

MEMBRAN KULIT TELUR SEBAGAI BIOSENSOR ASAM URAT SEDERHANA, STABIL, DAN RAMAH LINGKUNGAN

Ismarani

Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian UNISMA

Abstract

Utilization of eggshell membrane as a biosensor being developed by several research because it has many advantages. The resulting biosensor latest research can still produce a sensitivity of 89% and good stability can be up to three months when stored at 4 ° C. The biosensor measurements with very good to measure uric acid in human serum and urine. These biosensors are very simple, does not require a huge cost, stable and environmentally friendly.

Keyword: *eggshell membrane, biosensor, uric acid*

PENDAHULUAN

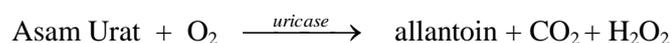
Banyak penyakit dan gangguan patologis berkaitan dengan variasi konsentrasi asam urat dalam cairan tubuh (misalnya serum dan urine), seperti encok, penyakit ginjal, penyakit kardiovaskuler, dan penyakit saraf. Di sisi lain, sebagai pengganti antioksidan, bisa terlibat dalam banyak perubahan patologis dan dapat berperan sebagai proteksi. Akibatnya, penentuan asam urat adalah sangat penting dalam diagnosis penyakit yang disebabkan oleh gangguan biosintesis purin dan katabolisme (Zhang *et al.*, 2007).

Teknik yang selama ini dilakukan untuk menganalisis asam urat adalah teknik seperti elektrokimia, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), *chemiluminescence*, dan metode fluorosens. Pada pengujian ini, banyak senyawa lain yang dapat mengganggu penentuan asam urat, hal ini terkait pada prosedur persiapan sampel yang memerlukan waktu yang lebih lama serta adanya sejumlah asam urat yang juga dapat teroksidasi. Oleh karena itu cara lain yang dikembangkan yaitu dengan memanfaatkan enzim. Enzim memiliki kemampuan unik untuk pengenalan secara spesifik suatu molekul. Metode kolorimetrik enzimatik dapat meningkatkan selektivitas penentuan asam urat, sehingga metode ini sering digunakan dalam analisis klinis. Oksidase yang berbasis deteksi kromogenik masih memungkinkan adanya gangguan yang disebabkan oleh zat exogenous hadir dalam cairan tubuh (misalnya asam askorbat. Sejak tahun 1970-an, sensor asam urat telah dikembangkan dengan urikase diimmobilisasi *insoluble supports* (Zhang *et al.* 2007).

Salah satu teknik yang dikembangkan adalah teknik immobilisasi enzim. Penggunaan enzim biasanya terkendala selain sensitivitas juga pada *shelf-life*

enzim yang diimmobilisasi. Sejauh ini, berbagai metode immobilisasi urikase telah dilaporkan, antara lain urikase *drop-coated* pada membran selulosa asetat, diimmobilisasi dalam sebuah film polyaniline secara physisorption, terikat pada membran kitosan secara *cross-linking*, dan dikemas dengan membentuk film multilayer polyelectrolyte atau sol-gel. Sebagian besar metode immobilisasi ini tidak sederhana dan tidak stabil. Oleh karena itu dicari bahan lain yang bisa membuat biosensor itu stabil salah satunya yaitu urikase diimmobilisasi pada membran kulit telur. Membran kulit telur terdiri dari serat-serat protein yang *cross-linking* dan permeabilitas terhadap udara (Gilmartin dan Hart, 1994, Kan *et al.* 2004, Yao *et al.* 2003, Hoshi *et al.* 2003, Martinez-Perez *et al.* 2003, dalam Zhang *et al.*, 2007).

Prinsip dari biosensor urikase adalah mengkatalisis oksidasi asam urat menjadi allantoin, karbon dioksida dan hidrogen peroksida, dengan reaksi sebagai berikut:



Biosensor asam urat ini memiliki keuntungannya yaitu senyawa pengganggu lebih sedikit, biaya rendah, desain sederhana, dan mudah digunakan. Langkah pertama urikase diimmobilisasi kovalen membran kulit telur segar menggunakan BSA dan glutaraldehid sebagai *cross-linking* reagen, lalu dilapiskan ke permukaan elektroda oksigen. Elektroda oksigen kemudian ditempatkan dalam kontak dengan larutan sampel untuk penentuan asam urat. Skema pendeteksian didasarkan pada penurunan tingkat oksigen terlarut dalam larutan sampel. Metode ini telah berhasil diterapkan untuk menentukan tingkat asam urat dalam serum dan urin sampel (Zhang *et al.*, 2007).

