

OPTIMASI PARAMETER ANALITIK BIOSENSOR UREA

BERBASIS IMMOBILISASI UREASE DALAM MEMBRAN POLIANILIN

Begum Fauziyah

*Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim
bee_fauziyah@yahoo.co.id*

ABSTRACT

Biosensor Urea is made from the way immobilization enzyme urase inside of membrane polianilin with adsorption technique. Analytical parameter optimization from biosensor has done. The biggest difference between analit solution and blanko solution get in pH 7, long wave 580 nm and urease/PAn membrane having big difference intensity in optimum pH (pH 7) is urease/PAn membrane with urease variance 1 mg/mL. The result of characterization urease/PAn membrane as biosensor are concentration connection to absorban urease/PAn having correlation coefficient 0.9863; sensitivity 0.0445; detection limitation 0.6 ppm; variation coefficient (Kv) less than 5% with response around 20 minute. Urease/PAn membrane has stability till 7 days with 6 days of daily measuring repetitions.

Key Words : polianilin, urease, urea, biosensor

PENDAHULUAN

Pengembangan detektor urea banyak dilakukan untuk memenuhi kebutuhan analisa kadar urea yang mudah dan murah dalam banyak bidang seperti bidang kesehatan, industri dan pertanian, salah satunya dilakukan melalui biosensor optik. Sensor urea diperlukan dalam monitoring diabetes dan memprediksikan indikasi adanya gangguan pada liver. Sensor urea juga penting diaplikasikan dalam bidang *agriculture* dan *hydroponic* dimana pengukuran urea dapat dilakukan pada sampel tanah dan air permukaan (National Research Development Corporation, Tanpa tahun). Biosensor optik untuk urea dikembangkan melalui

teknik immobilisasi urease dalam suatu material pendukung atau matrik. Metode ini membatasi secara fisik pergerakan biomolekul urease dalam ruang reaksi yang dikatalisisnya. Kemampuan biosensor yang dibuat dengan metode immobilisasi enzim sangat dipengaruhi oleh teknik immobilisasi dan jenis material pendukung atau matrik yang dipilih. Pemakaian polimer konduktif seperti polianilin sebagai alternatif material pendukung atau matrik dalam immobilisasi enzim diharapkan mampu mempertahankan kemampuan katalitik enzim karena fleksibilitasnya dalam struktur kimia yang ditempati dan

efisiennya transfer muatan elektron yang terjadi (Kan *et al.*, 2004).

Urease merupakan enzim yang spesifik mengkatalisis reaksi hidrolisis urea sehingga dapat digunakan sebagai biosensor. Dalam pengembangan biosensor urea, urease dapat diimmobilisasi dalam suatu matrik dengan berbagai teknik seperti adsorpsi, *entrapment*, ikatan kovalen, *cross linking*, dan enkapsulasi. Barhoumi *et al.*, (2004) mengembangkan biosensor urea dengan mengimmobilisasi urease dalam polimer lateks menggunakan teknik *entrapment*. Antonia dan Toressi (1999) menggunakan polipirrol untuk mengimmobilisasi urease dengan teknik *cross linking* dan *entrapment*. Respon amperometrik biosensor yang dihasilkan dari teknik *cross linking* menurun dengan sensitivitas antara $0.05 \text{ mA cm}^{-2} \text{ M}^{-1}$ - $0.4 \text{ mA cm}^{-2} \text{ M}^{-1}$ sedangkan sensitivitas biosensor yang dibuat dengan teknik *entrapment* antara $0.1 \text{ mA cm}^{-2} \text{ M}^{-1}$ - $0.2 \text{ mA cm}^{-2} \text{ M}^{-1}$. Atmoko (2004) mengimmobilisasi urease dengan teknik sol gel menggunakan *Tetra methoksi silicate* (TMOS) sebagai matriknya. Biosensor urea yang dihasilkan digunakan untuk mengukur laju hidrolisis urea pada range konsentrasi 1-5 ppm. Pemilihan teknik immobilisasi tersebut disesuaikan dengan kriteria utama immobilisasi yaitu tidak terjadinya perubahan konformasi enzim dan tidak

terganggunya gugus fungsi aktif biomolekul. Hal ini bergantung pada interaksi yang diharapkan antara gugus fungsional dalam biomolekul dan matrik pendukung yang digunakan pada immobilisasi.

