

SEQUENTIAL INJECTION-FLOW REVERSAL MIXING (SI-FRM) UNTUK PENENTUAN KREATININ DALAM URIN

A Sabarudin, ERN Wulandari, H Sulistyarti

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Indonesia

Laboratorium Kimia Analitik, FMIPA, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran 65145, Malang

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima 28 Juli 2012
Disetujui 30 Agustus 2012
Dipublikasikan Oktober 2012

Keywords:
creatinine
flow reversal mixing
sequential injection
urine

Abstrak

Jumlah kreatinin yang diekskresikan melalui urin menunjukkan keadaan ginjal seseorang. Dalam penelitian ini, dikembangkan metode untuk penentuan kreatinin secara otomatis yaitu *sequential injection-flow reversal mixing* (SI-FRM). Pendeteksian kreatinin didasarkan pada pembentukan senyawa berwarna (merah-oranye) yang dihasilkan dari reaksi antara kreatinin dan asam pikrat dalam suasana basa dan diukur pada panjang gelombang 530 nm. Reaksi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat dilakukan melalui pembentukan segmen antara sampel dan reagen di *holding coil* dan selanjutnya dilakukan proses *flow reversal* di *mixing coil*. Parameter-parameter yang mempengaruhi metode ini diuji secara detail. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum pengukuran kreatinin yaitu menggunakan konsentrasi asam pikrat 0,035 M dan NaOH 3,5%, laju alir *flow reversal* 5 $\mu\text{L}/\text{detik}$, laju alir produk reaksi 20 $\mu\text{L}/\text{detik}$, jumlah *flow reversal* empat kali dan menggunakan tiga segmen (pikrat-kreatinin-pikrat) dengan masing-masing volume segmen 100 μL . Metode SI-FRM ini telah diaplikasikan langsung untuk penentuan kadar kreatinin dalam urin dengan limit deteksi 1,7 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Abstract

The amount of creatinine excreted in urine indicates kidney condition. In this experiment, the automatic determination method of determining creatinine was developed by using *sequential injection-flow reversal mixing* (SI-FRM). The detection of creatinine is based on the formation of a colored product (red-orange) yielded from the reaction of creatinine with picric acid at alkaline medium. The absorbance is measured at wavelength of 530 nm. The formation of creatinine-picric acid complex is performed through the segment formation between sample and reagent in the holding coil and then flow reversal process in the mixing coil of SI-FRM. Several parameters affecting to this method are investigated in detail. The results show that the optimum concentrations of picric acid and NaOH are 0.035 M and 3.5%, respectively. Other optimized conditions, such as the flow reversal rate of three $5 \mu\text{L}/\text{s}$, flow rate of product of 20 $\mu\text{L}/\text{s}$, amount of flow reversal process of four times, and segment amount of three (picric acid-creatinine-picric acid) with each volume of 100 μL , were obtained. This method is successfully applied to the determination of creatinine in urine with the detection limit of 1.7 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Pendahuluan

Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatin yang dikeluarkan melalui ginjal. Konsentrasi kreatinin yang terkandung di dalam urin merupakan petunjuk penting terhadap kerusakan ginjal, *diabetic nephropathy* dan laju filtrasi glomerular ginjal (Khan & Wernet 1997). Kreatinin dibentuk oleh tubuh dari pemecahan senyawa kreatin dan fosfokreatin dimana jumlah kreatinin sekitar 2% dari total kreatin (Garcia & Henry 2004).

Penentuan kreatinin dapat dilakukan dengan menggunakan enzim kreatinin deiminase untuk mengkonversi kreatinin menjadi amonia dan *1-methylhydantoin*. Selanjutnya amonia di reaksi dengan *cresol red (2-(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperzinyl) ethanesulfonic acid)* dan dideteksi secara spektrometri pada panjang gelombang 555 nm (Yoshiwara *et al.* 2005). Metode enzimatik ini memberikan hasil yang selektif walaupun memerlukan waktu analisis yang lama, dan sensitivitasnya kurang baik karena kreatinin dideteksi secara tidak langsung berdasarkan jumlah amonia yang terbentuk. Di samping itu juga, konsentrasi bilirubin yang tinggi dalam sampel merupakan masalah tersendiri dalam metode enzimatik.

