organik (asam askorbat (AA), urea, asam urat (UA), Sukrosa, Fruktosa dan glukosa (Glu) dengan konsentrasi 100 ppm berturut-turut ditambahkan kedalam kuvet.

Kemudian diamati perubahan warnanya dan diukur absorbansinya dengan menggunakan citra digital dan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

Selektivitas NPE terhadap ion yang ditambahkan di tentukan dengan melihat perubahan warna NPE yang paling mencolok.

6. Pengukuran kadar Asam Urat pada urine

Dimasukkan NPE sebanyak 1 mL ke dalam kuvet, lalu ditambahkan kedalamnya masing-masing 1 mL larutan urine.

Selanjutnya, diambil gambar citra digitalnya dengan menggunakan kamera di dalam mini studio untuk analisi dengan metode citra digital.

Konsentrasi asam urat pada sampel ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi larutan standar yang telah diperoleh dari metode citra digital.

7. Teknik Analisis Data

A. Penentuan Persamaan Regresi Kurva Kalibrasi Metode Spektrofotometer Uv-Vis dengan teknik Data SLR

Persamaan kurva kalibrasi metode spektrofotometri UV-Vis dibuat dengan cara memplotkan nilai absorbansi (A) terhadap konsentrasi menggunakan program *Microsoft Excel* dari data hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Persamaan linear yang diperoleh dari kurva digunakan untuk menentukan konsentrasi asam urat dalam sampel urine yang akan dianalisis.

Persamaan regresi yang diperoleh yaitu :

$$y=mx+c$$

Dengan : y = Absorbansi , m = Gradien ,
x = Konsentrasi dan c = Intersep

B. Penentuan Persaman Regresi Kurva Kalibrasi Metode Citra Digital dengan teknik Data SLR

Kurva kalibarsi citra digital dibuat dengan cara mengolah terlebih dahulu foto yang telah

dicrop dengan ukuran 31 x 31 pixel pada masing-masing sampel dengan menggunakan program photoshop CC.

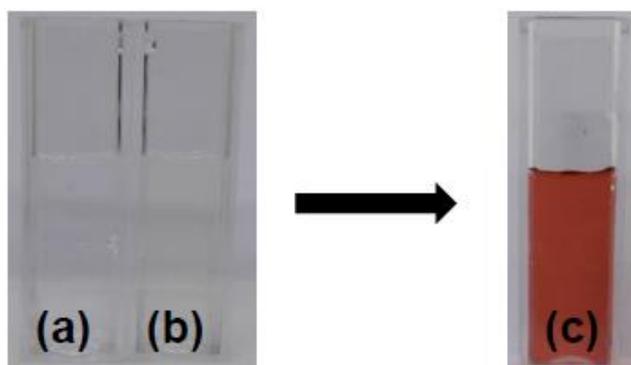
Kemudian di analisis dengan menggunakan program *Matlab* R2010b, hasil analisis berupa nilai komponen warna RGB. Selanjutnya untuk masing-masing intensitas warna dibuat kurva kalibrasi konsentrasi vs intensitas komponen warna RGB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kadar asam urat pada urine dilakukan dengan menggunakan NPE yang dilakukan dengan metode reduksi kimia.

Sintesis NPE dilakukan dengan pengadukan menggunakan magnetik stirer dan HAuCl_4 dipanaskan pada hotplate sampai suhu 80°C yang kemudian ditambahkan natrium sitrat dengan perbandingan volume HAuCl_4 : Natrium Sitrat adalah 1:1 dengan konsentrasi dari HAuCl_4 0.25 mM dan Natrium sitrat 2.5 mM.

Terbentuknya NPE ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari kuning bening menjadi merah anggur yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan Warna Saat Proses Reaksi Pembentukan Nanopartikel Emas
(a). Larutan Natrium Sitrat 2.5 mM
(b). Larutan HAuCl_4 0.25 mM
(c). Saat NPE Telah Terbentuk

Penambahan larutan Natrium sitrat berfungsi untuk mereduksi ion loga (Au^{3+}) menjadi logam yang tidak bermuatan (Au^0). Reaksi antara ion Au^{+1} dan ion $(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^{-1}$ dapat membentuk kompleks $[\text{Au}^+ \text{-sitrat}]$ yang memiliki peran mereduksi Au^+ menjadi Au^0 secara perlahan

