



Analisis Pengaruh Ion Na^+ , K^+ , dan Ca^{2+} Pada Uji Kreatinin Menggunakan Sensor Berbasis Kertas

Diana Merna^{1,2}, Imanuel Gauru¹, Marlon J.R. Benu¹, David Tambaru^{1*}

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²Program Studi Biologi Terapan, Sekolah Tinggi Pertanian Flores Bajawa

*Corresponding author, email: david_tambaru@staf.undana.ac.id

ABSTRACT

Creatinine is a compound that usually found in the human body and has been used as an indicator for kidney dysfunction. A high level of creatinine in the blood or urine indicates kidney dysfunction. The determination of creatinine is commonly based on the Jaffe reaction where upon its reaction with picric acid in basic condition produces a red -orange coloured compound. The intensity of the colour is linearly proportional to the concentration of creatinine in sample. However, samples commonly contain many compounds and ions, could lead to measurement bias. Therefore, in this work, the effect of Na^+ , K^+ , and Ca^{2+} ions on creatinine determination by paper based analytical sensor was studied. The paper sensor was made of filter paper Whatman 42 cut into a circular shape with diameter of 0.6 cm with a commercial paper punch. The paper was loaded with 0.04 M picric acid and 2% NaOH. 114 ppm creatinine solutions with and without addition of varied concentration and combination of the ions, were measured with the paper-based sensors and the colour was recorded using a smartphone camera. The results show that the presence of Na^+ , K^+ , and Ca^{2+} ions in the sample, either individually or mixed, lead to both positive and negative biases depending on the concentration and type of ions. Potassium ion alone at concentrations of lower (260 ppm) and at the normal (1560 ppm) concentration in urine, led to an increased signal, but at higher concentrations, it reduced creatinine signal. On the other hand, sodium and calcium ions, led to the decreased signal with the increase of their concentrations. The same trend was observed in the combinations of two or three of the ions where the presence of K^+ at normal or lower concentration increased the creatinine signals, regardless of Na^+ , Ca^{2+} concentrations.

Keywords: Creatinine, Paper-based sensors, Jaffe reaction, Kidney dysfunction, Interfering ions

ABSTRAK

Kreatinin adalah suatu senyawa yang terdapat dalam tubuh dan telah digunakan sebagai indikator gangguan fungsi ginjal. Kadar kreatinin yang tinggi baik dalam darah maupun urin menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal. Pengukuran kreatinin umumnya dilakukan berdasarkan reaksi Jaffe dimana adanya kreatinin direaksikan dengan asam pikrat dalam suasana basa yang menghasilkan senyawa berwarna merah-oranye. Intensitas warna yang dihasilkan berbanding lurus dengan kreatinin yang terdapat dalam sampel. Namun komposisi sampel yang biasanya mengandung berbagai senyawa atau ion lain, berpotensi menyebabkan bias pada pengukuran. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, pengaruh ion Na^+ , K^+ dan Ca^{2+} dalam analisis kreatinin dengan menggunakan sensor kertas diamati. Sensor kertas terbuat dari kertas saring Whatman 42 dibuat berbentuk lingkaran berdiameter 0.6 cm menggunakan pelubang kertas, dan ditetesi dengan asam pikrat 0.04 M dan NaOH 2%. Kreatinin murni dan kreatinin yang ditambahkan ion-ion dalam konsentrasi dan kombinasi yang bervariasi diukur dengan menggunakan sensor berbasis kertas dan dibaca dengan menggunakan smartphone. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan ion-ion Na^+ , K^+ dan Ca^{2+} , baik secara individu maupun bersama-sama, menyebabkan penurunan atau peningkatan signal pada pengukuran kreatinin. Ion kalium secara individu baik pada konsentrasi rendah (260 ppm) maupun normal (1560 ppm) dalam urin, menyebabkan peningkatan pada signal kreatinin. Sementara, ion natrium dan kalsium menyebabkan penurunan signal dengan meningkatnya konsentrasi kedua ion



tersebut. Kecenderungan yang sama diperoleh ketika gabungan dari dua atau tiga dari ion-ion tersebut, menunjukkan bahwa keberadaan kalium dalam konsentrasi di bawah dan normal menyebabkan peningkatan signal berapapun konsentrasi ion Na^+ , dan Ca^{2+} .

Kata kunci: kreatinin, sensor berbasis kertas, Reaksi Jaffe, penyakit ginjal, Ion pengganggu

PENDAHULUAN

Kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatin yang dikeluarkan tubuh melalui ginjal. Kreatinin dibentuk oleh tubuh dari pemecahan senyawa kreatin dan fosfokreatin, di mana jumlah kreatinin adalah sekitar 2% dari total kreatin¹. Konsentrasi kreatinin yang tinggi dalam urin dapat menjadi indikator kerusakan ginjal, oleh karena itu perlu dilakukan pemeriksaan yang rutin untuk mengetahui keadaan fungsi ginjal.

Metode konvensional yang sering digunakan dalam pemeriksaan kreatinin yaitu spektrofotometri UV-Vis, reaksi Jaffe², *Sequential Injection-Flow Reversal Mixing*³ dan modifikasi elektroda *Hanging Mercury Drop* dengan *Molecularly Imprinted Polianilin*⁴. Metode-metode ini membutuhkan waktu yang lama, biaya yang mahal, dan hanya dapat dilakukan oleh orang-orang yang memiliki keahlian khusus. Metode-metode seperti ini sangat sulit diaplikasikan kepada masyarakat umum khususnya bagi masyarakat terpencil, maka diperlukan alternatif lain yang dapat membantu mengontrol kondisi fungsi ginjal masyarakat pada umumnya.

Salah satu metode analisis yang sedang dikembangkan oleh ilmuwan-ilmuwan dunia adalah teknologi sensor berbasis kertas atau *microfluidic paper-based sensors* (μPADs)⁵. Metode analisis tersebut memiliki biaya yang murah dan dapat dibuat dalam ukuran mikro sehingga mudah dibawa dan digunakan oleh siapapun. Metode ini sangat ramah lingkungan karena dapat dibuang atau dibakar dengan dampak emisi yang relatif kecil bagi lingkungan. Pada penelitian sebelumnya sensor berbasis kertas telah berhasil digunakan untuk penentuan glukosa⁶, protein, keton^{7,8}, pH beberapa produk minuman⁹, golongan darah, serta penentuan ion logam seperti mangan, timbal, besi dan emas dalam air¹⁰⁻¹². Tambaru, dkk.¹³, telah mengembangkan sensor berbasis kertas untuk mendeteksi adanya kreatinin dalam urin dengan menggunakan metode Jaffe dan telepon genggam sebagai detektor. Adanya kreatinin dalam urin memberikan perubahan warna *orange*-merah pada kertas yang telah diimobilisasikan dengan asam pikrat dalam keadaan basa. Pada penelitian ini sensor yang dirancang diaplikasikan pada kreatinin murni tanpa zat pengganggu, sementara itu urin normal manusia tersusun atas berbagai macam zat-zat organik dan anorganik.

