

PENGARUH KONSENTRASI ASAM PIKRAT PADA PENENTUAN KREATININ MENGUNAKAN *SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS*

Arfidyaninggar Septia Rinda

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145*

Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
Email: arfidyarinda@gmail.com

ABSTRAK

Analisis kreatinin dalam urin merupakan hal yang penting untuk memantau keadaan ginjal. Pendeteksian kreatinin didasarkan pada reaksi Jaffe yaitu reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana alkali. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam pikrat terhadap absorbansi senyawa kreatinin-pikrat yang terbentuk. Penentuan kreatinin diukur dengan metode *sequential injection analysis-valve mixing* dengan variasi konsentrasi 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030 M. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asam pikrat 0,020 M dipilih sebagai *compromise concentration* untuk kondisi optimum.

Kata kunci : asam pikrat, kreatinin, reaksi Jaffe, *sequential injection analysis-valve mixing*.

ABSTRACT

Analysis of creatinine in the urine is important to monitor renal circumstances. Creatinine detection based on Jaffe's reaction is the reaction between creatinine and picric acid in alkaline medium. This study aims to determine the effect of picric acid concentration to absorbance of creatinine-picric compounds are formed. Determination of creatinine was measured by sequential injection analysis-valve mixing with a variation of the concentration is 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030 M. The results showed that the picric acid concentration of 0.020 M is selected as a compromise concentration for optimum conditions.

Keywords : picric acid, creatinine, Jaffe's reaction, sequential injection analysis-valve mixing.

PENDAHULUAN

Kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatin. Sekitar 1,5% dari kreatin total didegradasi menjadi kreatinin melalui dehidrasi nonenzimatis setiap hari dan diekskresikan dari tubuh melalui filtrasi glomerular. Sehingga secara klinis ekskresi kreatinin pada urin dikaitkan dengan laju filtrasi glomerular ginjal, diabetes nefropati, dan penyakit ginjal lainnya [1,2].

Metode penentuan kreatinin yang paling banyak digunakan adalah dengan reaksi Jaffe [2]. Reaksi Jaffe adalah reaksi antara kreatinin dan asam pikrat pada suasana basa untuk membentuk senyawa berwarna oranye-merah. Untuk membuat suasana basa biasanya digunakan natrium hidroksida [3-5]. Reaksi Jaffe pernah diaplikasikan oleh Istanti [6] dan Wulandari [7] dalam penentuan kreatinin menggunakan *Sequential Injection Analysis* (SIA) untuk mengatasi kelemahan metode *batch*. Pada kedua penelitian tersebut reagen yang berupa

asam pikrat dan NaOH direaksikan terlebih dahulu membentuk reagen Na-pikrat. Dalam waktu yang lama, pencampuran ini dapat mempercepat perusakan reagen sehingga reagen harus sering diganti baru. Hal ini akan meningkatkan penggunaan jumlah reagen yang mempengaruhi tingkat keefektifan dan keefisienan dalam analisis.

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian ini penentuan kreatinin dilakukan melalui reaksi Jaffe namun reagen asam pikrat dan NaOH ditempatkan secara terpisah untuk mengurangi kemungkinan rusaknya reagen. Pada penelitian ini digunakan suatu metode pengaplikasian dari metode SIA-*Lab-at-Valve* (SIA-LAV) yaitu *Sequential Injection-Valve Mixing* (SI-VM). Pada metode ini dibuat suatu *valve mixing* sebagai tempat terjadinya penyempurnaan reaksi dengan cara pendiaman sampel dan reagen selama jangka waktu tertentu. Hal ini diharapkan agar mempercepat proses analisis yang dilakukan namun tetap mempertahankan sensitifitas yang tinggi. Parameter kimia yang dipelajari dalam penelitian ini adalah konsentrasi asam pikrat untuk mengetahui konsentrasi optimum pada pembentukan kreatinin-pikrat menggunakan metode SI-VM.

METODA PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia pro analisis (p.a) yaitu kreatinin, asam pikrat (Sigma-Aldrich, Jerman), natrium hidroksiada (SAP chemica) kecuali akuades.

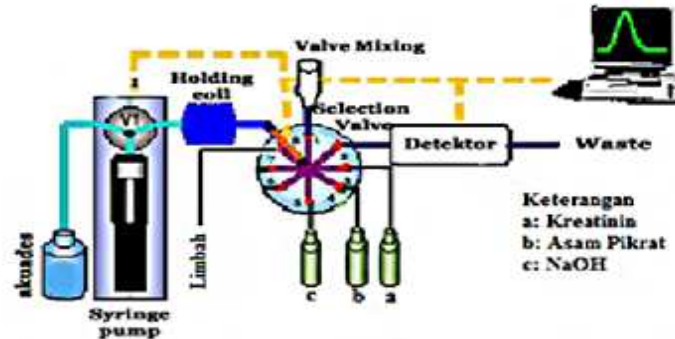
Alat – alat yang digunakan antara lain neraca analitis Mettler, *Laboratory-made SI-VM system* yang terdiri dari *syringe pump* (SP; Hamilton, Reno, Nevada, USA) dengan volume 2,5 mL, delapan katup *selection valve* (SV; Hamilton, Reno, Nevada, USA) dan detektor kolorimeter *Red-Green-Blue Light-Emitting Diode* (RGB-LED) yang dikontrol komputer menggunakan *home-made software* berbasis *Visual Basic Program*, pipa kapiler (PTFE 0,75 mm i.d), dan pipa kapiler untuk *holding coil* (PTFE 1,8 mm i.d).