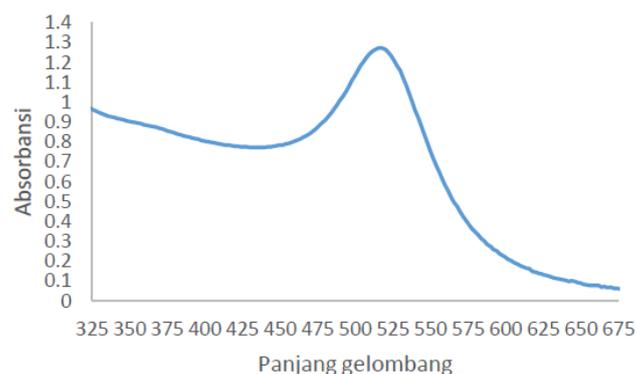
hingga reaksi tetap dapat berlangsung sehingga terbentuklah NPE [7].

Dalam reaksi tersebut molekul Natrium sitrat yang telah teroksidasi akan berfungsi untuk melapisi atau menyelimuti logam Au^0 sehingga mencegahnya teroksidasi kembali menjadi ion Au^{3+} , selain juga berperan sebagai agen penstabil bagi NPE yang bertujuan untuk menjaga NPE yang terdapat dalam larutan agar tidak teragregasi. [8].

NPE yang terbentuk selanjutnya diukur spektrum serapannya pada rentang panjang gelombang 325-800 nm dengan spektrofotometer Uv-Vis.

Panjang gelombang pada absorbansi maksimum (λ_{max}) mengindikasikan ukuran NPE yang terbentuk.

Kurva hasil pengukuran spektrum absorbansi pembentukan dapat dilihat pada Gambar 2.

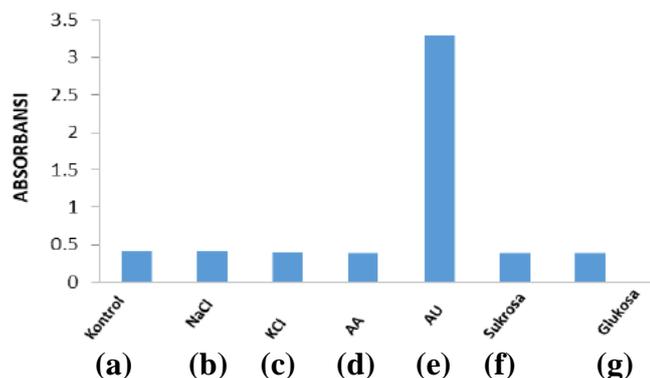


Gambar 2. Kurva Spektrum Absorbansi NPE Yang Disintesis.

Berdasarkan gambar 2 terlihat bahwa serapan maksimum NPE yang dihasilkan terjadi pada panjang gelombang 520 nm dengan absorbansi 1.26504 sehingga panjang gelombang 520 nm ini merupakan panjang gelombang maksimum NPE

Untuk NPE yang disintesis selanjutnya dilakukan uji selektivitas terhadap beberapa biomolekul dengan melihat dari perubahan warna dan nilai absorbansi yang paling tinggi.

Diagram nilai absorbansi uji selektivitas NPE yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3 :

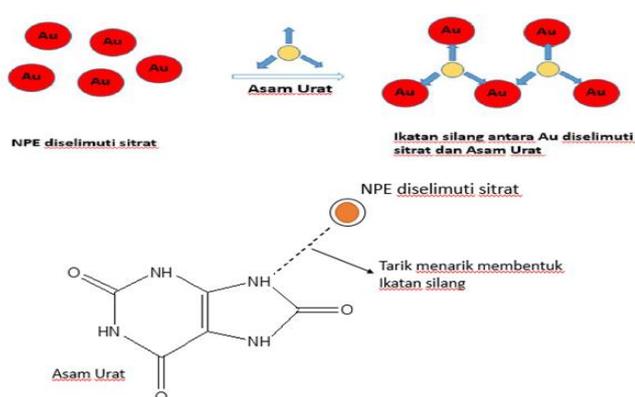


Gambar 3 Diagram Absorbansi Spektrofotometer UV-Vis dari NPE Akibat Penambahan Berbagai Macam Senyawa Biomolekul (a) kontrol, (b) NaCl, (c) KCl, (d) Asam Askorbat, (e) Asam Urat, (f) Sukrosa, (g) Glukosa.