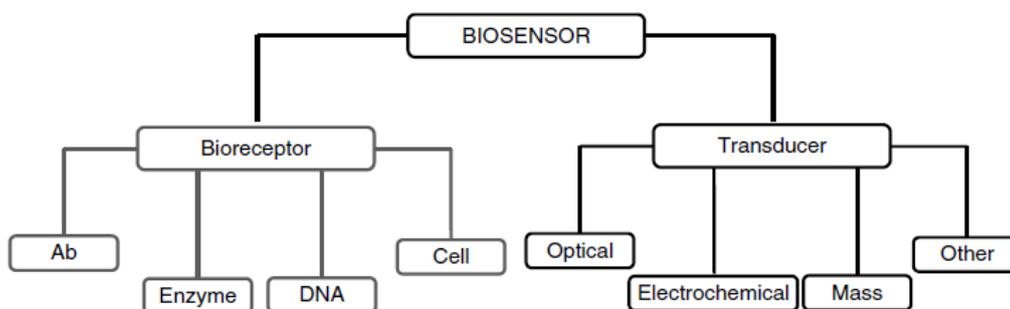
Definisi dan perangkat dari Biosensor

Schultz dan Taylor (1996) menjelaskan bahwa biosensor dapat dibedakan dari sensor kimia berdasarkan keadaan alami dari permukaan pengenalnya (*reactive surface*). Sensor kimia pada umumnya menggunakan membran polimer spesifik, baik mengandung *doping agent* maupun *dicoating* dengan bahan non-biologis berbobot molekul kecil sebagai permukaan pengenal (*active surface*). Lapisan polimer atau bahan kimia yang spesifik ini dipasang langsung pada transduser yang akan berinteraksi dan mengukur analit yang diinginkan.

Biosensor pada umumnya menggunakan biomolekul (seperti enzim, antibodi, dan sel utuh) sebagai komponen pendeteksi (bioreseptor) pada permukaan pengenalnya. Sehingga, adanya perbedaan bioreseptor ini sangat berpengaruh terhadap spesifiknya analit yang akan diukur. Oleh karena itu secara umum Biosensor dapat didefinisikan

sebagai alat ukur yang memanfaatkan reaksi kimia dan biologis untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi analit spesifik berdasarkan biomolekul yang diterapkan pada transdusernya.

Bagian yang terpenting dari biosensor adalah adanya bioreseptor dan transduser yang akan mengenali dan menghasilkan sinyal sehingga analit dapat diukur. Bioreseptor adalah merupakan biomolekul yang dapat mengenali analit target, sedangkan transduser adalah merupakan bagian perangkat fisika yang mengubah sinyal yang dihasilkan menjadi sinyal yang dapat diukur. Oleh karena itu pada biosensor kedua komponen (biologis dan fisik) bergabung membentuk suatu sistem sensor sehingga pengukuran analit tidak memerlukan pereaksi kimia.



Gambar 1 Skema Umum dari Biosensor (Farré, *et al.*, 2009).

Mekanisme pengukuran analit dapat dilihat pada Gambar 1. Suatu analit yang spesifik terhadap komponen receptor yang digunakan akan diubah menjadi sinyal oleh transduser. *Amplifier* akan memperbesar sinyal yang berasal dari transduser, sehingga akan menghasilkan sinyal-sinyal analog yang dapat diubah menjadi informasi konsentrasi oleh perangkat *output*.

Oleh karena itu penelitian mengenai biosensor banyak berkembang dalam hal mencari cara immobilisasi dari berbagai biomolekul Ab, Enzim, DNA atau sel yang akan ditempelkan pada transduser yang sesuai. Selain itu, pengembangan teknik-teknik untuk menghasilkan transduser juga berkembang, baik yang bersifat *continuous*, maupun berskala mikro. Mencari bahan-bahan yang tepat dalam immobilisasi biomolekul juga menjadi ranah penelitian yang penting dan terus berkembang.

Karakterisasi dan Sifat Adsorpsi Kulit Telur dan Membran Kulit Telur.