Salah satu polimer konduktif yang dapat digunakan sebagai alternatif material pendukung atau matrik dalam immobilisasi dan telah diterapkan untuk beberapa enzim adalah polianilin (PAn) (Marcos *et al.*, 2000). Polianilin memiliki karakter yang sesuai sebagai material pendukung atau matrik dan sekaligus bisa berfungsi sebagai indikator karena sifat elektrokromiknya terhadap perubahan pH (Isa *et al.*, 2002; Yang dan Huang, 2001). Timur *et al.*, (2004) mengimmobilisasi *laccase* dari beberapa sumber yang berbeda dalam PAn menghasilkan sensor film yang tipis. Kan *et al.*, (2004) telah mengimmobilisasi urikase dalam PAn dengan proses *template* dan mempelajari karakteristik biosensornya. Cho dan Huang (1998) mengimmobilisasi urease dengan PAn-Nafion menggunakan teknik *cross linking* dengan reagen *glutaraldehyde* untuk biosensor urea yang bekerja secara amperometrik dan bekerja pada range konsentrasi $0.5 \mu\text{M}$ – $1000 \mu\text{M}$ dengan waktu respon 40 – 120 detik.

Dalam penelitian ini, immobilisasi urease dalam PAn dilakukan dengan teknik adsorpsi. Penelitian ini difokuskan

pada optimasi parameter analitik detektor urea berbasis immobilisasi urease/PAn. Parameter analitik yang dimaksud antara lain pH optimum, *linier range*, batas deteksi, waktu respon, sensitivitas, reproduisibilitas dan stabilitas dari detektor urea.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, pipet volum, pipet Mohr, bola pipet, erlenmeyer, kaca arloji, neraca analitik *sartorius CP 224 S*, stirrer dan anak stirrer, stopwatch, plastik transparan, kuvet, spektrofotometer *Hitachi u-1800*, pH meter *Denver*, lemari es dan botol semprot.

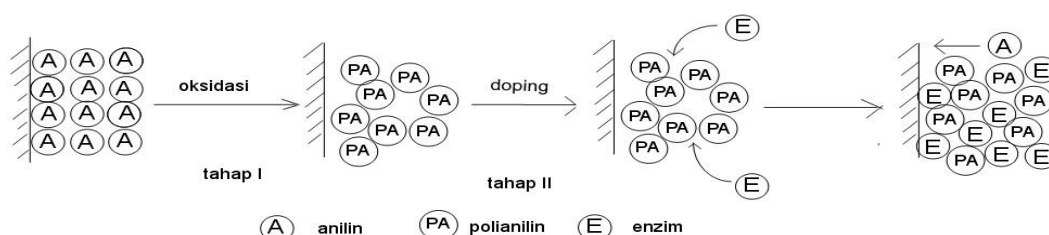
Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan anilin

(pa), Jack Bean Urease (E.C.3.5.1.5), larutan asam klorida 37%, urea, sodium (I) dihidrogen fosfat, sodium (II) hidrogen fosfat, besi (III) klorida heksahidrat, brom thymol blue (BTB), larutan etanol 96% dan akuades.

Immobilisasi Urease dalam Matrik PAn

Campuran larutan FeCl_3 dan anilin dengan rasio mol 3,4 dituang pada kaca arloji yang telah dilapisi plastik transparan dan distirrer selama 40 menit sampai rata. Polianilin yang terbentuk kemudian dikeringkan, dicuci dengan akuades dan dipotong dengan ukuran (1x5) cm. Membran yang terbentuk kemudian direndam dalam larutan urease dalam buffer fosfat pH 7, dengan variasi urease 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL dan 1 mg/mL kurang lebih selama 24 jam.