Penentuan kreatinin dalam urine dan serum menggunakan kromatografi kinerja tinggi (KCKT) telah diteliti oleh Harmoinen *et al.* (1991) dan Tsai dan Syu (2005). Dalam metode ini kolom penukar kation (LichroCART®RP-18 column) digunakan untuk memisahkan kreatinin dari senyawa lainnya dalam *isocratic buffer system*. Kreatinin dideteksi secara spektrofotometri pada 234 nm. Pada umumnya metode KCKT memerlukan *complicated assay system* dalam pelaksanaannya. Hal yang sama juga dilakukan oleh Johns *et al.* (2001) yang mengembangkan metode isokratik KCKT menggunakan kolom *silica-based strong cation-exchange* (CS103-10 SynChropak) dan matrik 5 mM litium asetat pada pH 4.9. Pada metode ini, preparasi sampel melalui serangkaian perlakuan yang rumit yaitu deproteinasi dengan asetonitril, evaporasi, dan pelarutan kembali dalam fase gerak yang diikuti dengan kuantisasi menggunakan deteksi UV pada 234 nm. Metode elektrokimia juga dapat digunakan untuk mendeteksi kreatinin. Misalnya amperometri biosensor yang didasarkan pada metode enzimatik. Metode ini mencakup tiga tahapan proses yaitu konversi kreatinin menjadi kreatin,

kreatin menjadi *sarcosine*, *sarcosine* menjadi *glycine* dan H_2O_2 . Peroksida yang terbentuk inilah yang kemudian dijadikan acuan untuk menentukan kreatinin secara elektrokimia. Tiga tahapan proses konversi di atas menunjukkan kekompleksan dan sensitivitas yang rendah untuk sistem amperometri (Stefan *et al.* 2003).

Reaksi Jaffe merupakan metode yang paling populer untuk penentuan kreatinin dalam urin dan serum. Dalam metode ini, kreatinin direaksikan dengan asam pikrat pada suasana basa yang membentuk senyawa berwarna merah-oranye dan dideteksi secara spektrofotometri pada panjang gelombang 490-520 nm (Staden 1983). Keuntungan reaksi Jaffe yaitu sederhana dan mudah. Namun karena dilakukan dengan metode *batch*, maka jumlah sampel dan reagen yang digunakan sangat banyak sehingga pembentukan senyawa kreatinin-pikrat memerlukan waktu yang cukup lama yaitu sekitar 30 menit. Selain itu, kontaminasi yang besar dari lingkungan dapat terjadi pada metode *batch* sehingga memerlukan pengontrolan yang ketat. Metode ini memiliki sensitivitas yang rendah dengan limit deteksi sebesar 0,2 M (Faria & Pasquini 1992). Untuk mengatasi hal ini, dapat digunakan metode *on-line* dan otomatis yaitu *sequential injection analysis* (SIA). Sistem ini dikontrol dengan komputer dan biasanya terdiri dari *syringe pump*, *holding coil*, katup multiposisi, dan detektor. Semua komponen tersebut dihubungkan satu sama lain menggunakan pipa kapiler PTFE. Operasional sistem ini diawali dengan pembentukan segmen-segmen antara reagen dan sampel di *holding coil* yang selanjutnya didispensikan menuju sel alir (*flow cell*) detektor. SIA ini hanya memerlukan jumlah reagen yang sangat sedikit, analisis secara cepat dan otomatis, serta menghasilkan limbah yang jumlahnya sedikit sehingga analisis menggunakan metode ini akan menghemat pemakaian reagen dan lebih bersahabat dengan lingkungan (Ruzicka & Marshall 1990). Akan tetapi, pembentukan segmen di *holding coil* mengurangi keefektifan/kesempurnaan reaksi antara sampel dan reagen yang mengakibatkan sensitivitas yang rendah.

Atas dasar hal tersebut di atas, maka dalam penelitian ini dikembangkan suatu sistem yang disebut dengan *Sequential Injection-Flow Reversal Mixing* (SI-FRM). Sistem ini merupakan modifikasi dari SIA dengan menempatkan *mixing coil* pada katup multiposisi (*multiposition valve/selection valve*) sebagai tempat berlangsungnya *flow reversal*. Segmen-segmen