Hal yang terpenting dalam immobilisasi suatu biomolekul (khususnya enzim) pada suatu transduser adalah adanya bahan yang cocok dan tepat sebagai tempat

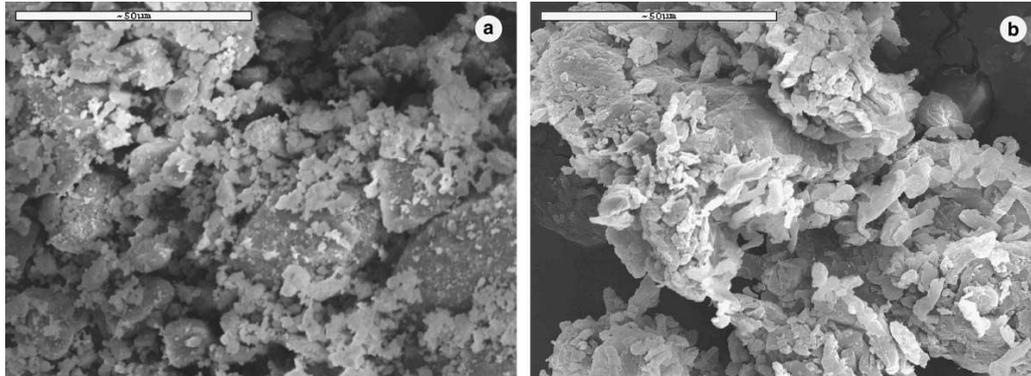
(platform) enzim tersebut terimmobilisasi. Contohnya adalah penggunaan selulosa asetat untuk immobilisasi urikase, film polianilin sebagai fisiosorpsi, dan membrankitosan (Yao *et al.*, 2003). Tetapi itu semua tidak menghasilkan teknik dan metode yang sederhana dan stabil sehingga banyak dicari bahan yang lainnya yang bersifat mudah didapat, murah, dan stabil.

Salah satu bahan yang menjadi perhatian dewasa ini adalah penggunaan kulit telur. Banyak penelitian yang menggunakan membran kulit telur ini sebagai tempat immobilisasi dari biomolekul contohnya adalah:(1) Padapenentuan konsentrasi glukosa pada minuman anggur (*wine*). Biosensor glukosa ini dibuat dari mengimobilisasi enzim pada kulit telur dan elektroda oksigen. Sebagai agen *cross-linking*nya adalah glutaraldehida. Biosensor ini menghasilkan respon yang cukup baik (100 detik), sensitifitasnya tinggi dan masih stabil walaupun sudah disimpan selama 4 bulan (Wu *et al.* 2004);(2) Biosensor untuk menetapkan hidrogen peroksida dimana membran kulit telur digunakan untuk immobilisasi enzim katalase dari ekstrak hati sapi yang dilapiskan pada elektroda oksigen. Biosensor ini cukup mempunyai respon yang tinggi yaitu sekitar 1 menit dan cukup stabil (Choi & Yiu, 2004);(3) Biosensor untuk mengukur glukosinolat pada sayuran menggunakan enzim mirosinase yang diimmobilisasi pada kulit telur. Biosensor ini menghasilkan respon yang tinggi dan stabil hampir 6 bulan (Choi *et al.* 2005).

Tsai *et al.* (2006) menerangkan bahwa hal ini tidak terlepas dari sifat dan karakteristik dari membran kulit telur dalam mengadsorpsi enzim yang akan dimobilisasi. Pada dasarnya kulit telur terdiri dari tiga struktur lapisan yaitu: *cuticle* yaitu lapisan terluar dari permukaan kulit telur, lapisan berbentuk spon (mengandung senyawa kapur), dan lapisan lamellar (atau mamilari) yang berada di bagian dalam kulit telur. Lapisan berupa spon dan mammillary adalah matrik yang terdiri dari serat-serat protein yang terikat pada kalsit (kalsium karbonat). Kedua lapisan ini biasanya digunakan karena menghasilkan sifat yang berpori. Struktur ini dapat menyebabkan pertukaran gas antara kulit. Permukaan terluar dari kulit telur (*cuticle*) dilapisi oleh suatu protein mucin yang berperan sebagai penghambat melarutnya pori-pori dari kulit telur tersebut. Komposisi dari kulit telur adalah kalsium karbonat (94%), magnesium karbonat (1%), kalsium phosfat (1%) dan senyawa organik (4%).

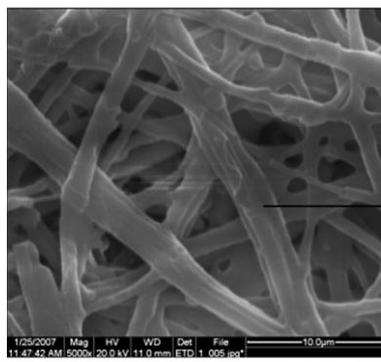
Selain kulit telur ada bagian yang bernama *Egg Shell Membran*(ESM). ESM berada diantara albumin dan permukaan bagian dalam dari kulit telur. Sebenarnya ESM ini

terdiri dari dua membran yaitu membran terluar yang tebal yang menyelimuti telur dan membran tipis. Ketebalan dari kedua membran ini sekitar 100 μm , yang tersusun teratur dari serat-serat protein sehingga menghasilkan membran yang semipermeabel. Membran ini menjaga kisi-kisi pori ini stabil dan tidak larut terhadap air, serta mempunyai luas permukaan yang tinggi.