Rismawati dan Ira (2012)¹⁴, menyatakan bahwa zat anorganik yang biasa terdapat dalam urin adalah natrium dan kalium. Lemann J.Jr (1992)¹⁵; Robert A. Hiatt dkk. (1996)¹⁶, menerangkan bahwa kalsium merupakan mineral utama pembentuk batu saluran kemih (70-85 %). Kandungan natrium, kalium dan kalsium dalam urin dipengaruhi oleh makanan dan minuman yang dikonsumsi setiap hari. Natrium dan kalium dalam urin masing-masing adalah 2760 ppm (setara dengan 40-220 mmol/24 jam) dan 1560 ppm (setara dengan 40-80 mmol/24 jam)¹⁴. Kandungan ion-ion lain dalam sampel urin dapat bersifat pengganggu dalam analisis menggunakan reaksi Jaffe. Oleh karena uji kinerja pada sistem deteksi kreatinin dengan sensor berbasis kertas perlu dilakukan khususnya pada beberapa ion yang umum terdapat dalam sampel yaitu ion Na^+ , K^+ , dan Ca^{2+} .

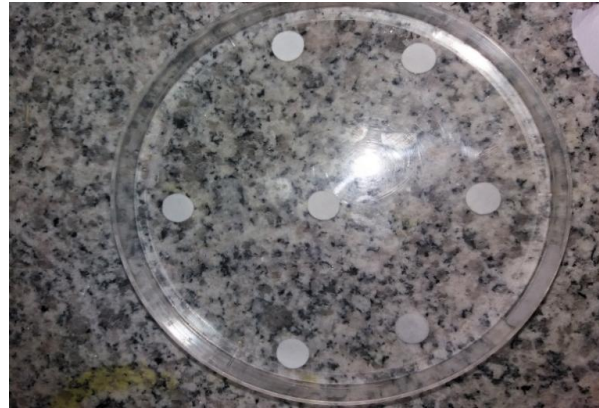
HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu cara analisis yang saat ini sedang dikembangkan oleh ilmuwan dunia adalah teknologi sensor berbasis kertas atau *paper based sensors*. Selain biayanya yang murah, sensor berbasis kertas dapat dibuat dalam ukuran kecil sehingga membutuhkan sampel dalam ukuran mikro. Sensor berbasis kertas telah banyak dimanfaatkan seperti pada analisis forensik, pemantauan lingkungan, analisis bahan makanan, diagnosa penyakit dan sebagainya^{18, 19}.

Tambaru, dkk.¹³ telah mengembangkan sensor berbasis kertas untuk mendeteksi kreatinin dalam urin sebagai diagnosa awal penyakit ginjal. Adanya kreatinin dalam urin memberikan respon positif berupa perubahan warna kertas dari warna kuning menjadi orange-merah. Sensor yang telah dirancang diuji pada sampel urin normal manusia dan memberikan perubahan warna dan intensitas yang berbeda dengan sampel sintetik kreatinin. Hal ini dapat disebabkan oleh zat anorganik dan organik yang terdapat dalam urin. Natrium dan kalium merupakan cairan yang banyak terkandung dalam cairan ekstrasel dan intrasel urin¹⁴. Eksresi natrium terutama dilakukan oleh ginjal dan kalium sekitar 90% dikeluarkan melalui ginjal¹⁴.

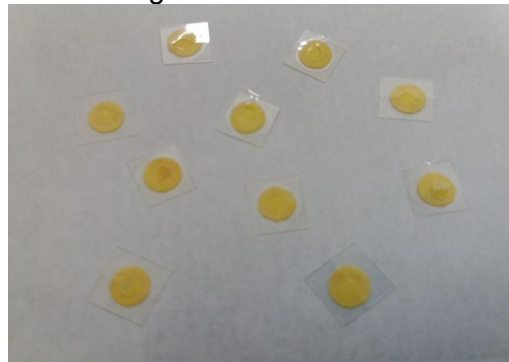
Pabrikasi Sensor

Pabrikasi sensor dilakukan dengan terlebih dahulu mendesain kertas. Kertas yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring whatman 42 sebagai zona reaksi kolorimetrik. Zona reaksi dibuat dengan memotong kertas kertas berbentuk lingkaran dengan diameter 0,6 cm menggunakan pelubang kertas komersial.



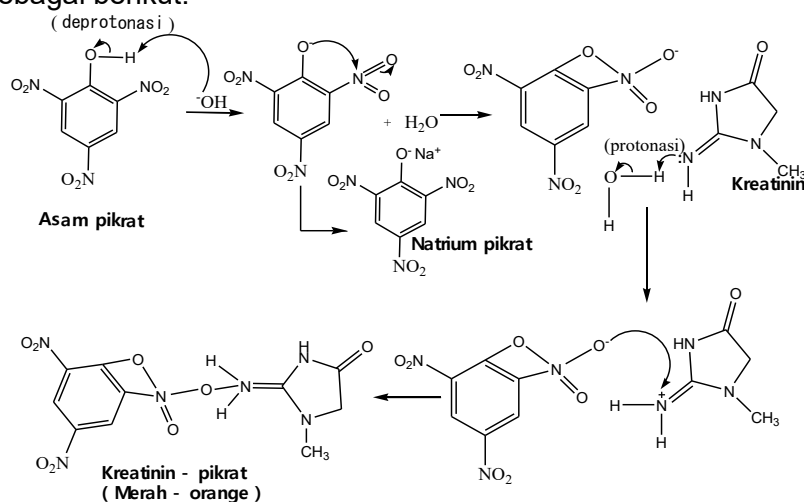
Gambar 1. Model desain sensor kertas

Kertas saring yang telah didesain di atas dimodifikasi lagi dengan menutup kertas menggunakan plastik laminating di mana salah satunya dilubangi sebagai tempat injeksi sampel. Modifikasi sampel menggunakan plastik laminating berfungsi untuk menghindari kertas dari pengotor yang berasal dari lingkungan sehingga tidak mengganggu reaksi antara reagen dan sampel. Sebelum kertas dimodifikasi dengan plastik laminating terlebih dahulu diimobilisasi dengan reagen NaOH 2% dan asam pikrat 0,04 M. Penggunaan NaOH 2% dan asam pikrat 0,04 M bertujuan untuk mendeteksi adanya kreatinin yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning menjadi orange-merah. Konsentrasi 2% NaOH dan 0,04 M asam pikrat merupakan konsentrasi yang optimum untuk penentuan kadar kreatinin yang memberikan intensitas *red* tertinggi¹³. Gambar 2 menunjukkan sensor yang telah diimobilisasi dengan reagen lalu dimodifikasi dengan menggunakan plastik laminating.