Gambar 1. Proses Immobilisasi Urease dalam Polianilin

Optimasi Parameter

a. Penentuan Panjang Gelombang Optimum

Panjang gelombang optimum membran urease/PAn dengan variasi jumlah urease dan pH, ditentukan dengan mengukur selisih intensitas sinyal larutan blanko (membran urease/PAn dan buffer pH) dengan larutan analit (membran urease/PAn, larutan urea) yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm-800 nm dengan interval 10 nm. pH yang digunakan pada pengukuran bervariasi yaitu 5-8. Selisih intensitas sinyal yang terbesar pada pH tertentu dipilih sebagai panjang gelombang maksimum membran urease/PAn dan pH merupakan pH optimum.

b. Penentuan Waktu Respon Membran Urease/PAn

Waktu yang dibutuhkan membran urease/PAn untuk merespon keberadaan analit sampai diperoleh intensitas sinyal terbesar yang konstan selama beberapa waktu merupakan waktu respon optimum membran. Pengukuran dilakukan pada larutan urea 5 ppm dan selang waktu pengukuran yang digunakan adalah 1 menit sampai diperoleh absorbansi yang konstan.

c. Penentuan Kadar Urea oleh Urease Terimmobilisasi

Dalam penelitian ini, penentuan kadar urea oleh urease terimmobilisasi dilakukan pada kondisi optimum membran urease/PAn pada range konsentrasi urea 0 - 5 ppm, mengikuti prosedur yang tercantum pada tabel 2 berikut ini :

Tabel 1. Penentuan Kadar Urea oleh Urease Terimmobilisasi

Reaktan	Blanko	Tab 1	Tab 2	Tab 3	Tab 4	Tab 5
[Urea]	Buffer phosphat	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
Membran urease/Pan						

Keterangan : Volume larutan urea yang digunakan adalah 3.5 mL

d. Penentuan *Linier Range*

Linier range merupakan daerah (*range*) konsentrasi analit tertentu pada grafik absorbansi terhadap konsentrasi yang memberikan respon linier dimana kenaikan absorbansi berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi (Skoog, 1994). Respon yang linier ditunjukkan melalui persamaan garis sebagai berikut :

$$y = bx + a$$

dimana, b = Slope atau kemiringan dari kurva kalibrasi

a = Intersep atau perpotongan terhadap sumbu y

e. Batas Deteksi

Karakteristik suatu biosensor juga ditentukan oleh kemampuannya mendeteksi konsentrasi suatu analit. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi, semakin baik karakteristik biosensor tersebut. Batas deteksi atau batas identifikasi adalah kuantitas (konsentrasi) terkecil dari suatu analit yang masih dapat ditentukan atau dideteksi. Batas deteksi dapat dinyatakan sebagai,

$$y = y' + 3 \text{ SD}$$

Keterangan :

SD : standart deviasi

y' : rata-rata intensitas (Miller dan Miller, 1991)

f. Presisi

Presisi dinyatakan dalam reproduibilitas. Reprodusibilitas merupakan kemampuan suatu biosensor memberikan output yang sama ketika diberikan input yang tetap setelah sistem di *reset* ulang. Pengulangan percobaan yang dilakukan agar dihasilkan limit antara percobaan sekecil mungkin. Diharapkan nilai setiap pendekatan untuk satu kali pengulangan atau lebih yang berbeda adalah 95 % (Caulcutt dan Boddy, 1986).

Hasil pengulangan dapat dinyatakan sebagai koefisien variasi dari simpangan induk.

$$Kv = \left[\frac{SD}{x} \right] . 100\%$$

dimana : SD = standar deviasi, x = signal rata-rata sampel dan Kv = koefisien variasi.

g. Sensitivitas

Sensitivitas merupakan rasio perubahan sinyal tiap unit perubahan konsentrasi analit (Kateman dan Buydens, 1993). Sensitivitas dapat dinyatakan sebagai slope dari kurva yang diperoleh dengan range tertentu (Miller dan Miller, 1991) . Menurut aturan IUPAC, sensitivitas yang dinyatakan dengan slope merupakan sensitivitas kurva. Nilai sensitivitas yang besar berarti bahwa perubahan konsentrasi yang kecil dari analit dapat memberikan respon yang berarti.

h. Stabilitas

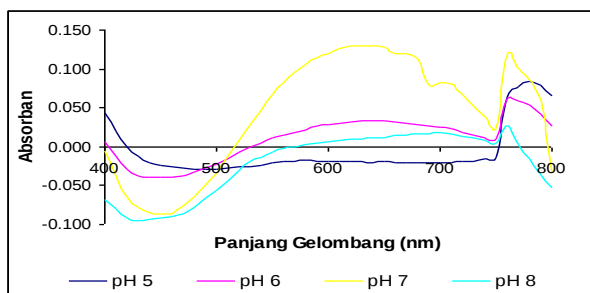
Stabilitas membran urease/PAn optimum sebagai biosensor adalah kemampuan membran urease/PAn untuk mempertahankan karakterisitiknya selama periode waktu tertentu. Membran yang telah dibuat, disimpan pada dua kondisi yang berbeda yaitu pada temperatur 4°C

dan pada temperatur kamar. Pengukuran dilakukan secara berulang-ulang dengan selang waktu penyimpanan satu hari, sampai aktivitasnya tidak terbaca.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Penentuan Panjang Gelombang Optimum