Gambar 2 Foto SEM dari Partikel ($\times 1000$) (a). Kulit Telur dan (b) Membran Kulit Telur (Li *et al.*, 2008)

Gambar 2 terlihat bahwa antara kulit telur dan membrannya mempunyai struktur yang tidak mencirikan struktur partikel yang berpori, dan struktur kristal yang berbeda. Partikel kulit telur menunjukkan pola yang angular berbeda dengan struktur dari membran kulit telur yang nampak berupa patahan batang yang berserabut. Bila ESM dicuci dengan bersih dan dilihat dengan SEM pada pembesaran yang lebih besar maka pori-pori partikel dari ESM ini jelas terlihat (Gambar 3).



Gambar 3 Hasil SEM pada membran kulit telur (ESM) (Liet *al.*, 2008)

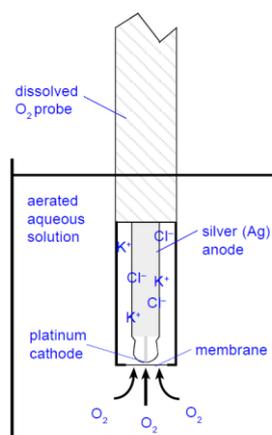
Adanya pori-pori inilah yang menyebabkan gas dapat berdifusi melewati ESM ini, sehingga bila dipakai sebagai bahan untuk immobilisasi enzim urikase maka oksigen yang masih tersisa akan dapat melewati ESM menuju transduser yang digunakan.

Mekanisme Sensor Oksigen Terlarut.

Salah satu teknik dari transduser adalah mengukur sinyal berdasarkan metoda elektrokimia. Elektrokimia secara tidak langsung adalah transfer muatan dari suatu elektroda ke fase yang lain, yang dapat berupa contoh padatan atau cairan. Selama proses ini perubahan kimia berada pada elektrode dan muatannya dihantarkan melalui fase dari contoh itu. Baik antara reaksi dan/atau tranpor muatan dapat dimodulasikan secara kimiawi dan berperan sebagai dasar dari proses pendeteksian (Wang *et al.*, 2008). Jenis-jenis elektrokimia dapat dilakukan dengan metode potensiometrik, konduktivitas, dan amperometrik.

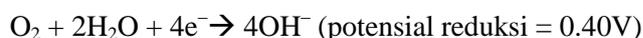
Salah satu sensor yang menggunakan metode amperometrik adalah sensor oksigen terlarut. Sensor ini mempunyai probe yang berasal dari katoda platinum dan anoda perak (Ag) yang dikelilingi oleh larutan elektrolit kalium klorida (KCl). Fungsi dari sensor ini adalah mengukur arus listrik yang dihasilkan dari reaksi kimia pada probe tersebut. Dalam hal ini reaksi yang terlibat adalah reduksi molekul oksigen (O_2) dan oksidasi atom Ag pada elektroda katoda.

Oksigen terlarut (DO) jika berada dalam suatu wadah contoh maka molekul O_2 tersebut berdifusi melewati membran silikon kedalam larutan elektrolit yang mengelilingi probe tersebut (Gambar 5). Membran ini adalah semipermeabel, yang hanya melewatkan molekul O_2 dan mencegah molekul lain melewati membran ini. Reaksi kimia akan menghasilkan elektron yang menyebabkan arus listrik mengalir melalui sirkuit listrik dari sensor. Laju difusi tergantung dari konsentrasi DO, maka jumlah elektron yang dihasilkan dari reaksi redoks dari DO akan sebanding dengan konsentrasi DO dalam larutan.

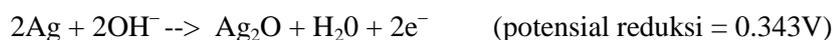


Gambar 4 Molekul Oksigen akan Melewati Membran Semipermeable ke dalam Larutan Elektrolit yang Menyelimuti Elektroda (Manual PASCO 6540).