antara reagen dan sampel di *holding coil* akan dialirkan secara berulang-ulang menuju *mixing coil* secara otomatis (*flow reversal*) sehingga diperoleh hasil reaksi yang sempurna dan memberikan sensitivitas yang tinggi ketika dialirkan menuju detektor. Beberapa parameter yang mempengaruhi metode ini dilakukan optimisasi yang mencakup konsentrasi asam pikrat dan NaOH, laju alir *flow reversal*, laju alir produk reaksi ke detektor, jumlah *flow reversal*, volume dan jumlah segmen di *holding coil*. Untuk keseluruhan proses, kreatinin dapat dideteksi dalam waktu 5 menit secara *on-line* dan otomatis dengan hanya membutuhkan 200 L reagen dan 100 L sampel.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitis Mettler, pipet mikro 1 mL dan 5 mL (*Eppendorf*), *Laboratory-made SI-FRM system* yang terdiri dari *syringe pump* (SP; Hamilton, Reno, Nevada, USA) dengan volume 2,5 mL, delapan katup *selection valve* (SV; Hamilton, Reno, Nevada, USA), *mixing coil* (PTFE tubing, 1.0 mm i.d x 1 m) dan detektor kolorimeter *Red-Green-Blue Light-Emitting Diode* (RGB-LED) yang seluruhnya dikontrol melalui komputer menggunakan *home-made software* berbasis *Visual Basic Program*. Semua pipa kapiler yang digunakan terbuat dari PTFE dengan *inner diameter* (i.d) 0.75 mm, kecuali untuk *holding coil* (1.8 mm i.d). SI-FRM sistem ini sebenarnya merupakan modifikasi dari sistem yang telah dibuat oleh penulis dalam penelitian sebelumnya (Sabarudin *et al.* 2006 & 2007). Adapun *portable* kolorimeter RGB-LED dibuat

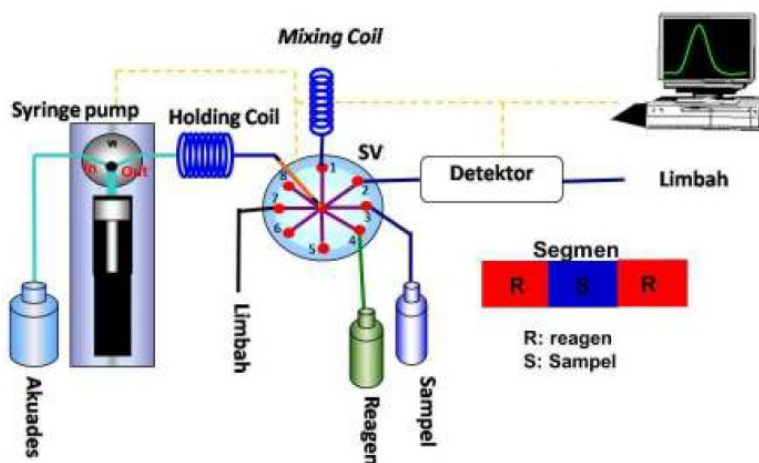
laboratorium berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suzuki *et al.* (2004 & 2005).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia pro analisis (p.a) antara lain natrium hidroksida, asam pikrat, kreatinin, kreatin (Sigma-Aldrich, Jerman), kecuali urin dan akuades.

Prosedur operasional SI-FRM untuk penentuan kreatinin secara *on-line* dan otomatis ditunjukkan pada Gambar 1.

Tahap pertama adalah pencucian pipa kapiler (*line*) dan *detector*. Sebelum SI-FRM digunakan untuk penentuan kreatinin, maka semua *line* dan *flow cell detector* harus dicuci terlebih dahulu dengan akuades dengan cara sebagai berikut: *syringe pump* (SP) berada pada posisi *in* dan mengambil 2500 uL akuades dengan laju alir 200 uL/detik. Selanjutnya SP diubah ke posisi *out* untuk mengalirkan akuades menuju *holding coil* (HC) dan *selection valve* (SV) pada semua *line* yang digunakan (*port* 3, 4, dan 7) dengan volume masing-masing 500 uL dan laju alir 50 uL/detik. Sisa akuades dialirkan menuju detektor pada *port* 2 dengan laju alir 30 uL/detik.

Tahap kedua adalah tahap pengisian *line*. Pada tahap ini dilakukan pengaliran larutan sampel kreatinin dan reagen yang berupa campuran asam pikrat dengan NaOH ke dalam *line* dengan cara SP berada pada posisi *out* dan mengambil 500 uL kreatinin dengan laju alir 50 uL/detik untuk mengisi *line* pada *port* 3, selanjutnya SP mengambil 500 uL reagen (pikrat-NaOH) dengan kecepatan 50 uL/detik untuk mengisi *line* pada *port* 4. Kelebihan larutan kreatinin dan reagen yang terdapat di HC dibuang melalui *port* 7 dengan cara mendorongnya menggunakan akuades.



