

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini, rancangan yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik yang didasarkan pada potensiometri, yang menggunakan ESI merkuri tipe kawat terlapis bermembran kitosan untuk menentukan pH dan temperatur optimal, dimana kedua faktor tersebut memberikan respon pengukuran yang baik (sesuai dengan standar validasi yang ditetapkan). Rentang pH yang digunakan adalah 3; 4; 5; 6,7 dan 8 temperatur pada rentang (20; 30; 40; 50)<sup>o</sup>C.

#### 4.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini berupa larutan merkuri dengan konsentrasi  $1 \times 10^{-1}$ ;  $1 \times 10^{-2}$ ;  $1 \times 10^{-3}$ ;  $1 \times 10^{-4}$ ;  $1 \times 10^{-5}$ ;  $1 \times 10^{-6}$ ;  $1 \times 10^{-7}$ ;  $1 \times 10^{-8}$  M yang dibuat dari  $\text{HgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

#### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga Juni 2012 di Laboratorium Farmasi Polinema, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 4.4 Bahan dan Alat

##### 4.4.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah merupakan bahan yang mempunyai derajat kemurniaan pro analisis (p.a) antara lain adalah asam nitrat ( $\text{HNO}_3$  65% b/v), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$  30% b/v), etanol 96% (b/b), dan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  100% b/b). Sedangkan bahan-bahan lainnya yang tidak mensyaratkan derajat kemurniaan p.a, yaitu bubuk kitosan dengan derajat asetilasi 65%, polimer PVC, pemlastis DOP, pelarut THF, kabel koaksial RG-58, kawat platina, plastik polietilen, tip mikropipet 1,0 mL, dan akuades. Bahan lain yang digunakan adalah garam merkuri(II) klorida ( $\text{HgCl}_2$ ), dan kertas parafin (parafilm).

##### 4.4.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah potensiometer merk Schott Lab 850, pH meter merk Scott, elektroda pembanding kalomel, pengaduk magnetik (stirer), termometer, neraca analitik, botol semprot, botol sampel, bola hisap, oven, dan seperangkat peralatan gelas dan plastik.

#### 4.5 Prosedur Penelitian

Langkah-langkah yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah preparasi larutan, pembuatan membran kitosan, pembuatan ESI merkuri berbasis kitosan, dan pengukuran pengaruh potensial oleh pH dan temperatur.

#### 4.5.1 Preparasi Larutan

##### 4.5.1.1 Pembuatan Larutan Induk Merkuri 0,25 M

Larutan induk merkuri (II) ( $\text{Hg}^{2+}$ ) yang akan dibuat yaitu larutan dengan konsentrasi 0,25 M, larutan ini digunakan untuk optimasi perendaman membran. Langkah yang dilakukan adalah melarutkan  $\text{HgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dengan akuades. Sebanyak 6,7875 gram  $\text{HgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL dan ditambahkan akuades sampai garis batas.

##### 4.5.1.2 Pembuatan Larutan Uji Merkuri $1 \times 10^{-1}$ – $1 \times 10^{-8}$ M

Pembuatan larutan uji merkuri  $1 \times 10^{-1}$  –  $1 \times 10^{-8}$  M digunakan untuk mengukur harga potensial ESI merkuri tipe kawat terlapis. Langkah pertama yang dilakukan adalah mengambil larutan induk  $\text{Hg}^{2+}$  konsentrasi 0,25 M sebanyak 40,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL dan ditambahkan akuades sampai garis tanda batas. Larutan dikocok sampai homogen, dan diperoleh larutan  $\text{Hg}^{2+}$  dengan konsentrasi  $1 \times 10^{-1}$  M.

Larutan uji merkuri  $1 \times 10^{-2}$  –  $1 \times 10^{-8}$  M dibuat dengan pengenceran bertingkat dengan rumus  $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ . Larutan  $\text{Hg}^{2+}$   $1 \times 10^{-1}$  M diambil sebanyak 10,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dikocok sampai homogen. Untuk larutan uji merkuri konsentrasi  $1 \times 10^{-3}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M maka mengambil masing-masing 10,0 mL satu konsentrasi di atasnya dan diperlakukan seperti cara di atas.

#### 4.5.1.3 Pembuatan Larutan Bufer Fosfat pH 3-8

Larutan bufer fosfat pH 3 – 8 dibuat untuk menjadikan larutan yang akan diuji agar mempunyai pH yang diinginkan. Larutan ini dibuat dengan menambahkan NaOH 0,1 M dengan volume tertentu ke dalam larutan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M 50,0 mL sampai pH meter menunjukkan pH 3 – 8. Penambahan volume NaOH 0,1 M berbeda-beda tergantung kebutuhan.

#### 4.5.1.4 Pembuatan Larutan Uji Merkuri $1 \times 10^{-1}$ – $1 \times 10^{-8}$ M pH 3-8

Larutan uji merkuri  $1 \times 10^{-1}$  –  $1 \times 10^{-8}$  M diambil sebanyak 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam botol sampel. Kemudian larutan dikondisikan pada pH 3-8 dengan penambahan bufer yang sebelumnya telah dibuat sambil distirer agar larutan menjadi homogen.

#### 4.5.2 Pembuatan Membran Kitosan

Kitosan yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu dengan menimbang 1 gram bubuk kitosan ke dalam 40,0 mL asam asetat 3% (v/v). Kemudian diaduk menggunakan stirer selama 24 jam. Selanjutnya kitosan ditambahkan dengan NaOH 0,1 M hingga pH kitosan menjadi pH 5.

