

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian ekperimental berdasarkan prinsip potensiometri dengan mengukur potensial larutan merkuri (Hg^{2+}) menggunakan ESI merkuri tipe kawat terlapis berbasis kitosan dan elektroda pembanding kalomel.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Polinema, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan April - Juni 2013.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah potensiometer (merk Schott), elektroda pembanding kalomel (merk Schott), pengaduk magnetik (stirer), timbangan analitik, botol semprot, botol sampel, bola hisap, dan seperangkat peralatan gelas dan plastik.

4.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang mensyaratkan derajat kemurniaan pro analisis (p.a) dalam penelitian ini antara lain adalah merkuri (II) klorida

(HgCl_2), asam nitrat (65% b/v HNO_3), asam asetat glasial 100% (CH_3COOH), alkohol (96% b/v), dan THF (E-Merck). Sedangkan bahan-bahan yang tidak mensyaratkan derajat kemurniaan p.a, yaitu bubuk kitosan (Aldrich) dengan derajat asetilasi 65%, polimer PVC (Sigma), pemlastis DOP (Sigma), kabel koaksial RG-58, kawat platina (panjang 5 cm, diameter 0,5 mm), plastik polietilen (menggunakan tip mikropipet 1 mL), kertas parafin, dan akuades.

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 Preparasi Larutan

4.4.1.1 Pembuatan Larutan Induk Merkuri

Larutan induk merkuri Hg^{2+} konsentrasi 0,25 M dibuat sebanyak 100 mL. Padatan HgCl_2 (BM: 271,5) ditimbang sebanyak 6,7875 gram, kemudian dilarutkan dengan dengan akuades secara kuantitatif dalam labu ukur 100,0 mL.

4.4.1.2 Pembuatan Larutan Baku Merkuri

Larutan baku Hg^{2+} dibuat pada kisaran konsentrasi 1×10^{-1} – 1×10^{-8} M dengan melihat pada tabel 4.1. Larutan Hg^{2+} 1×10^{-1} M dibuat dari pengenceran larutan Hg^{2+} 0,25 M dengan cara mengambil 40,0 mL larutan Hg^{2+} 0,25 M, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100,0 mL secara kuantitatif dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Larutan dikocok sampai homogen.

Tabel 4.1 Pembuatan larutan baku Hg^{2+} $1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-8}$ M

Labu ukur yang digunakan	Konsentrasi Hg^{2+} yang diambil (M)	Volume Hg^{2+} yang diambil (mL)	Konsentrasi Hg^{2+} yang dihasilkan (M)
100,0 mL	0,25	40,0	10^{-1}
100,0 mL	10^{-1}	10,0	10^{-2}
100,0 mL	10^{-2}	10,0	10^{-3}
100,0 mL	10^{-3}	10,0	10^{-4}
100,0 mL	10^{-4}	10,0	10^{-5}
100,0 mL	10^{-5}	10,0	10^{-6}
100,0 mL	10^{-6}	10,0	10^{-7}
100,0 mL	10^{-7}	10,0	10^{-8}

4.4.1.3 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M

Larutan NaOH 0,1 M dibuat dengan cara melarutkan 1 gram padatan NaOH (BM: 40) dengan akuades secara kuantitatif dalam labu ukur 250,0 mL.

4.4.2 Pembuatan ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis Berbasis Kitosan

4.4.2.1 Preparasi Kitosan Cair pH 5

Kitosan cair dibuat dengan cara melarutkan 1 gram bubuk kitosan ke dalam 40 mL asam asetat 3%. Campuran tersebut diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 24 jam dengan kecepatan sedang sampai homogen. Setelah itu, kitosan cair yang telah jadi ditambahkan NaOH 0,1 M hingga mencapai pH 5 sambil distirer hingga homogen.

4.4.2.2 Pembuatan Membran ESI Merkuri Berbasis Kitosan

Pembuatan membran dilakukan dengan mencampurkan kitosan cair, PVC, dan DOP. Berat total campuran komposisi bahan membran sebesar 1 gram.