Gambar 1. Skema SI-FRM untuk penentuan kreatinin

Tahap ketiga adalah tahap pendeteksian kreatinin. Dalam tahap ini, SP berada pada posisi *out* dan mengambil 100 uL reagen (campuran asam pikrat dengan NaOH) untuk dialirkan menuju HC melalui SL *port* 4 dengan laju alir 50 uL/detik, kemudian SP mengambil lagi 100 uL larutan sampel (kreatinin/urin) untuk dialirkan menuju HC melalui SL *port* 3 dengan laju alir 100 uL/detik. Reagen diambil lagi melalui *port* 4 dengan jumlah yang sama dengan sebelumnya sehingga pada HC akan terbentuk tiga segmen yaitu reagen-sampel-reagen. Selanjutnya segmen larutan tersebut dialirkan menuju SL *port* 1 yang terdapat *mixing coil* (MC) untuk dilakukan proses *flow reversal* (segmen bergerak maju-mundur dari HC ke MC sebanyak 4 kali ulangan). Setelah semua reagen tercampur maka produk yang dihasilkan dideteksi secara *on-line* dengan menggunakan kolorimeter RGB-LED dengan cara mengalirkannya melalui SL *port* 2 dan akan terdeteksi grafik (*flow signal*) yang memberikan informasi absorbansi kreatinin-pikrat.

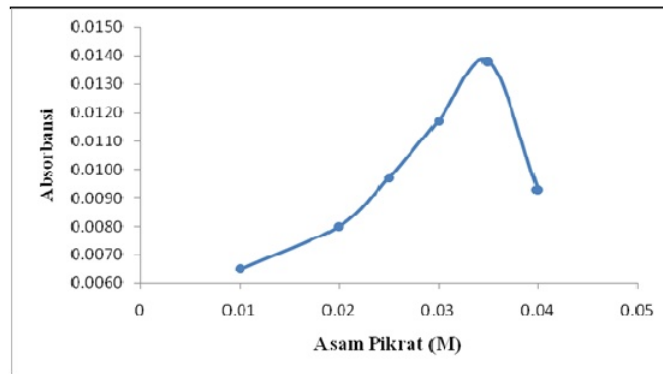
Prosedur yang sama juga dilakukan untuk pengujian parameter-parameter yang meliputi variasi laju alir *flow reversal*, laju alir optimum produk ke detektor, banyaknya pengulangan *flow reversal*, volume dan jumlah segmen optimum, dan konsentrasi NaOH .

Hasil dan Pembahasan

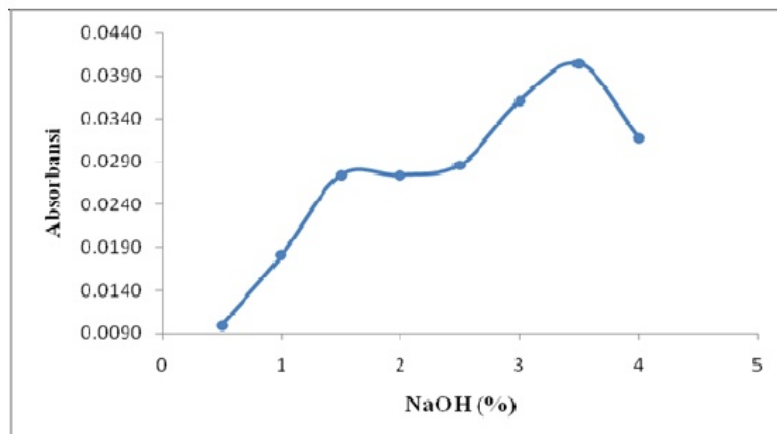
Optimasi Parameter Kimia

Parameter kimia yang dioptimasi pada penelitian ini adalah konsentrasi asam pikrat dan konsentrasi NaOH.

Dari Gambar 2 diketahui bahwa dengan meningkatnya konsentrasi asam pikrat maka absorbansi senyawa kreatinin-pikrat yang terukur juga meningkat, dan mencapai optimum pada konsentrasi asam pikrat 0,035 M. Absorbansi cenderung menurun ketika konsentrasi asam pikrat di atas 0,035 M karena pembentukan endapan natrium-pikrat. Endapan ini terjadi karena kelebihan dari



Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi asam pikrat dengan absorbansi kreatinin-pikrat. Kondisi: konsentrasi kreatinin 50 ug/ g, konsentrasi NaOH 1 %, laju alir *flow reversal* 5 uL/ detik, laju alir produk ke detektor 20 uL/ detik, jumlah *flow reversal* 4 kali, tiga segmen (reagen-sampel-reagen) masing-masing 100 uL.



Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi NaOH dengan absorbansi kreatinin-pikrat. Kondisi: konsentrasi asam pikrat 0,03 M, kondisi yang lain sama seperti pada Gambar 2.