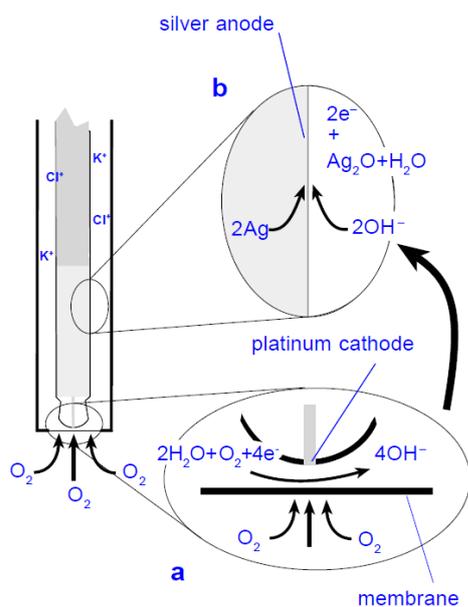
Molekul DO melewati membran silikon kedalam larutan elektrolit, molekul ini akan mendekati katoda platinum (Gambar 5). Muatan negatif (elektron berlebih) dari katoda akan menyebabkan reaksi reduksi dari DO membentuk ion hidroksida (OH⁻).



Ion Hidroksida yang bermuatan negatif tersebut akan berdifusi ke anoda Ag (Gambar 6b), kemudian akan berkombinasi dengan atom Ag dari anoda Ag membentuk Perak oksida dan melepaskan elektron.



Elektron yang dihasilkan adalah merupakan arus yang merupakan sinyal dari reaksi redoks.



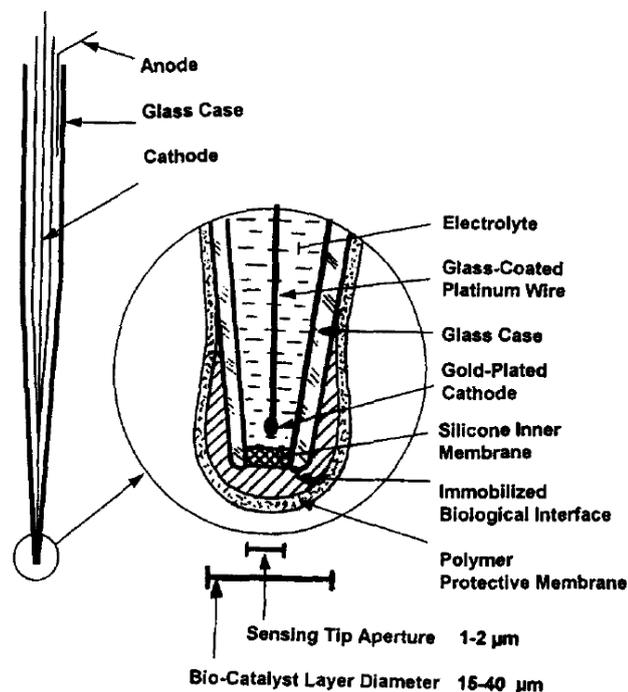
Gambar 5 (a) Molekul oksigen berdifusi melewati membran dan beraksi dengan molekul air sehingga pada katoda platinum membentuk ion hidroksida, (b) Ion hidroksida berdifusi ke anoda dan bereaksi dengan atom Ag membentuk Ag₂O, air dan elektron bebas (Manual PASCO 6540).

Clark-Type Oxygen Microelectrode.

Peteu *et al.* (1996), mengembangkan suatu mikrobiosensor yang berdasarkan mikroelektroda oksigen bertipe Clark. Pada dasarnya mikroelektroda jenis Clark ini adalah elektroda amperometrik untuk pengukuran yang berskala kecil (diameter < 100

μm). Penggunaan arus yang sangat kecil yang dihasilkan dari mikrobiosensor amperometrik ini (pA range) memerlukan sangat sedikit analit untuk menghasilkan respon. Mikrobiosensor ini biasanya dikembangkan dengan immobilisasi enzim pada ujung dari elektrodanya (Gambar 6).

Penggunaan mikrobiosensor ini menghasilkan sensitivitas terhadap analit sangat tinggi dan respon cepat dikarenakan ukuran yang kecil. Gangguan listrik dapat direduksi dengan menggabungkannya dengan elektroda pembanding pada biosensor dan gangguan elektrokimia dapat dihilangkan dengan menempatkan membran semipermeabel diantara elektroda kerja dan lapisan enzim.



Gambar 6 Diagram dari Biosensor. Analit diukur dengan mengoksidasikan analit dengan suatu enzim yang diimmobilisasi pada ujung dari elektroda (Petu *et al.* 1996).