Gambar 2. Model desain sensor kertas

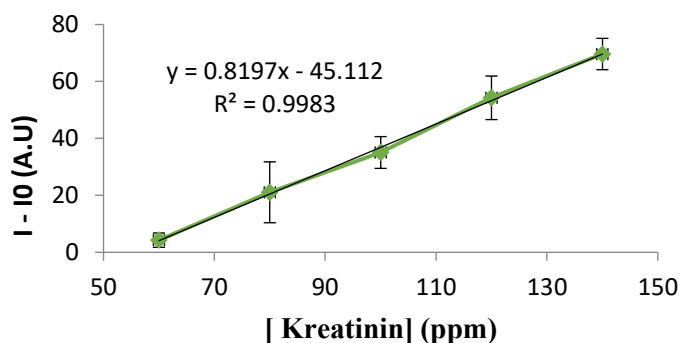
Setelah dimodifikasi dengan menggunakan plastik laminating, sensor kertas siap digunakan. Pada penelitian ini, uji selektifitas sensor dilakukan dengan mengukur intensitas kreatinin 114 ppm (kadar normal kreatinin dalam urin). Pengukuran intensitas dari kreatinin 114 ppm yang menggunakan *microsoft Visual c# 2010 express* menunjukkan intensitas ($I-I_0$) sebesar 53,72452 dan warna yang dihasilkan adalah orange-merah. Perubahan warna yang terjadi merupakan hasil reaksi antara asam pikrat dan kreatinin dalam suasana alkali. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Mekanisme reaksi Jaffe³

Kurva Kalibrasi

Sensor kertas yang telah dipabrikasi diuji linearitasnya untuk pengukuran kreatinin dengan menginjeksi kreatinin dengan variasi konsentrasi 60-140 ppm pada sensor kertas. Uji linearitas sensor bertujuan untuk mengetahui sensitivitas metode analisis di mana menurut *Association of Analytical Chemist* (AOAC) (2000) R^2 yang dapat diterima adalah $\geq 0,9970$. Sensitivitas sensor dapat menunjukkan hubungan yang linear antara dua variabel (I_{red} Vs C). Berikut disajikan grafik hubungan antara intensitas merah dengan variasi konsentrasi kreatinin (I_{red} Vs C):








Gambar 4. Kurva hubungan antara intensitas merah dan konsentrasi kreatinin

Kurva kalibrasi menunjukkan adanya hubungan linear antara intensitas merah dan konsentrasi kreatinin. Linearitas hubungan antara intensitas merah dan konsentrasi kreatinin terlihat pada besarnya koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0,9983 dengan persamaan regresi $Y = 0.8197x - 45,112$.

Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa linearitas metode *Microsoft Visual c# 2010 Express* dapat diterima dan digunakan dalam penentuan konsentrasi kreatinin karena memiliki nilai $R^2 > 0,9970$. Berdasarkan kurva pada Gambar 4, terlihat bahwa nilai intensitas merah berbanding lurus dengan konsentrasi kreatinin. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi kreatinin maka intensitas merah pada sensor kertas akan semakin meningkat. Berikut disajikan perubahan warna dan intensitas pada masing-masing variasi konsentrasi kreatinin:

Tabel 1. Perubahan warna dan intensitas merah pada pembuatan kurva kalibrasi

Kreatinin (ppm)	60	80	100	120	140
Warna					
Intensitas merah ($I-I_0$)	4.664	21.06	35.059	54.268	69.635

Tabel 1 menunjukkan bahwa secara kolorimetri perubahan warna pada kertas juga berbanding lurus dengan intensitas merah dan konsentrasi kreatinin. Dari gambar yang disajikan ditunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kreatinin maka warna orange-merah yang dihasilkan semakin terang dan semakin terang warna sensor kertas intensitas merah yang dihasilkan semakin tinggi.

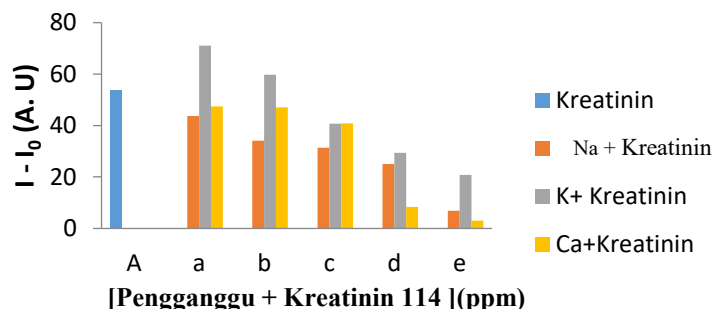
Berdasarkan hasil uji statistik $F_{\text{Hitung}} (69.92) > F_{\text{Tabel}} (2.87)$ yang menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kreatinin berpengaruh nyata terhadap pengukuran intensitas yang dihasilkan dengan taraf kepercayaan 95%.

Pengaruh Variasi Pengganggu (Natrium, Kalium, Kalsium) dan Variasi Konsentrasinya Terhadap Sensor Kreatinin Berbasis Kertas

Sensor kertas merupakan salah satu sensor kimia yang sedang dikembangkan oleh ilmuwan dunia saat ini. Penggunaan sensor kertas dalam mendeteksi keberadaan kreatinin sebagai diagnosa awal penyakit ginjal telah dilakukan Tambaru, dkk.¹³, namun sampel yang digunakan adalah kreatinin murni dan saat dicoba pada urin normal manusia sensor memberikan respon yang berbeda. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menguji pengaruh zat lain yang terkandung dalam urin terhadap pengukuran intensitas kreatinin menggunakan sensor kertas. Pada penelitian ini, yang dianggap sebagai pengganggu adalah natrium, kalium dan kalsium. Ketiga zat ini merupakan ion yang biasa terdapat dalam urin. Uji pengaruh pengganggu (natrium, kalium dan kalsium) terhadap sensor dapat dilakukan dengan menambahkan kreatinin 114 ppm ke dalam zat pengganggu lalu disuntikkan pada sensor melalui zona sampel. Perubahan pada kertas dideteksi menggunakan *Handphone Samsung Galaxy J5* yang berfungsi sebagai detektor lalu hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan *Microsoft Visual c# 2010 Express*.