Perbandingan kitosan : PVC : DOP yang digunakan seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi bahan pembentuk membran ESI merkuri

Komposisi Membran	% Komposisi Bahan		
	Kitosan	PVC	DOP
1	2	40	58
2	3	39	58
3	4	40	56

Langkah pertama dalam proses pembuatan membran adalah mencampurkan PVC, DOP, dan kitosan. Setelah itu, ditambahkan 3 mL pelarut THF. Perbandingan berat komposisi membran : volume THF = 1 : 3. Selanjutnya, campuran membran diaduk dengan pengaduk magnetik selama \pm 3 jam sampai diperoleh larutan yang homogen dan tidak terdapat gelembung udara. Pada waktu pengadukan, larutan ditutup dengan kertas parafin agar pelarut tidak menguap.

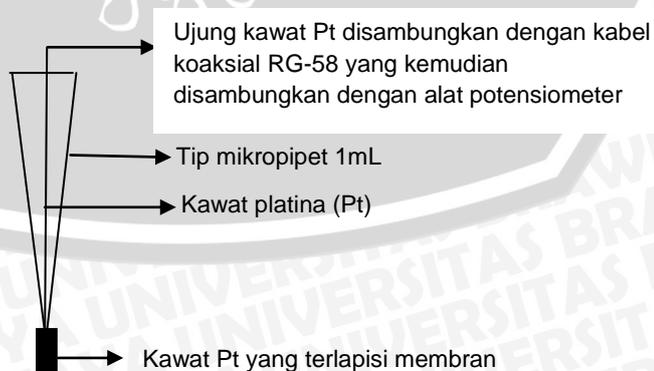
4.4.2.3 Pembuatan ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis

Badan elektroda dibuat dengan menggunakan kawat platina dengan panjang 5 cm dan diameter 0,5 mm. Pada bagian ujung bawah kawat platina sepanjang 1,5 cm dibiarkan terbuka sebagai tempat penempelan membran, sedangkan bagian lain ditutup dengan tip mikropipet. Ujung atas kawat platina disambungkan dengan kabel koaksial RG-58 sebagai penghubung ke potensiometer.

Ujung bawah kawat yang terbuka dibersihkan dari kotoran mekanik dan lemak dengan direndam dalam larutan HNO_3 65% selama 5 menit. Selanjutnya, dibilas dengan akuades dan alkohol 96% sebanyak tiga kali pengulangan. Lalu, dikeringkan pada suhu ruang.

4.4.2.4 Pelapisan Membran ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis

Pelapisan membran dilakukan dengan mencelupkan ujung kawat platina ke dalam larutan membran sampai larutan membran menempel dan melapisi seluruh permukaan kawat platina. Proses pencelupan elektroda tersebut dilakukan beberapa kali sehingga diperoleh membran yang tipis dan merata. Elektroda yang telah terlapis membran dikeringkan pada suhu ruang (25°C) dan dipanaskan dalam oven suhu 50°C selama 12 jam agar ketahanan membran meningkat. Setelah dioven, elektroda didinginkan pada suhu ruang. Gambar konstruksi ESI merkuri tipe kawat terlapis yang telah terlapis membran dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Konstruksi ESI Hg^{2+} tipe kawat terlapis bermembran kitosan

4.4.3 Optimasi Komposisi Membran ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis

ESI Hg^{2+} yang telah dibuat berdasarkan komposisi bahan penyusun membran seperti tabel 4.2, digunakan untuk mengukur potensial larutan Hg^{2+} konsentrasi 1×10^{-8} – 1×10^{-1} M sebanyak 10 mL. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Pengukuran potensial diulang sebanyak 3 kali. Kemudian, dari nilai potensial yang diperoleh, ditentukan harga faktor *Nernst*. Komposisi membran dinyatakan optimum jika harga faktor *Nernst* mendekati teoritis $29,5 \pm 5$ mV/ dekade konsentrasi.