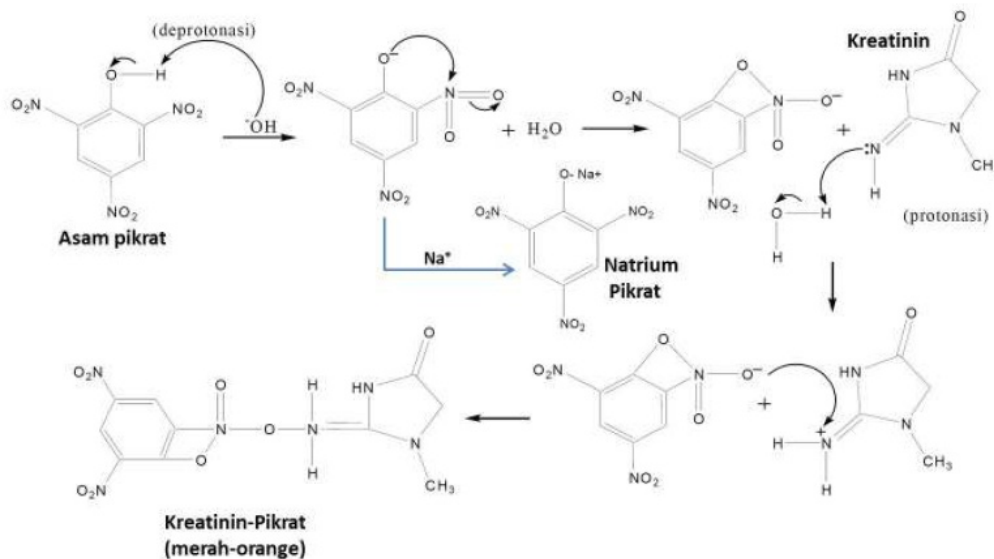
deprotonasi asam pikrat yang bermuatan negatif tidak lagi bereaksi dengan kreatinin melainkan bereaksi dengan Na^+ dari NaOH.

Pengaruh konsentrasi NaOH terhadap absorbansi senyawa kreatinin-pikrat ditunjukkan pada Gambar 3.

Dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi NaOH maka senyawa kreatinin-pikrat yang terbentuk juga semakin banyak. Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan nilai absorbansi yang terukur. Konsentrasi NaOH 3,5% merupakan konsentrasi optimum yang menghasilkan absorbansi paling besar karena pada kondisi ini suasana basa yang dihasilkan paling sesuai dengan suasana pembentukan senyawa kreatinin-pikrat. Pada konsentrasi NaOH lebih rendah dari optimum menyebabkan nilai absorbansi yang terukur juga rendah karena

suasana pembentukan senyawa kreatinin-pikrat tidak sesuai sehingga senyawa tersebut tidak terbentuk. Pada konsentrasi yang lebih besar dari nilai optimum menyebabkan absorbansi senyawa kreatinin-pikrat juga rendah karena akan terbentuk endapan berupa natrium-pikrat yang dapat menyebabkan sensitivitas pengukuran menjadi rendah.

Pada reaksi antara asam pikrat dan kreatinin dalam suasana alkali, asam pikrat akan mengalami deprotonasi dan bermuatan negatif yang selanjutnya bereaksi lebih lanjut dengan kreatinin membentuk senyawa berwarna merah-oranye. Namun, jika terjadi kelebihan asam pikrat dan NaOH maka deprotonasi asam pikrat yang berlebih (bermuatan negatif) akan bereaksi dengan Na^+ membentuk endapan natrium nitrat (Gambar 4).



Gambar 4. Reaksi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat dan natrium pikrat

Optimasi Parameter Fisik

Parameter fisika yang digunakan yaitu laju alir *flow reversal*, laju alir produk ke detektor, banyaknya pengulangan *flow reversal*, volume, dan jumlah segmen optimum. Parameter-parameter ini dioptimasi agar mendapatkan kondisi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat yang sangat baik.

Pada penentuan laju alir *flow reversal optimum* diperoleh kondisi optimum yaitu pada laju alir 5 $\mu\text{L}/\text{s}$. Semakin lambat laju alir *flow reversal* yang digunakan maka reaksi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat semakin sempurna sehingga serapan yang terbaca juga semakin tinggi.

Kedua keadaan optimum dari laju alir produk reaksi (kreatinin-pikrat) ke detektor yaitu pada 20 $\mu\text{L}/\text{s}$. Apabila laju alir ke detektor terlalu lambat maka akan terjadi dispersi produk ke dalam *carrier*. Semakin besar dispersi maka semakin besar pula terjadinya pengenceran produk reaksi yang mengakibatkan terjadinya penurunan konsentrasi senyawa kreatinin-pikrat dan absorbansi yang dideteksi oleh detektor menjadi semakin kecil.

Jumlah *flow reversal optimum* adalah 4 kali. Pada variasi jumlah *flow reversal* sebanyak 3 kali diperoleh absorbansi yang kecil karena dengan sedikitnya jumlah proses ini menyebabkan senyawa kreatinin-pikrat belum

terbentuk dengan baik sehingga absorbansi yang terbaca akan menjadi rendah. Sedangkan untuk variasi jumlah *flow reversal* yang lebih banyak akan menyebabkan absorbansi yang terukur juga rendah karena terjadi dispersi senyawa kreatinin-pikrat yang terbentuk ke dalam *carrier* yang ada pada saluran pereaksi (pipa kapiler) dalam alat SI-FRM.