Pada tahap ini zat pengganggu (natrium, kalium dan kalsium) dibuat dalam lima variasi konsentrasi sesuai dengan kadar masing-masing dalam urin. Natrium dalam urin berkisar antara 2750 ppm, kalium berkisar antara 1500 ppm dan kalsium berkisar antara 200 ppm¹⁴. Oleh karena itu masing-masing pengganggu divariasikan untuk menunjukkan konsentrasi dibawah kadar normal pengganggu dalam urin, tepat pada kadar normal dan di atas kadar normal pengganggu dalam urin. Hal ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana masing-masing pengganggu itu berpengaruh pada sensor kreatinin.

Berikut disajikan grafik hubungan antara variasi konsentrasi masing-masing pengganggu dengan intensitas merah yang dihasilkan ($I-I_0$ Vs C) yang dihasilkan:



Gambar 5.. Kurva hubungan antara variasi pengganggu (Na, K dan Ca) + Kreatinin dengan intensitas merah yang dihasilkan pada sensor kreatinin

Keterangan:

A: Kreatinin 114 ppm

a, b: konsentrasi di bawah kadar normal dalam urin (Na: 153 ppm, 613 ppm; K: 260 ppm, 1040 ppm; 53 ppm, 100 ppm Ca)

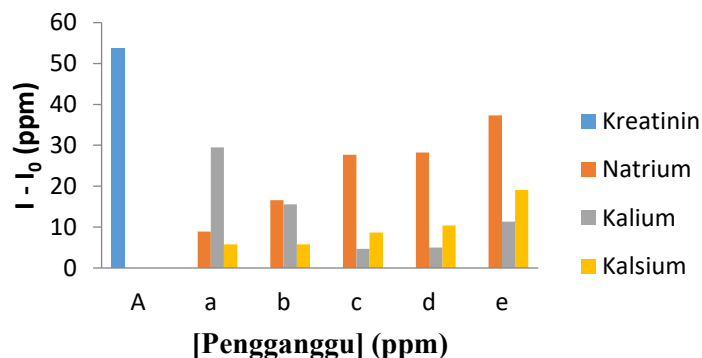
c: kadar normal dalam urin (Na: 2760 ppm; K: 1560 ppm; Ca: 200 ppm)

d, e: konsentrasi diatas kadar normal dalam urin (Na: 3833 ppm, 4600 ppm; K: 2600 ppm, 3900 ppm; Ca: 300 ppm, dan 346 ppm)

Berdasarkan kurva pada Gambar 5 dapat diamati bahwa ketiga zat pengganggu memberikan pengaruh pada pengukuran intensitas kreatinin, dimana keberadaan pengganggu berpengaruh meningkatkan ataupun menurunkan intensitas sensor. Pengganggu yang meningkatkan intensitas sensor adalah kalium pada konsentrasi di bawah kadar normal dalam urin. Peningkatan intensitas sensor ($I - I_0$) hingga = 71.095, namun semakin tinggi konsentrasi kalium intensitas merah yang dihasilkan pada sensor semakin menurun. Begitupun natrium dan kalsium keduanya sama-sama menurunkan intensitas merah pada sensor dan semakin tinggi konsentrasi pengganggu yang ditambahkan intensitas merah yang dihasilkan semakin kecil. Pada grafik dapat pula diamati bahwa zat pengganggu yang paling besar menurunkan intensitas sensor adalah kalsium pada konsentrasi di atas kadar normal di dalam urin. Keberadaan kalsium di atas kadar normal menurunkan intensitas ($I - I_0$) hingga 4.198. Peningkatan dan penurunan intensitas pada sensor dapat diakibatkan karena ketiga zat pengganggu yang ditambahkan merupakan logam yang reaktif dan mudah larut dalam air.

Berdasarkan uji statistik (uji F) masing-masing pengganggu (Na, K, dan Ca) memiliki nilai F_{hitung} sebesar (29,423), (131.8), (131.57). Masing-masing pengganggu memiliki nilai $F_{hitung} > F_{tabel}(2.87)$ yang menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi natrium, kalium dan kalsium berpengaruh nyata terhadap intensitas merah yang dihasilkan pada pengukuran kreatinin dengan taraf kepercayaan 95%. Dapat disimpulkan bahwa sensor kreatinin yang telah dipabrikasi tidak selektif terhadap kreatinin tetapi dapat bereaksi dengan zat lain didalam urin seperti natrium, kalium dan kalsium.

Pengaruh pengganggu natrium, kalium dan kalsium dapat pula kita amati pada pola intensitas merah pada kurva yang disajikan berikut ini:



Gambar 6. Kurva hubungan antara variasi pengganggu (Na, K dan Ca) dengan intensitas merah yang dihasilkan pada sensor kreatinin

Keterangan:

A: Kreatinin 114 ppm

a, b: Konsentrasi dibawa kadar normal (Na: 153 ppm, 613 ppm; K: 260 ppm, 1040 ppm; 53 ppm, 100 ppm Ca)

c: kadar normal dalam urin (Na: 2760 ppm; K: 1560 ppm; Ca: 200 ppm)

d,e: konsentrasi diatas kadar normal (Na: 3833 ppm, 4600 ppm; K: 2600 ppm, 3900 ppm; Ca: 300 ppm, dan 346 ppm)

Pada Gambar 6, dapat diamati bahwa tiap variasi konsentrasi dari pengganggu berinteraksi dengan sensor kreatinin di mana pola intensitas yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi tiap pengganggu. Natrium dan kalsium berinteraksi dengan sensor dengan pola intensitasnya semakin meningkat pada setiap peningkatan konsentrasi. Sedangkan kalium pada konsentrasi di bawah kadar normal hingga pada kadar normal pola intensitas yang dihasilkan semakin menurun dan kembali meningkat pada penambahan konsentrasi diatas kadar normalnya dalam urin. Besarnya intensitas yang dihasilkan menunjukkan pengaruh penambahan tiap pengganggu pada pengukuran kreatinin 114 ppm (Gambar 6). Dapat disimpulkan bahwa, semakin tinggi intensitas pengganggu maka semakin besar pengaruh penambahannya pada pengukuran kreatinin 114 ppm sehingga menurunkan intensitas. Hal ini dapat dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi di mana semakin tinggi konsentrasi, maka ion yang dihasilkan semakin banyak oleh karena itu ion yang bereaksi dan mengganggu pengukuran semakin banyak.