Ketika asam urat yang memiliki empat nitrogen aromatik ditambahkan ke larutan NPE, maka Au⁰ yang diselubungi Natrium sitrat akan saling tarik menarik dengan asam urat, dimana asam urat tersebut akan membentuk ikatan silang dengan AuNPs yang mendorong terjadinya agregasi [9].

Selama terjadinya agregasi, warna yang semula warna merah anggur berubah menjadi orange dan memiliki nilai absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan larutan blanko.

Adapun ilustrasi mekanisme dari asam urat berikatan dengan NPE dapat dilihat seperti pada Gambar 4.

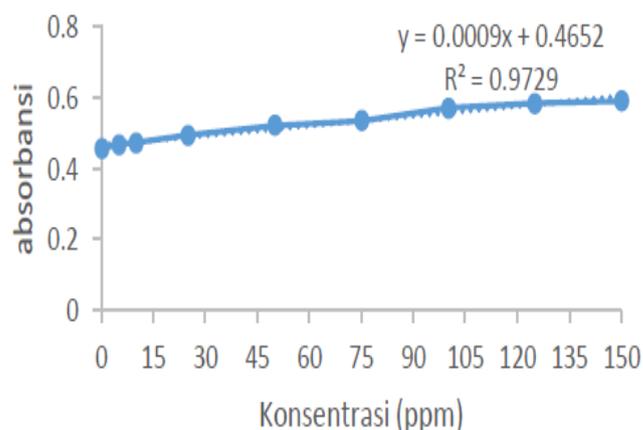


Gambar 4. Ilustrasi Mekanisme Reaksi Pembentukan Ikatan Silang Antara Asam Urat dan NPE [10]

Sensitivitas NPE terhadap asam urat dilakukan dengan mencampurkan larutan standar asam urat dengan konsentrasi 0 ; 5; 10; 25; 50;

75; 100; 125; dan 150 ppm masing-masing sebanyak 1 mL kedalam 1 mL NPE pada kuvet. Kemudian setiap kuvet diukur data spektrum absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Data absorbansi NPE terhadap Asam Urat pada berbagai konsentrasi ppm dapat dilihat pada Gambar 5



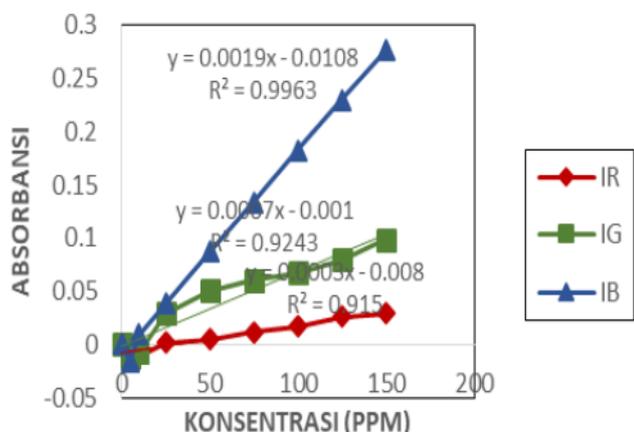
Gambar 5 Kurva Kalibrasi Analisis Asam Urat Dengan Metode Spektrofotometer Uv-Vis

Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan stok asam urat maka semakin besar nilai absorbansinya yang menunjukkan bahwa nilai absorbansi yang diperoleh memiliki korelasi yang nyata terhadap konsentrasi dari asam urat, yaitu terjadi peningkatan pada konsentrasi akan diikuti dengan peningkatan dari nilai absorbansi.

Hal ini ditunjukkan dengan melihat nilai R² = 0.9729 dengan persamaan regresi $y = 0.0009x + 0.4652$. Dengan nilai R² yang mendekati 1 maka semakin baik tingkat kecocokan model dengan data sehingga dapat disimpulkan bahwa kurva kalibrasi yang dibentuk ini bisa dijadikan kurva kalibrasi dalam analisis asam urat [11].