Jumlah segmen optimum yaitu tiga segmen. Segmen ini terdiri atas *reagen-sampel-reagen*. Volume segmen optimum akan memberikan nilai absorbansi yang paling tinggi

yaitu 100 μL . Dengan adanya penggunaan volume yang lebih besar dari kondisi optimum maka senyawa kreatinin-pikrat belum terbentuk karena waktu kontak antara sampel dan reagen tetap sehingga absorbansi yang diperoleh akan menjadi kecil. Sedangkan pada penggunaan volume yang lebih kecil menyebabkan absorbansi juga kecil karena jumlah sampel dan reagen yang kontak untuk membentuk senyawa kreatinin-pikrat semakin sedikit jumlahnya. Hasil optimasi parameter kimia dan fisik dirangkum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Optimasi parameter penentuan kreatinin menggunakan SI-FRM

No	Optimasi Parameter	Kisaran Pengujian	Kondisi Optimum
1.	Penentuan konsentrasi asam pikrat	0,01 - 0,04 M	0,035 M
2.	Penentuan konsentrasi NaOH	0,5 - 4 %	3,5 %
3.	Penentuan laju alir <i>flow reversal</i>	5 $\mu\text{L/s}$ - 25 $\mu\text{L/s}$	5 $\mu\text{L/s}$
4.	Penentuan laju alir produk ke detektor	10 $\mu\text{L/s}$ - 30 $\mu\text{L/s}$	20 $\mu\text{L/s}$
5.	Penentuan jumlah <i>flow reversal</i>	3-6 kali	4 kali
6.	Penentuan volume dan banyaknya segmen	2-3segmen 25 μL - 125 μL	3 segmen 100 μL 5 menit
7.	Kecepatan analisis	-	(12 sampel/jam)

Tabel 1. Hasil pengukuran kreatinin dalam sampel urin

No	Urin	Konsentrasi kreatinin ditambahkan ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi pengukuran ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (%)
1.	Urin 1	-	615,0 \pm 0,5	99,8
		500	1113,9 \pm 0,8	
2.	Urin 2	-	742,8 \pm 2,0	99,6
		500	1239,6 \pm 1,6	
3.	Urin 3	-	640,9 \pm 3,3	99,2
		500	1135,6 \pm 2,4	
4.	Urin 4	-	831,7 \pm 0,4	97,2
		500	1308,2 \pm 3,5	

Perbandingan Deteksi Kreatinin dengan dan Tanpa Flow Reversal

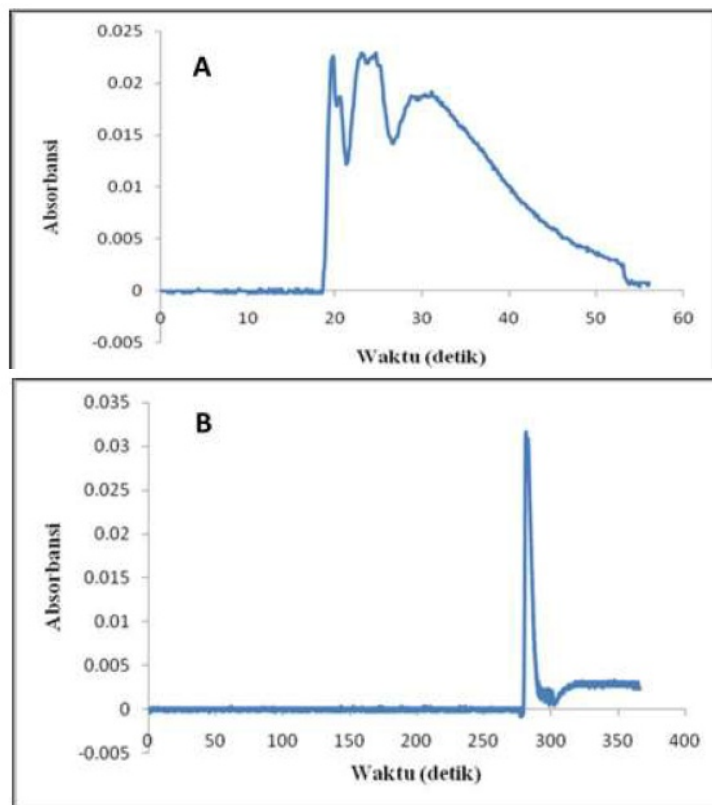
Metode yang digunakan untuk mendeteksi kreatinin dalam penelitian ini yaitu *sequential injection analysis* yang dilengkapi dengan menggunakan proses *flow reversal* (SI-FRM). Proses ini dimaksudkan untuk membantu penyempurnaan reaksi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat sehingga absorbansi yang terbaca oleh detektor menghasilkan satu puncak yang paling tinggi (maksimum). Dengan adanya satu puncak tertinggi maka hasil pengukuran menjadi lebih akurat. *Flow signal* yang diperoleh tanpa menggunakan proses *flow reversal* ditunjukkan oleh Gambar 5 (A) sedangkan yang melalui proses *flow reversal* ditunjukkan oleh Gambar 5 (B).