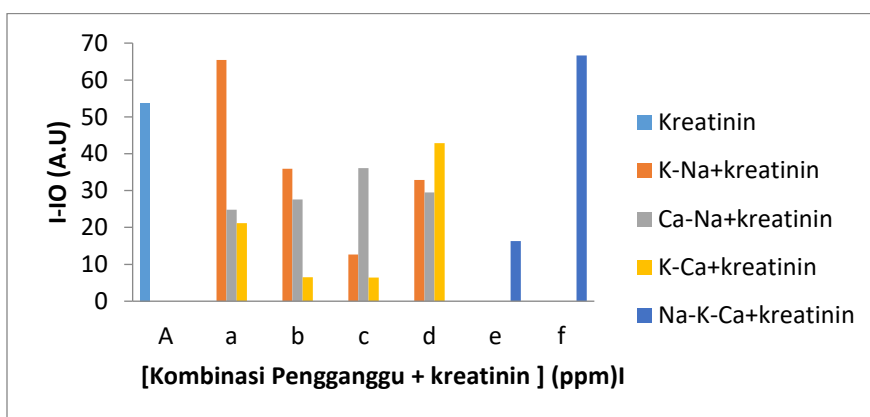
Berdasarkan uji statistik (uji F), pengganggu natrium, kalium dan kalsium memiliki nilai F_{hitung} sebesar (16.74), (39.96), (9.89). Masing-masing pengganggu memiliki nilai $F_{hitung} > F_{tabel}(2.87)$ yang menunjukkan bahwa natrium, kalium dan kalsium bereaksi dengan sensor kreatinin, sehingga penambahannya berpengaruh nyata terhadap pengukuran intensitas kreatinin 114 ppm dengan taraf kepercayaan 95%. . Dapat disimpulkan bahwa sensor kreatinin yang telah dipabrikan tidak selektif terhadap kreatinin tetapi dapat bereaksi dengan zat di dalam urin seperti natrium, kalium dan kalsium.

Pengaruh Variasi Kombinasi Pengganggu dan Variasi Konsentrasinya Pada Sensor Kertas

Selektifitas dan sensitivitas merupakan salah satu syarat suatu metode dapat digunakan dalam suatu analisis. Sensor kertas yang telah dipabrikan telah dibuktikan tidak selektif terhadap kreatinin tetapi dapat bereaksi dengan natrium, kalium dan kalsium. Kalium dan natrium dalam tubuh memiliki peran penting sebagai pengatur keseimbangan volume cairan dan menjaga fungsi sel. Sedangkan kalsium merupakan elemen mineral yang paling banyak

terkandung dalam tubuh di mana kelebihan kalsium dapat menyebabkan hipereksekresi urin dan supersaturasi.

Pada bagian ini, akan dibahas pengaruh variasi kombinasi pengganggu (natrium, kalium dan kalsium) dan variasi konsentrasinya pada pengukuran intensitas kreatinin menggunakan sensor berbasis kertas. Uji ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ketiga zat pengganggu jika semuanya terdapat di dalam urin. Pada tahap ini, dilakukan dengan mengkombinasikan zat-zat pengganggu berdasarkan kadarnya masing-masing di dalam urin, dengan tujuan untuk meninjau sejauh mana masing-masing pengganggu berpengaruh terhadap pengukuran intensitas kreatinin. Uji pengaruh variasi kombinasi pengganggu dilakukan dengan menambahkan kreatinin 114 ppm kedalam masing-masing variasi konsentrasi pada tiap kombinasi pengganggu. Berikut disajikan grafik hubungan variasi konsentrasi dan kombinasi pengganggu pada pengukuran intensitas kreatinin 114 ppm:



Gambar 7. Kurva hubungan antara variasi kombinasi pengganggu+kreatinin 114 ppm dan konsentrasinya terhadap intensitas merah sensor kreatinin.

Keterangan:

A: Kreatinin 114 ppm

a: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing diatas kadar normal masing-masing ion dalam urindalam

b: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion pertama diatas kadar normal dan ion kedua dibawah kadar normal dalam urin

c: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion pertama dibawah kadar normal dan ion ke dua diatas kadar normal dalam urin

d: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion di bawah kadar normalnya dalam urin

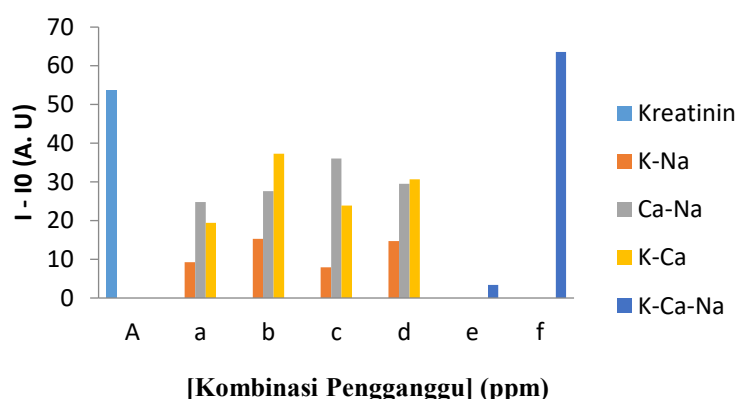
e: kombinasi 3 ion pengganggu dengan kadar masing-masing ion di atas kadar normalnya dalam urin

f: kombinasi 3 ion pengganggu dengan kadar masing-masing ion di bawah kadar normalnya dalam urin

Berdasarkan kurva pada Gambar 7, dapat disimpulkan bahwa penambahan kombinasi pengganggu dengan variasi konsentrasinya masing-masing berpengaruh terhadap pengukuran intensitas sensor kreatinin. Pengaruh yang diberikan berupa peningkatan ataupun penurunan intensitas. Peningkatan intensitas sensor terjadi pada penambahan kombinasi K-Na dan K-Na-Ca pada konsentrasi di bawah kadar normal di dalam urin, sedangkan kombinasi lainnya berpengaruh dengan menurunkan intensitas sensor. Penurunan intensitas sensor yang paling besar adalah pada kombinasi K-Ca pada konsentrasi dibawah kadar normal dan pada kadar normalnya didalam urin. Adanya pengaruh kombinasi pengganggu ini dapat disebabkan oleh

sifat ketiga logam yang mudah bereaksi. Kombinasi ketiga zat pengganggu ini dapat menambahkan jumlah ion, sehingga semakin banyak ion yang dapat mengganggu reaksi antara asam pikrat dan kreatinin.