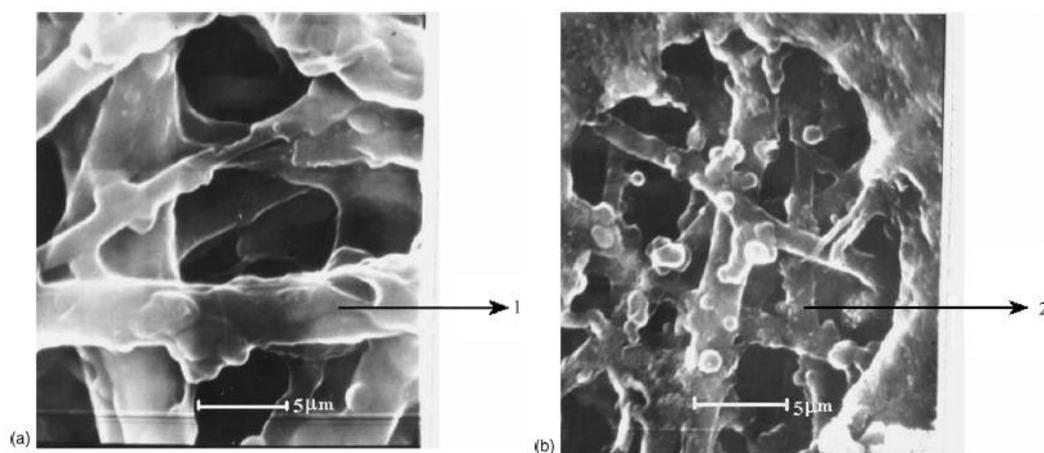
Immobilisasi Urikase pada Membran Kulit Telur (Zhang *et al.*, 2007)

Membran kulit telur dengan hati-hati dikupas dari patahan kulit telur segar setelah albumen dan kuning telur telah dihilangkan. Setelah dibersihkan dengan air aquades. Membran ditempatkan dalam sebuah slide glass bersih dan potong menjadi diameter sekitar 15 mm. Disiapkan larutan 5% (w/v) BSA dalam buffer fosfat 50 mM pada pH 8.0. Larutan urikase dengan kuantitas diketahui dimasukkan dalam larutan buffer fosfat 50mM pada pH 8.0 dicampur dengan larutan BSA pada rasio volume 1:1. Kemudian aliquot 150 μL larutan campuran ini dituangkan ke permukaan membran kulit

telur. Setelah sekitar 1 jam, 10 μL larutan glutaraldehid 2,5% (w/w) ditambahkan dan sebar secara merata di permukaan membran dengan menggunakan batang gelas kecil. Membran dikering pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah meresap dan cuci dengan buffer fosfat pH 8.0 selama 5 menit. Setelah dicuci, urikase diimmobilisasi membran kulit telur disimpan dalam buffer fosfat pH 8.0 pada 4 °C sampai penggunaan lebih lanjut. Scanning electron microscopy membran kulit telur dengan dan tanpa urikase immobilisasi ditempatkan pada tembaga bundar bersih sekitar 2mm diameter. Lalu membran dilapisi dengan lapisan tipis emas menggunakan spray gun dan diamati di bawah mikroskop elektron scanning.

Pembuatan Biosensor Asam Urat dan Penerapan Analisisnya (Zhang *et al.*, 2007)

Urikase diimmobilisasi membran kulit telur diletakkan pada permukaan Pasco-6542 CI sensor oksigen dan disimpan dalam posisi steady dengan O-ring. Elektroda kemudian direndam ke dalam 5ml larutan buffer fosfat 200mM yang diaduk pada pH 8.0. Variasi volume standar (5 mM) atau sampel disuntikkan ke dalam buffer fosfat dengan jarum suntik. Sinyal oksigen terlarut ditangkap dan diproses oleh data logger terdiri dari Science Workshop 500 interface, kabel, power supply, dan pengendali perangkat lunak. Data yang login di komputer real-time untuk menampilkan dan pengolahan. Ketika biosensor itu tidak digunakan, elektrode oksigen yang berkumpul disimpan dalam larutan buffer fosfat pH 8.0 pada 4 °C.



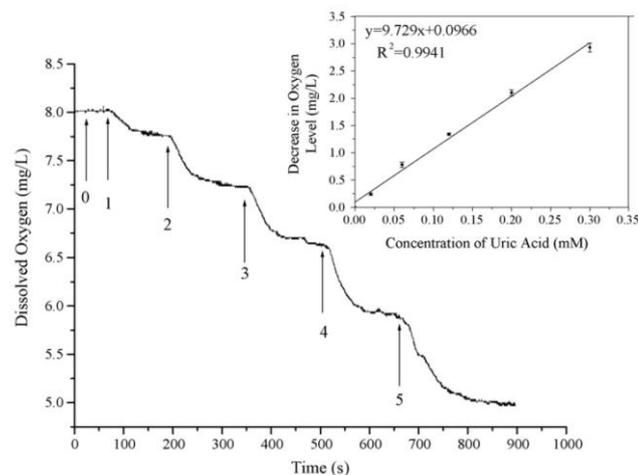
Gambar 7 SEM dari membran kulit sel. (a) Membran kulit telur yang bersih; (b) Membran kulit telur yang telah diimmobilisasi dengan enzim; 1. Serat protein; 2. Serat protein yang diimmobilisasi dengan enzim (Zhang *et al.*, 2007).