Membran yang akan dibuat merupakan campuran antara kitosan, PVC dan DOP. Langkah pertama yang dilakukan adalah mencampurkan kitosan yang telah dilarutkan dengan PVC dan DOP. Berat dari total campuran membran sebesar 1 gram. Komposisi bahan yang digunakan adalah Kitosan : PVC : DOP = 3 : 39 : 58.

Pencampuran yang pertama dilakukan adalah antara kitosan dengan DOP. Kemudian ditambahkan PVC dan dilarutkan ke dalam 3,0 mL pelarut

THF, perbandingan berat komposisi membran : volume THF = 1 : 3. Lalu diaduk dengan pengaduk magnetik selama 3 jam sampai diperoleh larutan yang homogen dan tidak terdapat gelembung udara. Pada saat pengadukan, larutan ditutup dengan kertas parafin agar pelarut tidak menguap.

#### **4.5.3 Pembuatan ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis Bermembran Kitosan**

Campuran kitosan gel yang telah terbentuk pada prosedur sebelumnya dilapiskan pada kawat platina. Kawat platina yang digunakan berukuran 5 cm dengan diameter 0,5 cm. Pertama-tama, ujung bawah kawat Pt dicuci bersih dari kotoran dan lemak menggunakan asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) pekat sebanyak 3 kali dan akuades sebanyak 3 kali serta etanol sebanyak 3 kali. Pencucian ini dilakukan pada lemari asam. Lalu dikeringkan pada suhu ruang dengan waktu kurang lebih 30 menit.

Selanjutnya, campuran membran dilapiskan pada kawat platina dengan cara mencelupkan ujung kawat platina  $\pm 1,5$  cm ke dalam campuran membran selama beberapa saat sampai membran menempel pada kawat platina. Pencelupan dilakukan hingga beberapa kali agar diperoleh membran yang tipis dan merata. Setelah membran menempel, kawat dikeringkan pada suhu ruang (temperatur  $\pm 25$  °C) selama 30 menit dan dilanjutkan pemanasan pada suhu 50°C dalam oven selama 12 jam. Setelah dingin, elektroda direndam pada larutan merkuri 0,25 M selama 40 menit lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan pada suhu ruang selama 10-60 menit.

#### 4.5.4 Pengukuran pH dan Temperatur Optimal pada ESI Merkuri Berbasis Kitosan

##### 4.5.4.1 pH

Untuk mengetahui pH optimal ESI merkuri, dilakukan pengukuran larutan merkuri pada berbagai pH pada rentang 3-8 dengan konsentrasi merkuri  $1 \times 10^{-1}$  –  $1 \times 10^{-8}$  M. Pengukuran dilakukan selama 30 detik. Besar penyimpangan dari harga faktor *Nernst* digunakan untuk menentukan pH optimal ESI merkuri berbasis kitosan.

##### 4.5.4.2 Temperatur

Untuk mengetahui temperatur optimal ESI merkuri, dilakukan pengukuran larutan uji merkuri konsentrasi  $1 \times 10^{-1}$  –  $1 \times 10^{-8}$  M pada temperatur (20; 30; 40; 50) °C. Besar penyimpangan dari harga faktor *Nernst* yang digunakan untuk menentukan temperatur optimal ESI merkuri berbasis kitosan.

#### 4.6 Analisis Data

##### 4.6.1 pH

Berdasarkan data yang diperoleh, dibuat kurva hubungan  $-\log [\text{Hg(II)}]$  dengan potensial yang terukur sehingga didapatkan harga faktor Nernst sebagai lereng kurva. Lalu dibuat kurva hubungan antara pH (sumbu x) dengan harga faktor Nernst (sumbu y). Adanya penyimpangan dari harga faktor Nernst dari harga teoritis  $29 \pm 5$  mV/dekade konsentrasi menunjukkan adanya pengaruh pH terhadap kinerja ESI merkuri berbasis kitosan sehingga dapat ditentukan pH optimal untuk ESI merkuri berbasis kitosan.

#### 4.6.2 Temperatur

Berdasarkan data yang diperoleh, dibuat kurva hubungan  $-\log [\text{Hg(II)}]$  dengan potensial yang terukur sehingga didapatkan harga faktor Nernst. Lalu dibuat kurva hubungan antara suhu (sumbu x) dengan harga faktor Nernst (sumbu y). Adanya penyimpangan dari harga faktor Nernst menunjukkan adanya pengaruh temperatur terhadap kinerja ESI merkuri berbasis kitosan sehingga dapat ditentukan temperatur optimal untuk ESI merkuri berbasis kitosan.

#### 4.6.3 Penentuan Ketelitian dan Ketepatan

Ketelitian merupakan kesesuaian antara data hasil pengulangan dari suatu jumlah yang diukur. Perhitungan rata-rata hasil pengukuran ditunjukkan pada rumus:

$$\bar{x} = \sum_i \frac{x_i}{n} \quad (7)$$

Keterangan:

$\bar{x}$  = rata-rata nilai potensial

$x_i$  = nilai potensial ke-i

i = pengulangan ke-i

n = jumlah pengulangan

Ketepatan hasil pengukuran dapat ditentukan dengan menghitung SD (standar deviasi) dan CV (*coefficient of variation*) atau % SD dari perlakuan percobaan:

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}}{(n - 1)} \quad (8)$$

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} 100\%$$

(9)

Keterangan:

SD = standart deviasi

$x_i$  = harga faktor nernst ke-i

$\bar{x}$  = rata-rata harga faktor nernst

$n$  = jumlah pengulangan