Dari Gambar 5 dapat diketahui bahwa

dengan tidak dilakukannya proses *flow reversal* maka puncak yang dihasilkan banyak sehingga menyulitkan pengambilan nilai optimum dari absorbansi kreatinin tersebut. Hal ini dikarenakan tidak terbentuknya senyawa kreatinin-pikrat secara sempurna karena segmen antara sampel dan reagen tidak bercampur atau bereaksi dengan baik yang dapat dilihat dari terbentuknya *carrier* yang banyak. Jadi dapat dikatakan bahwa proses *flow reversal* (Gambar 5 B) menguntungkan apabila dilakukan karena membantu proses penyempurnaan reaksi pembentukan senyawa kreatinin-pikrat sehingga hasil absorbansi yang diperoleh menghasilkan pola yang teratur dengan satu puncak saja walaupun waktu analisis menjadi lebih lama.

Kurva Kalibrasi Kreatinin

Kurva kalibrasi dibuat dengan cara mengukur variasi konsentrasi kreatinin



Gambar 5. *Flow Signal* kreatinin-pikrat tanpa (A) dan dengan (B) menggunakan proses *flow reversal*

menggunakan kondisi optimum pada parameter kimia maupun fisik. Kurva kalibrasi kreatinin yang diperoleh dengan metode SI-FRM ditunjukkan pada Gambar 6.

Dari kurva kalibrasi tersebut dapat diketahui bahwa persamaan regresi liniernya yaitu $Y = 0,00054X + 0,01163$ dengan koefisien korelasi $R^2 = 0,999$. Limit deteksi yang dihitung berdasarkan *signal-to-noise* ($S/N = 3$) adalah $1,7 \mu\text{g/g}$.

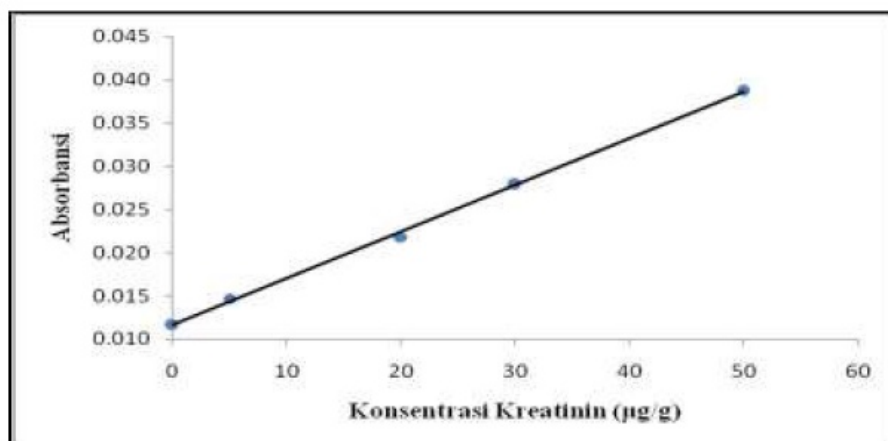
Aplikasi SI-FRM untuk Penentuan Kreatinin dalam Urin

Sampel urin diencerkan 30 kali menggunakan akuades sebelum digunakan. Pengenceran ini dimaksudkan untuk mengurangi gangguan zat lain yang terkandung dalam urin pada saat penentuan kadar kreatinin. Sampel urin berasal dari sukarelawan mahasiswa Universitas Brawijaya kemudian diukur dengan menggunakan SI-FRM sesuai prosedur 2.3 pada semua kondisi optimum. Hasil pengukuran konsentrasi kreatinin disajikan pada Tabel 2. Kadar kreatinin yang diperoleh berbeda-beda dikarenakan berbagai faktor misalnya jenis kelamin, berat badan, pola makan atau kebiasaan hidup sehari-hari, dan sebagainya. Kadar kreatinin dalam semua

sampel urin masih berada dalam batas normal. Dari hasil uji penentuan kreatinin dalam urin dengan menggunakan SI-FRM di atas, maka metode ini dapat direkomendasikan sebagai metode alternatif penentuan kadar kreatinin dengan beberapa keuntungan yaitu kecepatan analisis 5 min/sampel, penggunaan sedikit larutan (total volume larutan reagen dan sampel yaitu $300 \mu\text{L}$) dan metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi kadar kreatinin dengan konsentrasi yang sangat rendah (sensitivitas tinggi). Nilai *recovery* yang berada pada kisaran 97,2–99,8% dari *spiked* sampel menunjukkan bahwa metode ini mempunyai akurasi yang tinggi.