Prosedur

Operasional SI-VM untuk penentuan kreatinin

Preparasi alat SI-VM dapat dibagi menjadi tiga tahap. Tahap pertama yaitu pencucian pipa kapiler (*line*), detektor dan *valve mixing* dengan menggunakan akuades. Tahap kedua adalah pengisian *line* yang akan digunakan dengan cara pengaliran larutan kreatinin, asam pikrat, dan NaOH dari masing-masing posnya seperti pada Gambar 1. Pada tahap ketiga

merupakan tahap pendeteksian kreatinin pada berbagai variasi konsentrasi asam pikrat. Hasil reaksi pada *valve mixing* dialirkan menuju RGB kolorimeter untuk mendapatkan informasi mengenai absorbansi senyawa kreatinin-pikrat yang terbentuk.

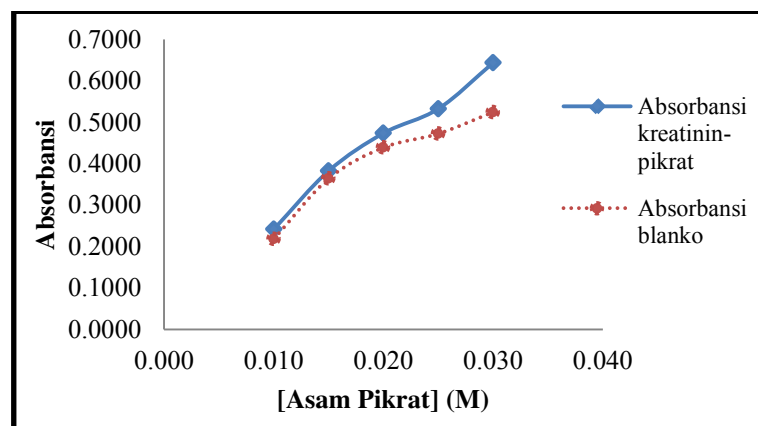


Gambar 1. Rangkaian kerja alat SI-VM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi konsentrasi asam pikrat

Dari Gambar 2. diketahui bahwa absorbansi senyawa kreatinin-pikrat dan absorbansi blanko meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam pikrat. Konsentrasi reagen yang rendah akan menghasilkan absorbansi yang rendah pula, namun semakin tinggi konsentrasi reagen, tingkat kesalahannya pun akan cukup tinggi karena adanya reaksi yang berlebih.



Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi asam pikrat dengan absorbansi. Kondisi: konsentrasi kreatinin 50 mg/L sebanyak 100 μ L, konsentrasi NaOH 3%, volume NaOH:asam pikrat 1:3 (25 μ L: 75 μ L), laju alir hasil reaksi ke detektor 30 μ L/detik, dan waktu reaksi 5 detik.

Pada saat konsentrasi asam pikrat 0,010-0,020 M, absorbansi kreatinin-pikrat meningkat secara linier ($r = 0,9924$), namun saat konsentrasi asam pikrat 0,010-0,030 M tingkat kelinierannya mulai berkurang ($r = 0,9908$) sehingga asam pikrat dengan konsentrasi 0,020 M dipilih sebagai *compromise concentration* dengan *Relative Standard Deviation* (RSD) sebesar 0,4726%. Pada konsentrasi ini juga sudah cukup baik untuk memenuhi sensitifitas sehingga tidak perlu menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi dan dapat meminimalkan penggunaan reagen. Disamping itu, pada konsentrasi ini memiliki profil puncak serapan yang cukup bagus dibandingkan dengan konsentrasi asam pikrat di bawah 0,020 M.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi optimum konsentrasi asam pikrat pada penentuan kreatinin berdasarkan reaksi Jaffe adalah pada konsentrasi 0,020 M dengan metode *Sequential Injection-Valve Mixing* (SI-VM).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Akhmad Sabarudin Dr.Sc. dan Dr. Ani Mulyasuryani, MS atas bimbingan dan saran yang diberikan kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khan G.F. dan Wernet W., 1997, A high sensitive amperometric creatinine sensor, *Anal. Chim. Acta.*, 351, pp. 151-158.
2. McClatchey K.D.(Ed.), 2002, *Clinical Laboratory Medicine*, 2nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
3. Siangproh W., Thesima N., Sakai T., Katoh S., Chailapakul O., 2009, Alternative method for measurement of albumin/creatinine ratio using spectrophotometric sequential injection analysis, *Talanta*, 79, pp.1111–1179.
4. Guterres M.V., Volpe P.O.L., Ferreira M.M.C., 2004, Multiway calibration for creatinine determination in human serum using the Jaffe reaction, *App Spectroscopy* 58(1), pp.54-60.
5. Toora B.D. dan Rajagopal G., 2002, Measurement of creatinine by Jaffe's reaction – Determination of concentration of sodium hydroxide required for maximum color development in standard, urine and protein free filtrate of serum, *Indian Journal of Experimental Biology* 40, pp.352-354.

6. Istanti Y.I., 2010, *Penentuan Kreatinin dalam Urin secara Kolorimetri dengan Sequential Injection-Flow Reversal Mixing (SI-FRM)*, Skripsi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
7. Wulandari E.R.N., 2010, *Sequential Injection-Flow Reversal Mixing (SI-FRM) untuk Penentuan Kreatinin dalam Urin*, Skripsi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.