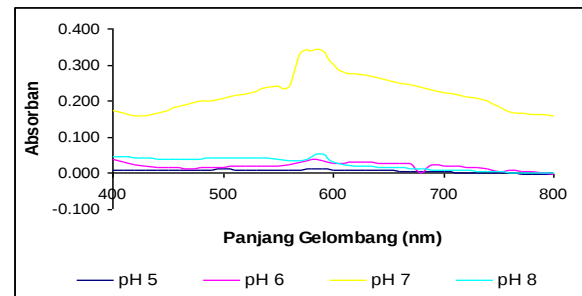
Penentuan panjang gelombang optimum dilakukan untuk menentukan panjang gelombang operasional terbaik membran urease/PAn. Pengukuran dilakukan pada variasi pH 5-8 dengan urease bebas dan urease terimmobil dengan variasi urease 1 mg/mL. Grafik scanning panjang gelombang pada variasi pH dengan urease bebas dan urease terimmobil masing-masing tertera pada gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 2. Grafik Scanning Panjang Gelombang pada pH 5-8 dengan Urease bebas.

Berdasarkan spektra yang diperoleh pada scanning panjang gelombang pada variasi pH dengan urease bebas dan urease terimmobil, diketahui

bahwa selisih intensitas terbesar antara larutan analit dan larutan blanko diperoleh pada pH 7, artinya pH 7 ditentukan sebagai pH dimana membran urease/PAn bekerja optimum mendeteksi reaksi hidrolisis urea oleh urease.



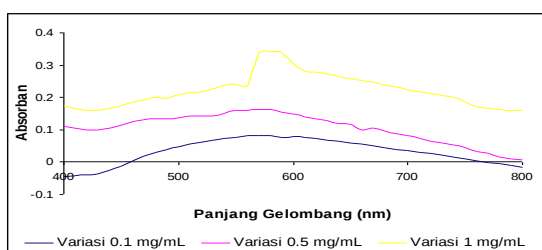
Gambar 3. Grafik Scanning Panjang Gelombang pada pH 5-8 dengan Urease terimmobil.

Selisih intensitas terbesar pada panjang gelombang tertentu yang diperoleh pada pH 7 menunjukkan panjang gelombang optimum membran. Pada pengukuran dengan urease bebas, selisih intensitas terbesar pada pH 7 diperoleh saat panjang gelombang 630 nm dan 640 nm dan pada pengukuran dengan urease terimmobil, selisih intensitas terbesar diperoleh pada saat panjang gelombang 580 nm.

b. Penentuan Membran Urease/PAn Optimum

Membran urease/PAn optimum ditentukan dengan membandingkan selisih intensitas antara larutan analit dengan larutan blanko pada spektra absorpsi

scanning panjang gelombang membran urease/PAn dengan variasi urease 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL dan 1 mg/mL yang dilakukan pada pH optimum yaitu pH 7. Grafik absorban terhadap panjang gelombang untuk membran urease/PAn dengan variasi urease tertera pada gambar 4.



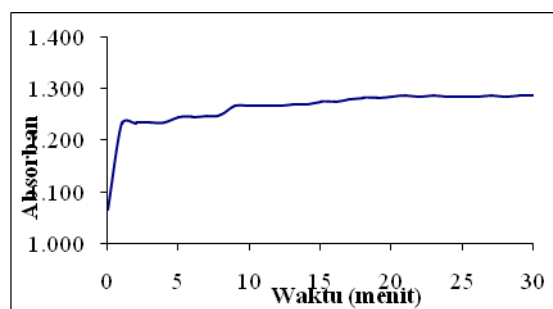
Gambar 4. Grafik Scanning Panjang Gelombang Membran Urease/PAn dengan Variasi Urease.