Berdasarkan uji statistik (uji F) masing-masing variasi kombinasi (Ca-Na, K-Na, K-Ca dan K-Na-Ca) dan variasi konsentrasinya memiliki nilai F_{hitung} sebesar (224.03), (66.95), (55.19) dan (37,11). Pada penelitian ini, kombinasi 2 jenis pengganggu memiliki $F_{hitung} > F_{tabel}(2.87)$ sementara kombinasi ketiga pengganggu memiliki $F_{hitung} (37,11) > F_{tabel}(3.24)$ yang menunjukkan bahwa kombinasi pengganggu berpengaruh nyata terhadap pengukuran intensitas sensor kreatinin pada taraf kepercayaan 95% . Dapat disimpulkan bahwa sensor kreatinin yang telah dipabrikasi tidak selektif terhadap kreatinin tetapi juga dapat bereaksi dengan natrium, kalium dan kalsium jika semuanya terdapat dalam urin baik dibawa kadar normal, maupun diatas kadar normalnya. Pengaruh kombinasi pengganggu natrium, kalium dan kalsium dapat pula kita amati pada pola intensitas merah pada kurva yang disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Kurva hubungan antara variasi kombinasi pengganggu+kreatinin 114 ppm dan konsentrasinya terhadap intensitas merah sensor kreatinin.

Keterangan:

A: Kreatinin 114 ppm

a: Kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing di atas kadar normal masing-masing ion dalam urin

b: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion pertama diatas kadar normal dan ion kedua dibawa kadar normal dalam urin

c: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion pertama dibawah kadar normal dan ion ke dua diatas kadar normal dalam urin

d: kombinasi pengganggu dengan kadar masing-masing ion di bawah kadar normalnya dalam urin

e: kombinasi 3 ion pengganggu dengan kadar masing-masing ion di atas kadar normalnya dalam urin

f: kombinasi 3 ion pengganggu dengan kadar masing-masing ion di bawah kadar normalnya dalam urin

Pada Gambar 8, dapat diamati bahwa tiap kombinasi dari pengganggu berinteraksi dengan sensor kreatinin dimana pola intensitas yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi tiap kombinasi pengganggu. Masing-masing kombinasi pengganggu memberikan pengaruh yang tidak jauh berbeda. Pada kombinasi kalium-kalsium yang memberikan intensitas paling tinggi adalah pada saat konsentrasi kalium diatas kadar normal dengan kalsium dibawah kadar normal. Sedangkan pada kombinasi antara kalsium-natrium, yang memberikan intensitas paling tinggi adalah pada saat konsentrasi kalsium dibawah kadar normal dengan natrium diatas kadar normal

dalam urin. Sementara itu pada kombinasi kalium-natrium memberikan intensitas yang lebih kecil dibandingkan dengan kombinasi kalium-natrium dan kalium kalsium. Hal ini dapat diperkirakan dipengaruhi oleh kalium dan natrium merupakan logam alkali yang memiliki sifat kereaktifan tinggi. Ketika ketiga pengganggu dikombinasikan dengan kadar masing-masing dibawa kadar normal intensitas yang dihasilkan sangat kecil dibandingkan ketika dikombinasikan dengan masing-masing konsentrasi diatas kadar normal dalam urin.

Pola intensitas yang ditunjukkan pada Gambar 7 dapat kita bandingkan dengan kurva pada Gambar 6. Berdasarkan uji statistik (uji F), kombinasi pengganggu (Ca-Na, K-Na, K-Ca) memiliki nilai F_{hitung} sebesar (8.63), (9.58), (6.09). Masing-masing kombinasi pengganggu memiliki nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ (2.87) yang menunjukkan bahwa natrium, kalium dan kalsium bereaksi dengan sensor kreatinin, sehingga penambahannya berpengaruh nyata terhadap pengukuran intensitas kreatinin 114 ppm dengan taraf kepercayaan 95%. Hal ini menunjukkan bahwa sensor kreatinin telah dipabrikasi tidak selektif terhadap kreatinin, tetapi bereaksi natrium, kalium dan kalsium pada kadar normal, maupun diatas kadar normalnya.

Validasi Metode

Validasi metode memegang peranan penting dalam menentukan keabsahan dari suatu metode yang digunakan dalam analisis. Dalam penelitian ini, uji validasi metode dilakukan dengan beberapa parameter uji yaitu: uji presisi, akurasi, dan % *recovery* (perolehan kembali).

Tabel 2. Parameter Metode Analisis.
Metode

Parameter	Sensor kertas dengan pencitraan digital (<i>Microsoft Visual c# 2010 Express</i>)	<i>Tandem Mass Spectrometry With SPE</i> [20]	Spektrofotometer UV-Vis [2]
Presisi (%RSD)	1.91	2,0-4,4	0,3705
Akurasi (%Error)	0,01	-	-
Perolehan kembali (%R)	98.630 ± 2.157	95-98	-

Presisi

Presisi merupakan parameter kinerja analisis yang menunjukkan tingkat kesesuaian antara satu pengukuran dan pengukuran lainnya. Tingkat presisi dinyatakan sebagai standar deviasi atau %RSD, menerangkan bahwa %RSD yang dapat diterima yaitu <1% untuk instrumen kimia dan <2% untuk pengukuran kadar. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh %RSD = 1.91. nilai %RSD yang diperoleh dari hasil pengukuran berada di bawah 2% sehingga dapat dikatakan bahwa metode ini memiliki presisi yang baik.

Akurasi

Uji akurasi dari suatu metode analisis perlu dilakukan untuk melihat keakuratan hasil analisis dengan membandingkan hasil analisis dengan kadar analit yang sesungguhnya dinyatakan sebagai *error* yang dihasilkan pada tahapan penelitian. Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa %*error* yang diperoleh dari analisis menggunakan metode *Microsoft Visual c# 2010 Express* (Tabel %) sebesar (0.01). Bila dibandingkan dengan pengembangan sensor kreatinin melalui modifikasi elektroda hanging mercury drop dengan *molecular imprinted polianlin* oleh



Azhar dkk.⁴ diperoleh % akurasi untuk kadar kreatinin 1 ppb sebesar 4,36. Semakin kecil %*Galat* yang dihasilkan maka metode yang digunakan semakin baik karena semakin sedikit kesalahan yang dilakukan selama analisis, maka dapat disimpulkan bahwa metode *Microsoft Visual c# 2010 Express* baik untuk digunakan sebagai metode analisis kreatinin.

Perolehan Kembali (% Recovery)

Uji perolehan kembali tiap analisis dilakukan untuk melihat rasio antara hasil yang diperoleh dengan nilai yang sesungguhnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari metode *Microsoft Visual c# 2010 Express* diperoleh %R sebesar 98.630 ± 2.157 . Bila dibandingkan dengan penentuan kreatinin menggunakan metode *Tandem Mass Spectrometry With SPE* yang dilakukan oleh Huskova dkk.²⁰ diperoleh hasil perolehan kembali sebesar 95-98. Hasil yang diperoleh menunjukkan %R dari metode *Microsoft Visual c# 2010 Express* masuk dalam range %R *Tandem Mass Spectrometry With SPE* yaitu relatif mendekati 100%.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa adanya ion Na^+ , K^+ dan Ca^{2+} dalam sampel pada analisis kreatinin berdasarkan reaksi Jaffe dengan menggunakan sensor berbasis kertas dan dengan konsentrasi tertentu, dapat memberi pengaruh signifikan pada hasil analisis. Oleh karena itu, pengukuran kreatinin dengan reaksi Jaffe perlu memperhatikan kandungan ion Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , atau mengeliminasi gangguannya sebelum analisis.