Penutup

Kondisi optimum pembentukan senyawa kreatinin-pikrat menggunakan SI-FRM tercapai pada konsentrasi asam pikrat $0,035 \text{ M}$, konsentrasi NaOH 3,5%, laju alir *flow reversal* $5 \mu\text{L/detik}$, laju alir produk ke detektor $20 \mu\text{L/detik}$, jumlah *flow reversal* 4x, tiga segmen (reagen-sampel-reagen) masing-masing dengan volume $100 \mu\text{L}$. Penentuan kreatinin dalam urin menggunakan SI-FRM dapat memberikan hasil



Gambar 6. Kurva kalibrasi kreatinin. Kondisi pengukuran merupakan kondisi optimum sebagaimana tercantum pada Tabel 1.

dengan akurasi dan ketelitian yang tinggi. Metode ini juga memiliki sensitivitas yang baik dengan LOD sebesar 1,7 5,69 µg/ g serta waktu analisis yang relatif cepat yaitu 5 menit/ sampel.

Daftar Pustaka

- Faria LC & Pasquini C. 1992. Spectrophotometric determination of creatinine by monosegmented continuous-flow analysis. *J Autom Chem* 14: 97-100.
- Garcia CD & Henry CS. 2004. Direct detection of renal function markers using microchip CE with pulsed electrochemical detection. *Analyst* 129: 579-584.
- Harmoinen A, Sillanaukee P & Jokela H. 1991. Determination of creatinine in serum and urine by cation-exchange high-pressure liquid chromatography. *Clin Chem* 37: 563-565.
- Johns BA, Broten T, Stranieri MT, Holahan MA & Cook JJ. 2001. Simple high-performance liquid chromatographic method to analyze serum creatinine has several advantages over the Jaffe picric acid reaction as demonstrated with a cimetidine dose response in rhesus monkeys. *J Chromatogr B* 759: 343-348.
- Khan GF & Wernet W. 1997. A highly sensitive amperometric creatinine sensor. *Anal Chim Acta* 351: 151-158.
- Ruzicka J & Marshall GD. 1990. Sequential Injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal Chim Acta* 237: 329-343.
- Sabarudin A, Lenghor N, Liping Y, Furusho Y & Motomizu S. 2006. Automated online preconcentration system for the determination of trace amounts of lead using Pb-selective resin and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Spectrosc Lett* 39: 669-682.
- Sabarudin A, Lenghor N, Oshima M, Hakim L, Takayanagi T, Gao YH & Motomizu S. 2007. Sequential-injection on-line preconcentration using chitosan resin functionalized with 2-amino-5-hydroxy benzoic acid for the determination of trace elements in environmental water samples by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Talanta* 72: 1609-1617.
- Staden JF. 1983. Determination of creatinine in urine and serum by flow-injection analysis using the Jaffe reaction. *Fresen Z Anal Chem* 315: 141-144.
- Stefan RI, Bokretsiou RG, Staden JF, Aboul-enein HY. 2003. Simultaneous determination of creatine and creatinine using amperometric biosensors. *Talanta* 60: 1223-1228.
- Suzuki Y, Aruga T, Kuwahara H, Kitamura M, Kuwabara T, Kawakubo S & Iwatsuki M. 2004. A simple and portable colorimeter using a red-green-blue light-emitting diode and its application to the on-site determination of nitrite and iron in river-water. *Anal Sci* 20: 975-977.
- Suzuki Y, Ito Y, Fukusawa T, Kawakubo S & Iwatsuki M. 2005. Development of compact photometric titrator and absorptiometric detector for flow-injection analysis using light-emitting diode as light source. *Bunseki Kagaku* 54: 291-295.
- Tsai HA & Syu MJ. 2005. Synthesis of creatinine-imprinted poly (α-cyclodextrin) for the specific binding of creatinine. *Biomaterials* 26: 2759-2766.
- Yoshiwara M, Sakuragawa A & Matsushashi A. 2005. Determination of creatinine by flow injection analysis using creatinine deiminase. *Bunseki Kagaku* 54: 1205-1210.