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa selisih intensitas terbesar antara larutan analit dan blanko diperoleh pada membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL. Dengan demikian membran urease/PAn optimum yang akan digunakan untuk pengukuran selanjutnya adalah membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL.

c. Waktu Respon

Waktu respon diukur untuk membran urease/PAn optimum dengan variasi 1 mg/mL, ditentukan setiap menit sampai diperoleh intensitas sinyal terbesar yang konstan selama beberapa waktu. Pengukuran dilakukan pada urea konsentrasi 5 ppm dengan selang waktu pengukuran 1 menit. Pengukuran

dilakukan pada pH optimum yaitu pH 7 dan pada panjang gelombang optimum 580 nm. Grafik absorban terhadap waktu respon membran urease/PAn dengan variasi urease sebesar 1 mg/mL ditunjukkan gambar 5.



Gambar 5. Grafik Penentuan Waktu Respon Membran Urease/PAn dengan Variasi 1 mg/mL.

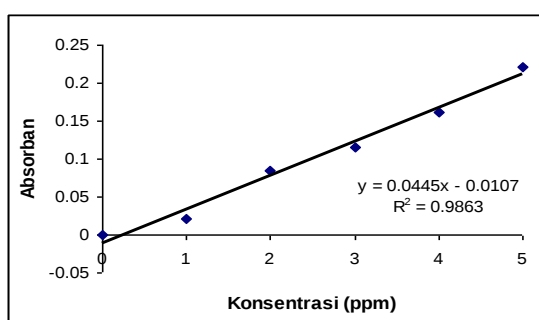
Waktu respon optimum membran urease/PAn merupakan waktu dimana absorban yang mendekati absorban konstan selama beberapa waktu diperoleh. Berdasarkan gambar 17 dan data yang terlampir pada lampiran A dapat diketahui bahwa waktu respon membran urease/PAn berkisar antara 20 menit. Waktu respon ditentukan 20 menit sebab sinyal yang diberikan oleh biosensor tidak mengalami perubahan yang berarti pada rentang waktu berikutnya.

d. Linier Range

Karakterisasi membran urease/PAn pada penelitian ini meliputi daerah linier, batas deteksi, sensitivitas, reproduibilitas dan stabilitas. Karakterisasi membran urease/PAn sebagai biosensor dilakukan pada parameter optimum membran yaitu

membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL, pH 7, panjang gelombang 580 nm dan waktu respon 20 menit.

Pengaruh konsentrasi terhadap absorbansi membran urease/PAn diamati pada substrat urea dengan range konsentrasi 0 ppm – 5 ppm. Grafik absorbansi terhadap konsentrasi ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Grafik Kurva Kalibrasi Membran Urease/PAn pada Range Konsentrasi 0 ppm – 5 ppm.

Gambar 6 menunjukkan bahwa absorbansi membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL pada panjang gelombang 580 nm meningkat sesuai dengan adanya peningkatan konsentrasi. Hubungan linier ini menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi membran urease/PAn pada range konsentrasi 0 ppm – 5 ppm. Koefisien regresi yang diperoleh berdasarkan gambar diatas adalah sebesar 0.9863, artinya $\pm 98\%$ perubahan absorbansi dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi urea, sedangkan $\pm 2\%$ dipengaruhi faktor lain.

e. Batas Deteksi

Karakteristik suatu biosensor juga ditentukan oleh kemampuannya mendeteksi konsentrasi suatu analit. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi, semakin baik karakteristik biosensor tersebut. Batas terkecil dari suatu analit yang masih dapat ditentukan atau dideteksi oleh membran urease/PAn ditentukan dari grafik absorbansi terhadap konsentrasi pada kurva kalibrasi dengan menentukan standart deviasinya terlebih dulu. Standart deviasi yang diperoleh adalah 0.0012 dan batas konsentrasi terkecil yang bisa ditentukan adalah 0.6 ppm.