DAFTAR PUSTAKA

1. C.D. Garcia, C.S. Henry, Direct detection of renal function markers using microchip CE with pulsed electrochemical detection, *Analyst*, 2004, 129, 579-584, 129 (2004) 579-584.
2. T.A. Natsir, D. Siswanta, Roto, Pengembangan Metode Analisis Kreatinin Secara Spektrofotometri Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-Visible, *Berkala Mipa*, 24 (2014) 12-19.
3. A. Sabarudin, E.R.N. Wulandari, H. Sulistyarti, Sequential Injection-Flow Recersal Mixing (SI-FRM) untuk penentuan kreatinin dalam urin, *Jurnal MIPA*, 35 (2012) 157-164.
4. A.P. Azhar, Pengembangan Sensor Voltametrik Kreatinin Melalui Modifikasi ELEktroda Hanging Mercury Drop Dengan Molecularly Imprinted Polianilin, *Kimia*, Universitas Airlangga, Surabaya, 2012.
5. A. Thakur, V. Malik, D. Gupta, Paper-based biosensors—from fabrication to applications: a review, *Chemical Papers*, 79 (2024) 43-73.
6. J. Lankelma, Z. Nie, E. Carrilho, G.M. Whitesides, Paper-based analytical device for electrochemical flow-injection analysis of glucose in urine, *Anal Chem*, 84 (2012) 4147-4152.
7. K.R. Aisy, A.L. Fahmi, H. Sulistyarti, I.O. Wulandari, A. Sabarudin, Non-Enzymatic Detection of Glucose and Ketones in Urine using Paper-Based Analytical Devices, *JKPK (Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia)*, 9 (2024).
8. M. Mukhopadhyay, S.G. Subramanian, K.V. Durga, D. Sarkar, S. DasGupta, Laser printing based colorimetric paper sensors for glucose and ketone detection: Design, fabrication, and theoretical analysis, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 371 (2022) 132599.
9. P. Cortes-Avendano, E.A. Macavilca, F.C. Ponce-Rosas, S.M. Murillo-Baca, J. Quispe-Neyra, F. Alvarado-Zambrano, L. Condezo-Hoyos, Microfluidic paper-based analytical device for measurement of pH using as sensor red cabbage anthocyanins and gum arabic, *Food Chem*, 462 (2025) 140964.



10. F. Nitti, W.A. Ati, P. De Rozari, P.D. Ola, D. Tambaru, L. Kadang, Simple Microfluidic Paper-Based Analytical Device (μ -PAD) Coupled with Smartphone for Mn(II) Detection Using Tannin as a Green Reagent, *Indonesian Journal of Chemistry*, 23 (2023).
11. O. Ajung, D. Tambaru, T. Lapailaka, L. Kadang, F. Nitti, Surface Modification of Paper-Based Analytical Devices Using Polymer Inclusion Films as Optical Sensors for The Detection of Cu(II) Ions in Water, *Jurnal β Kimia*, 5 (2025) 16-32.
12. D.D. Liana, B. Raguse, J.J. Gooding, E. Chow, Recent advances in paper-based sensors, *Sensors*, 12 (2012) 11505-11526.
13. D. Tambaru, R.H. Rupilu, F. Nitti, I. Gauru, Suwari, Development of paper-based sensor coupled with smartphone detector for simple creatinine determination, *International Conference on Chemistry, Chemical Process and Engineering (IC3PE) 2017*, AIP Publishing, Padjajaran University, Bandung, 2017, pp. 1-6.
14. R. Yaswir, I. Ferawati, Fisiologi dan Gangguan Keseimbangan Natrium, Kalium dan Klorida serta Pemeriksaan Laboratorium, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1 (2012) 80-89.
15. J.Lamen Jr, Composition of the Diet and Calcium Kidney Stones, *The New England Journal of Medicine*, 328 (1993) 880-882.
16. R.A. Hiatt, B. Ettinger, B. Caan, C.P. Quesenberry, D. Duncan, J.T. Citron, Randomized Controlled Trial of a Low Animal Protein, High Fiber Diet in the Prevention of Recurrent Calcium Oxalate Kidney Stones, *American Journal of Epidemiology*, 144 (1996) 25-33.
17. J.L. Delaney, C.F. Hogan, J. Tian, W. Shen, Electrogenated Chemiluminescence Detection in Paper-Based Microfluidic Sensors, *Analytical Chemistry*, 83 (2011) 1300-1306.
18. A.W. Martinez, S.T. Phillips, M.J. Butte, G.M. Whitesides, Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays, *Angew Chem Int Ed Engl*, 46 (2007) 1318-1320.
19. M. Almeida, B.M. Jayawardane, S.D. Kolev, I.D. McKelvie, Developments of microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) for water analysis: A review, *Talanta*, 177 (2018) 176-190.
20. R. Hušková, P. Chrastina, T. Adam, P. Schneiderka, Determination of creatinine in urine by tandem mass spectrometry, *Clinica Chimica Acta*, 350 (2004) 99-106.

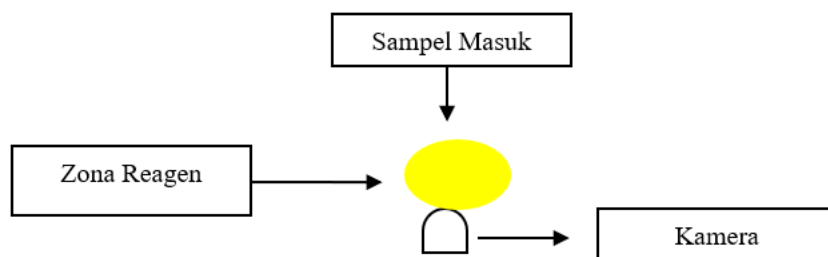
METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kreatinin, NaCl, KCl, CaCl_2 , NaOH, asam pikrat, kertas saring whatman 42, plastik laminating, aluminium foil, aquades, tissu. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas, cawan petri, pipet mikro, alat laminating, *handphone samsung* (kualitas kamera 13 megapiksel) dan pelubang kertas.