Keberhasilan Imobilisasi Enzim Urikase pada Membran Kulit Telur

Pada Gambar 7 terlihat adanya struktur seperti jaringan tanpa adanya suatu agregasi pada membran kulit telur yang bersih (Gambar 7a), hal ini mengindikasikan adanya membran yang mengandung serat protein ber *cross-linking* yang tinggi dan berlubang. Sedangkan (Gambar 7b) memperlihatkan immobilisasi terlihat dengan adanya enzim yang menempel pada serat protein tersebut.

Karakteristik biosensor asam urat

Prinsip pada pengukuran ini adalah adanya oksidasi asam urat menjadi allantoin, sehingga konsentrasi oksigen akan berkurang. Pengurangan oksigen tersebut dapat dijadikan sinyal analitik dalam biosensor. Untuk mengukur berkurangnya konsentrasi oksigen tersebut, digunakan elektroda oksigen. Gambar 8 menunjukkan kurva tipe respon dari biosensor asam urat tersebut. Hubungan yang linier antara konsentrasi asam urat dengan penurunan oksigen didapatkan dengan kurva kalibrasi yang ditunjukkan pada Gambar 8. Konstanta Michaelis-Menten dari immobilisasi asam urat ini ditetapkan dengan persamaan Lineweaver-Burk's yaitu 0,33 mM yang merupakan ciri dari nilai enzim yang diimmobilisasi.



Gambar 8 Kurva respon dari biosensor asam urat pada larutan penyangga fosfat pH 8 (200mM) pada berbagai volume asam urat yang ditambahkan. Inset adalah kurva kalibrasi linier pada konsentrasi asam urat dari 0-0.3 mM (Zhang *et al.*, 2007).

Hasil dari Imobilisasi Enzim

Kecepatan reaksi enzimatik tergantung dari aktivitas enzimatik. Selain itu jumlah enzim yang terimmobilisasi juga mempengaruhi sensitivitas biosensor itu. Jumlah urikase yang dapat diimmobilisasi bervariasi dari 0.58-3.1 mg. Dengan bertambahnya jumlah

urikase yang ditambahkan akan bertambah pula sensitivitas dari biosensor, tetapi kondisi optimum dari jumlah urikase yang digunakan adalah 0.88 mg. Buvine serum Albumin (BSA) ternyata sangat berpengaruh terhadap imobilisasi urikase. Penambahan BSA dapat menjebak lebih besar urikase sehingga dapat terimmobilisasi pada serat protein membran kulit telur. Sensitivitasnya tiga kali lebih baik dibandingkan tanpa BSA.

Pengaruh pH dan suhu

pH dan suhu ternyata sangat berpengaruh terhadap sensitivitas dari biosensor ini. Bertambahnya pH ternyata respon biosensor ini akan meningkat tetapi setelah pH optimum 8, respon akan menurun dikarenakan adanya bentuk tautomerik dari urikase dimana nilai pKa nya antara 5.4 dan 9.8, selain itu adanya efek disosiasi dari asam urat pada pH sekitar 9 menyebabkan sensitivitas biosensor ini berkurang.

Laju respon sangat dipengaruhi oleh suhu, dengan menaiknya suhu maka laju respon pun akan meningkat. Tetapi ketika suhu tersebut telah mencapai 30°C maka laju respon bisa lebih atau kurang konstan (tidak stabil), selain itu bila dilakukan pada suhu diatas 30°C maka kelarutan oksigen di dalam air akan berkurang maka akan menyebabkan pengukuran yang bias. Urikase pun akan mengalami denaturasi bila dilakukan pada suhu yang relatif tinggi.

Performa analitik biosensor asam urat

Waktu respon adalah waktu yang dibutuhkan untuk mendapat sinyal dalam keadaan tunak (*steady state*) ketika biosensor tersebut dilakukan pada larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui. Biosensor asam urat ini ternyata dapat menghasilkan waktu respon selama 100 detik untuk mendapatkan sinyal keadaan tunak 95%. Inset pada gambar 9, menunjukkan kisaran respon biosensor dari 0- 0.3 mM asam urat. Persamaan linier nya adalah menurunnya konsentrasi oksigen (mg/L) = $9.729 [\text{uric acid}] + 0.0966$ ($r^2 = 0.9941$). Deteksi limitnya 2.0 μM . Standard deviasi yang didapatkan adalah 3.1 % yang dilakukan pada standar asam urat 0,1 mM sebanyak tujuh kali. Biosensor urikase dengan membran kulit telur ini mempunyai limit deteksi dan kisaran linier yang lebih rendah bila dibandingkan dengan metode lainnya. Sensitivitas dari biosensor urikase dengan membran kulit telur initerlihat dengan rendahnya reproduksibilitas yang dihasilkan.