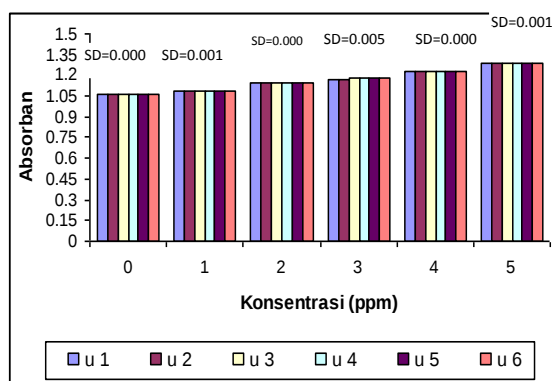
f. Sensitivitas

Sensitivitas membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL dinyatakan dengan slope (m) dari grafik absorbansi terhadap konsentrasi yang ditunjukkan pada gambar 18. Nilai sensitivitas membran urease/PAn yang diperoleh adalah sebesar 0.0445. Nilai tersebut menunjukkan bahwa tiap satu satuan perubahan konsentrasi akan menghasilkan perubahan absorbansi sebesar 0.0445.

g. Presisi

Reprodusibilitas pengukuran merupakan kepresisian suatu hasil pengukuran yang dilakukan secara berulang dengan suatu alat ukur, dalam hal ini membran urease/PAn sebagai

biosensor. Suatu hasil pengulangan pengukuran absorbansi dengan membran urease/PAn dikatakan memiliki reproduisibilitas yang baik bila deviasi harga absorbansi antar pengulangan kecil dan nilai koefisien variasinya dibawah 5 %. Hasil pengulangan pengukuran absorbansi dengan nilai standart deviasi (SD) dan nilai koefisien variasi (Kv) tertera secara lengkap pada lampiran 10 dan ditunjukkan dalam grafik berikut ini :



Gambar 7. Pengulangan Pengukuran Absorban Larutan Standart Urea dengan Konsentrasi 0 ppm – 5 ppm.

Berdasarkan grafik diatas dan data yang tertera pada lampiran 10, dapat diketahui bahwa hasil pengulangan pengukuran absorbansi pada range konsentrasi 0 ppm – 5 ppm dengan membran urease/PAn memiliki deviasi yang kecil pada sekumpulan harga absorbansi yang diperoleh dari pengulangan pengukuran. Nilai koefisien variasi (kv) yang dimiliki membran urease/PAn pada range konsentrasi 0 ppm - 5 ppm kurang dari 5 %, artinya pengukuran pH dengan menggunakan membran urease/PAn yang

diperoleh dari pengulangan sebanyak 6 kali bisa dikatakan memiliki reproduisibilitas yang baik.

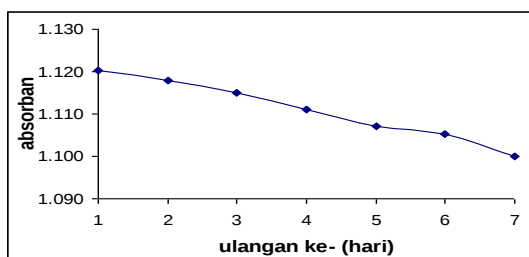
h. Stabilitas

Stabilitas adalah kemampuan suatu biosensor mempertahankan karakteristik performanya sampai batas waktu tertentu. Stabilitas membran urease/PAn sebagai biosensor ditentukan dengan pemakaian berulang membran urease/PAn pada satu konsentrasi substrat sampai aktivitas urease tidak terbaca lagi dengan selang waktu pemakaian adalah satu hari. Pengulangan pengukuran yang dilakukan selama satu hari adalah 6 kali. Membran urease/PAn yang digunakan disimpan pada dua kondisi temperatur yaitu pada temperatur kamar dan pada temperatur 4 °C. Konsentrasi substrat yang digunakan pada pengukuran ini adalah 5 ppm.

Membran urease/PAn yang disimpan pada temperatur kamar tidak memberikan perubahan absorbansi atau selisih yang signifikan antara blanko dengan analit. Hal ini terjadi karena pada temperatur kamar aktivitas katalitik enzim urease turun atau hilang sama sekali (Kuswandi, 2003).

Membran urease/PAn yang disimpan pada temperatur 4 °C memberikan perubahan absorbansi antara blanko dan analit sampai dengan 7 kali

pemakaian. Absorban pada tiap pengulangan turun tiap pengukuran, dan pada pengulangan ke 7 absorban yang diberikan analit sudah mendekati absorban blanko. Pada pengulangan berikutnya aktivitas enzim urease sudah hilang ditandai dengan tidak adanya perubahan absorban antara blanko dengan analit. Penurunan absorban pada pemakaian berulang membran urease/PAn yang disimpan pada temperatur 4 °C tertera pada grafik 8.