Pabrikasi Sensor

Penelitian ini diawali dengan membuat sensor berbasis kertas saring whatman no.42. Zona reaksi dibuat dengan menggunakan metode pengguntingan atau pemotongan kertas sesuai yang diinginkan^{13, 17} dimana kertas dipotong berbentuk lingkaran dengan diameter 0,6 cm. Kertas diimobilisasikan dengan NaOH 2% dan asam pikrat 0,04 M. Kertas yang telah diimobilisasikan dengan reagen dilaminating dengan plastik laminating. Salah satu sisi plastik laminating yang digunakan terlebih dahulu dilubangi sebagai zona injeksi sampel. Berikut gambar desain sensor kertas:



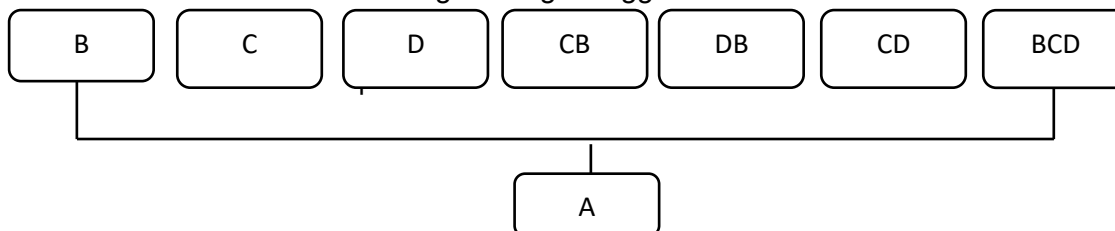
Gambar 9. Desain sensor kertas

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pada tahap pembuatan kurva kalibrasi, sensor kertas diuji linearitasnya terhadap hukum Lambert Beer. Larutan standar kreatinin dengan variasi konsentrasi 60 ppm; 80 ppm; 100 ppm; 120 ppm; dan 140 ppm, masing-masing ditetaskan pada sensor berbasis kertas, dideteksi perubahan warnanya menggunakan *smartphone* lalu intensitas warna yang tampak diukur menggunakan aplikasi *Microsoft Visual c# 2010 Express*. Pada tahap ini dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Uji Pengaruh Ion Na^+ , K^+ dan Ca^{2+} dan Variasi konsentrasinya Terhadap Selektifitas Sensor Kertas

Selektifitas sensor kertas diuji dengan menambahkan senyawa-senyawa interferensi (pengganggu) kedalam larutan kreatinin 114 ppm (kadar normal dalam urin). Pada penelitian ini yang dianggap sebagai pengganggu adalah natrium, kalium dan kalsium. Ketiga zat pengganggu dibuat dengan 5 variasi konsentrasi dimana dua konsentrasi menunjukkan konsentrasi dibawah kadar normal, satu pada batas normal dan dua diatas kadar normal. Pada tahap ini, tiap variasi konsentrasi pengganggu dilakukan dengan pengulangan lima kali (dibuat dalam Rancangan Acak Lengkap). Selanjutnya diukur kadar kreatinin masing-masing menggunakan sensor berbasis kertas. Perubahan warna yang dihasilkan dideteksi menggunakan *smartphone* sebagai detektor lalu diukur intensitas masing-masing menggunakan *Microsoft Visual c# 2010 Express*.



Gambar 10 . Prosedur penambahan zat pengganggu (natrium, kalium, kalsium) dan kombinasinyapada kreatinin 114 ppm

Keterangan : A = Kreatinin 114 ppm

B = Natrium

C = Kalium

D = Kalsium

CB = Kalium + Natrium

DB = Kalsium + Natrium

CD = Kalium + Kalsium

BCD = Natrium + Kalium + Kalsium

- Natrium : 153 ppm, 613 ppm, 2760 ppm, 3833 ppm, dan 4600 ppm

- Kalium : 260 ppm, 1040 ppm; 1560 ppm; 2600 ppm; dan 3900 ppm

- Kalsium : 53 ppm, 100 ppm; 200 ppm dan 346 ppm

Pada Gambar 10 pada masing-masing pengganggu A,B,C,D dan kombinasi pengganggu CB, DB, CD, BCD ditambahkan pada kreatinin 114 ppm. Masing-masing konsentrasi pengganggu dan kombinasi pengganggu dibuat variasi konsentrasi sesuai dengan kadar normal natrium,



kalium dan kalsium didalam urin normal manusia yaitu: Na: 2750 ppm; K: 1500 ppm; dan Ca: 200 ppm¹⁴.

Analisis Data

Hasil pengukuran pengaruh konsentrasi pengganggu (natrium, kalium dan kalsium) serta kombinasinya pada penentuan kreatinin 114 ppm, dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi pengganggu (natrium, kalsium dan kalsium) dan kombinasi pengganggu terhadap intensitas merah pada penentuan kreatinin 114 ppm

Perlakuan	Ulangan					Total
	1	2	3	4	5	
1	Y1.1	Y2.1	Y3.1	Y4.1	Y5.1	
2	Y1.2	Y2.2	Y3.2	Y4.2	Y5.2	
3	Y1.3	Y2.3	Y3.3	Y4.3	Y5.3	
4	Y1.4	Y2.4	Y3.4	Y4.4	Y5.4	
5	Y1.5	Y2.5	Y3.5	Y4.5	Y5.5	
Total						Y....

Validasi Metode

Uji validasi metode analisis pengaruh pengganggu (natrium, kalium dan kalsium) pada pengukuran kreatinin menggunakan sensor berbasis kertas dilakukan dengan cara menentukan nilai presisi dan akurasi.

Uji Presisi

Uji presisi dilakukan dengan mengukur konsentrasi kreatinin 114 ppm yang ditambahkan pada zat pengganggu (natrium, kalium dan kalsium). Pengukuran dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan untuk membandingkan kedekatan tiap pengulangan.

Untuk memperoleh nilai presisi digunakan persamaan :

$$\% \text{ RSD} = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

Dengan S : Standar Deviasi; \bar{x} : Mean (rata-rata) RSD: Relative StandartDeviation

Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui kedekatan nilai konsentrasi kreatinin yang terukur dengan nilai kreatinin yang sebenarnya. Dengan memperoleh kurva standar kalibrasi suatu pengukuran maka dapat diambil salah satu titik dari sebaran pengukuran standar untuk diukur dan kemudian dibandingkan dengan nilai sebenarnya pada pengukuran standar.

Nilai akurasi ditentukan dengan persamaan :

$$\% \text{ Error} = \frac{C_s - C_t}{C_s} \times 100\%$$

Dengan: C_t = konsentrasi hasil pengukuran C_s = konsentrasi sebenarnya