Selanjutnya dilakukan analisis kadar asam urat dengan menggunakan metode citra digital. dengan konsentrasi masing masing sebesar 0; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 125; dan 150 ppm dengan volume sebanyak 1 mL kedalam 1 mL NPE pada kuvet yang difoto didalam mini studio dan kemudian dilakukan analisis secara citra digital dengan mencari masing-masing nilai intensitas warna RGB dari masing-masing komponen warna.

Hasil analisis citra digital dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6 Kurva Kalibrasi Citra Digital Konsentrasi ppm

Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa intensitas dari masing-masing komponen warna akan berbanding lurus dengan konsentrasi asam urat yang ditambahkan, dimana semakin besar konsentrasi asam urat maka semakin besar intensitasnya.

Kurva kalibrasi citra digital memiliki 3 komponen warna yaitu komponen warna R (*Red*), G (*Green*), dan B (*Blue*) dan yang komponen warna yang mempunyai kemiringan signifikan adalah komponen warna *Blue* (biru) dengan nilai $R^2 = 0.9963$ dengan nilai persamaan garis larutan stok asam urat yaitu, $y = 0.0019x - 0.0108$.

Hal ini dikarenakan jika suatu larutan yang memiliki warna tampak adalah orange maka warna koplementer larutan tersebut adalah B (*Blue*) [12].

Akibatnya asam urat mempunyai serapan atau absorbansi yang paling maksimum pada komponen warna B (*Blue*), sehingga untuk menentukan konsentrasi sampel asam urat, persamaan linear yang digunakan adalah B (*Blue*).

Persamaan garis yang didapat akan digunakan sebagai model untuk analisis asam urat untuk sampel yang belum diketahui konsentrasi asam uratnya.

Selanjutnya persamaan kurva kalibrasi pada komponen warna dapat digunakan untuk menentukan LOD atau batas deteksi NPE cairan dalam analisis asam urat konsentrasi ppm secara citra digital. Dari Gambar 6, untuk NPE cairan

dengan konsentrasi ppm diperoleh memiliki nilai LOD sebesar 18.60 ppm dan nilai LOQ 61.98 ppm.

Selanjutnya dilakukan penentuan kadar asam urat pada sampel urin dengan citra digital menggunakan metode SLR yang dilakukan dengan cara mencari intensitas serapan dari komponen warna biru (*Blue*) sampel yang akan dianalisis tersebut.

Didapatkanlah sampel urine A mempunyai konsentrasi asam urat sebesar 25.74 ppm; sampel urine B memiliki konsentrasi asam urat sebesar 34.03 ppm dan sampel urine C memiliki konsentrasi sebesar 28.74 ppm. Dari setiap sampel yang dianalisis dapat disimpulkan bahwa yang memiliki sampel B yang memiliki nilai konsentrasi asam urat yang paling besar yaitu 34.03 ppm.

Dari hasil diatas juga menunjukkan perbedaan konsentrasi pada setiap sampel urine hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti genetik, asupan purin yang berlebihan, kegemukan, konsumsi alkohol yang berlebih, penyakit jantung, kurangnya aktivitas fisik, hipertensi dan konsumsi obat-obatan tertentu (diuretika) dan fungsi ginjal [13].

Asam urat menurut WHO adalah pada wanita dewasa normalnya berada pada range 2.6 mg – 6 mg/dL atau 26 ppm-60 ppm sehingga dapat disimpulkan bahwa, konsentrasi yang didapatkan didalam urine masih berada pada range normal [14].

SIMPULAN

Penggunaan Nanopartikel emas (NPE) dalam mendeteksi asam urat secara citra digital pada sampel urine manusia terbukti sangat selektif terhadap asam urat dengan perubahan warna dari merah anggur menjadi orange.

Sensitivitas NPE dalam mendeteksi asam urat dapat dilihat dari nilai LOD citra digital sebesar 18.60 ppm dan nilai LOQ citra digital adalah 61.98 ppm, sedangkan nilai LOD dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah sebesar 40.76 ppm dan nilai LOQ spektrofotometer Uv-vis adalah 135.87 ppm.

Konsentrasi asam urat pada 3 sampel urine manusia (wanita) yang dideteksi dengan NPE dengan menggunakan metode citra digital yang dicoba diperoleh adalah 25.74 ppm untuk sampel

A, 34.03 ppm untuk sampel B dan 28.74 ppm untuk sampel C.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi pada ketiga sampel tersebut masih di batas normal menurut WHO untuk wanita dewasa yaitu berada pada range 2.6 -6 mg/dL atau 26 ppm-60 ppm.