Gambar 8. Grafik Pemakaian Berulang Membran Urease/PAn yang Disimpan Pada Temperatur 4°C.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Selisih intensitas terbesar antara larutan analit dan larutan blanko diperoleh pada pH 7, pada panjang gelombang 580 nm dan membran urease/PAn yang memiliki selisih intensitas terbesar pada pH optimum (pH 7) adalah membran urease/PAn dengan variasi urease 1 mg/mL.

2. Hasil karakterisasi membran urease/PAn sebagai biosensor antara lain adalah, hubungan konsentrasi terhadap absorban membran urease/PAn memiliki koefisien korelasi sebesar 0.9863; sensitivitas sebesar 0.0445; batas deteksi sebesar 0.6 ppm; koefisien variasi (Kv) kurang dari 5 % dengan waktu respon berkisar 20 menit. Membran urease/PAn memiliki stabilitas sampai 7 hari dengan 6 kali pengulangan pengukuran per-hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Antonia, L.H.D dan Toressi, S.I.C. 1999. *Amperometric Urea Biosensor Using Polypyrrole with Different Dopants*. Brazil : Universidade de Sao Paulo.
- Atmoko, E.W. 2004. *Studi Immobilisasi Urease dengan Teknik Sol-Gel untuk Biosensor Urea*. Skripsi . Jember : Universitas Jember.
- Barhoumi, H., Maaref, A., Martelet, C., Jaffrezic, N., Mousty, C., Cosnier, S., et al. 2004. *Characterisation of a New Urea Biosensor Using Different Synthetic Latex for Urease Immobilisation*. WWW.Sparksdesigns.co.uk.biopapers'04 /papers /bs134 .pdf
- Caulcutt, R. dan Boddy, R. 1983. *Statistics for Analytical Chemistry*. London : Chapman and Hall.
- Cho, W.J. dan Huang, H.J. 1998. "An Amperometric Urea Biosensor Based on a Polyaniline-Perfluorosulfonated Ionomer

Created with

nitroPDF professional

- Composite Electrode*". Dalam *Journal Analytical Chemistry*. Vol. 70. p. 3946-3951.
- Isa, A.K., Zulfikar dan Subekti, A. 2002. "*Optimasi Sintesis Polianilin Secara Elektrokimia*". Dalam *Jurnal Ilmu Dasar FMIPA UNEJ*. Vol. 3. No. 1. hal. 36-44.
- Kan, J., Pan, X. dan Chen, C. 2004. "*Polyaniline-Uricase Biosensor Prepared with Template Process*". Dalam *Journal Biosensors and Bioelectronics*. Vol. 19. p. 1635-1640.
- Kateman, G. dan Buydens, L. 1993. *Quality Control In Analytical Chemistry*. USA : John Wiley & Sons, Inc.
- Kuswandi, B. 2001. "*Prospek Pengembangan Sensor Kimia dan Biosensor Berbasis Serat Optik di Indonesia*". Dalam *Makalah Seminar Kimia FMIPA UNEJ*. hal. 1-7. Jember : Universitas Jember.
- Marcos, S., Assensio, C., Urunuela, I., Gallarta, F., Galban, J. dan Castillo J. R. 2000. "*New Approach to Polyaniline Optical Sensors : pH, Acetic Acid and Ammonia Determination*". Dalam *Journal Quimica Analitica*. Vol. 19. p. 99-104.
- Miller, J. C. dan Miller, J. N. 1991. *Statistics for Analytical Chemistry*. England : Ellis Horwood, Ltd.
- National Research Development Corporation. Tanpa tahun. *Urea Biosensor*. India
- Timur, S. N., Pazarlioglu, R., Pilloton R. dan Telefoncu A. 2004. "*Thick Film Sensors Based on Laccases from Different sources Immobilized in Polyaniline Matrix*". Dalam *Journal Sensors and Actuators B*. Vol. 97. p. 132-136.
- Yang, Y dan Huang, H. 2001. "A *Polyaniline-Modified Electrode Based FIA System for Sub ppb Level Chromium (VI) Analysis*". Dalam *Journal Analytical Chemistry*. Vol. 73. p. 1377-1381