Kestabilan Biosensor Asam Urat

Biosensor ini memiliki kestabilan yang cukup panjang. Bila disimpan dalam suhu 4°C, biosensor ini masih dapat menghasilkan sensitivitas sebesar 89% dari sinyal yang dihasilkan ketika diukur pada asam urat 0,1 mM. Kestabilan ini dimungkinkan karena

adanya hubungan yang cocok secara biologis antara enzim dan membran kulit telur. Adanya struktur yang berpori menyebabkan sifat hidrofilik gas permeabel dari membran kulit telur yang dapat memberikan lingkungan mikro yang cocok bagi enzim untuk menjaga aktivitas enzim ini. Biosensor ini mempunyai waktu stabilitas yang lebih lama bila dibandingkan dengan biosensor ketika urikase diimmobilisasi bukan dengan membran kulit telur.

SIMPULAN

Biosensor asam urat dari urikase yang diimmobilisasi pada membran kulit telur mampu untuk mengukur asam urat dalam darah dan urin manusia dengan baik. Hasil fotografi SEM menunjukkan kesuksesan immobilisasi urikase pada membran kulit telur. Biosensor ini sangat sederhana, tidak membutuhkan biaya yang besar, dan ramah lingkungan. Mempunyai stabilitas yang baik bisa sampai tiga bulan ketika disimpan pada suhu 4°C. Membran biosensor sangat baik untuk dijadikan tempat immobilisasi dari berbagai enzim yang dapat diaplikasikan menjadi biosensor yang stabil.

DAFTAR PUSTAKA

- Choi, M.F, and Tak Pong Yiu, 2004. Immobilization of beef liver catalase on eggshell membrane for fabrication of hydrogen peroxide biosensor. *Enzyme and Microbial Technology* 3: 41–47
- Choi, M.F., May M.K. Liang, Albert W.M. Lee, 2005. A biosensing method with enzyme-immobilized eggshell membranes for determination of total glucosinolates in vegetables. *Enzyme and Microbial Technology* 36:91–99
- Farré, M, Sara Rodriguez-Mozaz, Miren López de Alda, Damià Barceló, and Peter-Diedrich Hansen, 2009. *Handbook of Environmental Chemistry*. Editors-in-chief: O. Hutzinger · D. Barceló · A. Kostianoy. Volume 5 Water Pollution. Part J. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Li, B.L., D. Lan, Z.J. Zhang, 2008. Chemiluminescence flow-through biosensor for glucose with eggshell membrane as enzyme immobilization platform. *Anal. Biochem* 374:64–70.
- Peteu, S. F., David Emerson & R. Mark Worden, 1996. A Clark-type oxidase enzyme-based amperometric microbiosensor for sensing glucose, galactose, or choline. *Biosensors & Bioelectronics* (11) 10:1059-1071
- Schulz, JS, and Taylor RF. 1996. *Handbook of Chemical and Biological Sensors* (Hardcover). © IOP Publishing Ltd.
- Tsai, W.T., J.M. Yang, C.W. Lai, Y.H. Cheng, C.C. Lin, C.W. Yeh, 2006. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane. *Bioresource Technology* 97:488–493

- Wu, B. Guomei Zhang, Shaomin Shuang, Martin M.F. Choi. 2004. Biosensors for determination of glucose with glucose oxidase immobilized on an eggshell membrane. *Talanta* 64: 546–553.
- Wang, Y., Hui Xu, Jianming Zhang and Guang Li., 2008. Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. *Sensors* 8: 2043-2081.
- Yao, D., Vlessidis, A.G., Evmiridis, N.P., 2003. *Anal.Chim. Acta* 478. 23-30
- Zhang, Z., Sichun Zhang, Xinrong Zhang, 2005. Recent developments and applications of chemiluminescence sensors. *Analytica Chimica Acta* 541: 37–47.
- Zhang, Y., Guangming Wen, Yehong Zhou, Shaomin Shuang, Chuan Dong, Martin M.F. Choi, 2007. Development and analytical application of an uric acid biosensor using an uricase-immobilized eggshell membrane. *Biosensors and Bioelectronics* 22.1791–1797.