SARAN

1. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya juga digunakan urine orang yang mengalami sakit asam urat dengan memperhatikan pengaruh penyimpanan, jenis kelamin dan usia serta
2. Pengambilan gambar pada metode citra digital dilakukan pada jarak 30 cm agar tidak membentuk bayangan pada larutan yang difoto dan perlu dilakukan uji statistika untuk memperoleh akurasi kesalahan pada alat

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bintoro ,Y., dan Abdul Madjid, Perubahan Kadar Asam Urat Pada Pengunjung Di Taman Wisata, Blang Padang Kota Banda Aceh, *Jurnal Aceh Medika*, 2017, 1(2): 40-48.
- [2] Ningtiyas, I.F., dan M. Ricky Ramadhian, Efektivitas Ekstrak Daun Salam untuk Menurunkan Kadar Asam Urat pada Penderita Arthritis Gout, *Majority*, 2016, 5 (1): 105-110
- [3] Sholihah, F.M., Diagnosis And Treatment Gout Arthritis, *Majority*, 2014, 3(7): 39-45.
- [4] Siregar, G.P.H., dan Fadli, Pemeriksaan Kadar Asam Urat Darah Pada Lansia Dengan Metode Stick Di Puskesmas Tanjung Rejo Kecamatan Percut Seituan , *Jurnal Online Keperawatan Indonesia*, 2018, 1 (2) : 29-38.
- [5] Akhzami, D.A., Mohammad Rizki, dan Rika Hastuti Setyorini, Perbandingan Hasil *Point of Care Testing* (POCT) Asam Urat dengan *Chemistry Analyzer*, *Jurnal Kedokteran* , 2016, 5(4): 15-19
- [6] Prabowo, D.A., Dedy Abdullah, Ari Manik, Deteksi Dan Perhitungan Objek Berdasarkan Warna Menggunakan Color Object Tracking, *Jurnal Pseudocode*, 2018, 5(2): 85-91.
- [7] Vania, M., dan Fredy Kurniawan, Emas Nanopartikel Sebagai Indikator Titik Beku, *Molluca Journal of Chemistry Education (MJoCE)*, 2012, 2 (2): 96-103
- [8] Fazrin, E.I., Annisa Ilma Naviardianti, Santhy Wyantuti, Shabarni Gaffar, dan Yeni Wahyuni Hartati, Review: Sintesis Dan Karakterisasi Nanopartikel Emas (AuNP) Serta Konjugasi AuNP Dengan DNA Dalam Aplikasi Biosensor Elektrokimia, *PENDIPA Journal of Science Education*, 2020: 4(2), 21-39
- [9] Wikantyasning, E.R., Fika Rizqiyana, Broto Santoso, dan Suprpto, Sensor Kolorimetrik Berbasis Agregasi Nanopartikel Emas Dan Polimer Responsif pH Poli(Asam Akrilat), *University Research Colloquium 2015*, 2015, hal 116-122
- [10] He, Y., Xianhui Zhang, and Haili, Yu, Gold nanoparticles-based colorimetric and visual uric acid assay. *Microchimica Acta* , 2015, 182 (11) : 2037 -2043
- [11] Supriyadi , E., Scolastica Mariani dan Sugiman, Perbandingan Metode Partial Least Square (PLS) dan Principal Component Regression (PCR) Untuk Mengatasi Multikoloneritas Pada Model Regresi Linier Berganda. *Unnes Journal of Mathematics*, 2017, . 6 (2) : 117-128
- [12] Triyati, E., Spektrofotometer Ultra-Violet Dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya Dalam Oseanologi, *Oseana*, 1985, 10 (1): 39 – 47.
- [13] Nur, M., Anggunan , dan Pradita Defi Wulandari, Hubungan Kadar Asam Urat Dengan Kadar Kreatinin Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Hemodialisa DI Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung Tahun 2016, *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 2018, 5 (4) : 305-311.
- [14] Krisyanella, Heti Rais Khasanah, Resva Meinisasti, dan Ades Relijen Tutut, Profil Kadar Asam Urat Pada Pengkonsumsi Minuman Tuak Di Singaran Pati Kota Bengkulu, *Journal of Nursing and Public Health* 2019, 7(2): 13-18