4.4.4 Optimasi Waktu Perendaman Membran ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis

ESI Hg^{2+} direndam dalam larutan Hg^{2+} 0,25 M dengan variasi waktu 10; 20; 30; 40; 50; dan 60 menit. Selanjutnya, elektroda dicuci dengan akuades dan dikeringkan pada suhu ruang sebelum digunakan. Pengukuran potensial larutan Hg^{2+} konsentrasi 1×10^{-8} – 1×10^{-1} M sebanyak 10 mL diulang 3 kali. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Kemudian, dari nilai potensial yang diperoleh, ditentukan harga faktor *Nernst*. Waktu perendaman membran dinyatakan optimum jika harga faktor *Nernst* mendekati teoritis $29,5 \pm 5$ mV/ dekade konsentrasi.

4.4.5 Karakterisasi ESI Merkuri Tipe Kawat Terlapis

4.4.5.1 Faktor *Nernst* dan Rentang Konsentrasi Linier

Larutan Hg^{2+} konsentrasi $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-1}$ M diambil sebanyak 10 mL. Pembacaan potensial larutan Hg^{2+} dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Data hasil pengukuran yang diperoleh dibuat grafik hubungan potensial E (mV) dengan $-\log [\text{Hg}^{2+}]$. Grafik yang diperoleh merupakan regresi linier $y = ax + b$ berupa garis lurus pada rentang konsentrasi tertentu dengan kemiringan kurva (a) sebesar $29,5 \pm 5$ mV/ dekade konsentrasi yang merupakan harga faktor *Nernst*. Rentang konsentrasi linier diperoleh dari linieritas pada grafik potensial E (mV) dengan $-\log [\text{Hg}^{2+}]$.

4.4.5.2 Batas Deteksi

Batas deteksi diperoleh dengan membuat garis singgung pada fungsi garis lurus dan garis melengkung grafik potensial E (mV) terhadap $-\log[\text{Hg}^{2+}]$ yang keduanya saling memotong. Perpotongan kedua garis singgung diekstrapolasikan terhadap sumbu x sehingga melalui persamaan matematika dapat diketahui konsentrasi batas deteksi ESI Hg^{2+} yang dibuat.

4.4.5.3 Waktu Respon

Waktu respon ditentukan untuk mengetahui berapa waktu yang diperlukan ESI merkuri untuk mendapatkan harga

potensial tetap terhadap waktu. Dilakukan dengan cara mengukur potensial larutan Hg^{2+} konsentrasi $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-1}$ M sebanyak 10 mL. Setiap konsentrasi diukur potensialnya dengan selang waktu 10 detik selama 5 menit. Waktu respon ditetapkan ketika pembacaan potensial menunjukkan nilai stabil ± 1 mV.

4.5 Analisis Data

Perhitungan nilai rata-rata hasil pengukuran dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\bar{x} = \sum_i \frac{x_i}{n}$$

Keterangan:

\bar{x} = rata-rata nilai

x_i = nilai ke-i

i = pengulangan ke-i

n = jumlah pengulangan

Presisi atau ketepatan hasil pengukuran diperoleh dengan menghitung nilai SD (standar deviasi) dan KV (koefisien variasi).

Perhitungan SD dan KV dapat dihitung dengan persamaan:

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

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

$$\text{Presisi} = 100\% - CV$$

Keterangan:

SD = standart deviasi

KV = koefisien variasi

x_i = harga faktor *Nernst* ke-i

\bar{x} = nilai rata-rata harga faktor *Nernst*

n = jumlah pengulangan

Hasil dikatakan presisi jika memberikan nilai KV < 2%.

Akurasi atau ketelitian diketahui dengan menghitung persen (%) kesalahan relatif. Harga % kesalahan relatif yang semakin kecil (< 5%) menunjukkan semakin tinggi ketelitian hasil pengukuran. Perhitungan nilai akurasi dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kesalahan relatif} = \frac{|\bar{x} - x_i|}{\bar{x}} 100\%$$

$$\text{Akurasi} = 100 \% - \% \text{ kesalahan relatif}$$

Keterangan:

x_i = nilai pengukuran ke-i

\bar{x} = nilai rata-rata hasil pengukuran

