

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian ekperimental berdasarkan prinsip potensiometri dengan cara mengukur potensial larutan standart metanil yellow dari rentang konsentrasi 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} , dan 1×10^{-9} M menggunakan ESI metanil yellow tipe kawat terlapis berbasis alikuat 336-kitosan dengan elektroda pembanding kalomel.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium farmasetika, jurusan farmasi, fakultas kedokteran universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – April 2014.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah: Potensiometer Schott, elektroda pembanding kalomel Schott, pengaduk magnetik (stirer) IKA model C-Mag HS-7, batang magnetik, timbangan analitik Mettler Toledo, oven, dan peralatan gelas.

4.3.2 Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: metanil yellow (Merck), PbNO_3 1 %, ethanol 96% (b/v), alikuat 366-Cl (Sigma), PVC dengan BM

tinggi 160.000 (Sigma), DOP (Sigma), THF (Sigma), kabel koaksial RG-58, kawat platina, plastik polietilen, dan akuades.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Preparasi Larutan

4.4.1.1 Pembuatan Larutan Induk Metanil Yellow 0,05 M

Larutan induk metanil yellow konsentrasi 0,05 M (dengan berat molekul sebesar 375,38) dibuat sebanyak 50 mL. Padatan metanil yellow di timbang sebanyak 0,93845 gram, kemudian dilarutkan dengan akuades secara kuantitatif dalam labu ukur 50 mL.

4.4.1.2 Pembuatan Larutan Kerja Metanil Yellow

Larutan baku metanil yellow di buat pada konsentrasi 1×10^{-2} - 1×10^{-9} M. Larutan metanil yellow 1×10^{-2} M di buat dari pengenceran larutan metanil yellow 0,05 M dengan cara mengambil 20 mL larutan metanil yellow 0,05 M kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Larutan kemudian di kocok sampai homogen. Selanjutnya, larutan metanil yellow 1×10^{-3} M di buat dari pengenceran larutan metanil yellow 10^{-2} M dengan mengambil 5 mL, kemudian dipindahkan ke labu ukur 50 mL diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, begitu seterusnya sampai konsentrasi 10^{-9} M. Detail pembuatan larutan kerja metanil yellow dijelaskan pada Tabel 4.1.

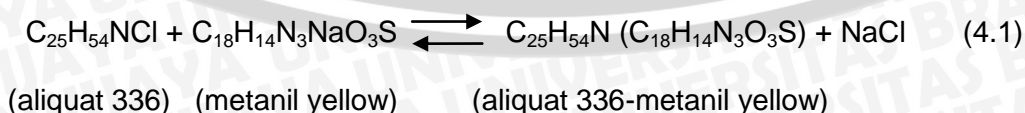
Tabel 4.1 Pembuatan Larutan Kerja Metanil Yellow 1×10^{-9} - 1×10^{-2} M

Volume total larutan (mL)	Konsentrasi metanil yellow yang diambil (M)	Volume metanil yellow yang diambil (mL)	Konsentrasi metanil yellow yang dihasilkan (M)
100	0,05	20	10^{-2}
50	10^{-2}	5	10^{-3}
50	10^{-3}	5	10^{-4}
50	10^{-4}	5	10^{-5}
50	10^{-5}	5	10^{-6}
50	10^{-6}	5	10^{-7}
50	10^{-7}	5	10^{-8}
50	10^{-8}	5	10^{-9}

4.4.2 Pembuatan ESI Metanil Yellow Kawat Terlapis

4.4.2.1 Pembuatan Aliquat 336 Metanil Yellow

Aliquat 336 metanil yellow di buat dari ekstraksi larutan aliquat 336 Cl dengan larutan metanil yellow 0,05 M. Larutan aliquat 336 Cl di pipet sebanyak 10 mL diukur di gelas ukur kemudian ditambahkan 10 mL larutan metanil yellow 0,05 M dengan pipet volume dan dikocok selama 10 menit dalam corong pisah, sehingga terjadi pengikatan metanil yellow pada aliquat 336 seperti pada reaksi 4.1. Setelah itu, larutan didiamkan kurang lebih 1 jam agar fasa organik dan fasa airnya terpisah sempurna. Setelah terpisah, fasa air dikeluarkan dari corong. Ekstraksi fase organik dilakukan sampai fase air terakhir tidak mengandung ion klorida. Untuk mengetahui ada tidaknya ion klorida, ditetaskan Pb Nitrat 1%. Jika masih fase air masih mengandung ion klorida maka akan terbentuk endapan putih dari $PbCl_2$.



4.4.2.2 Pembuatan Kitosan Cair

Pembuatan kitosan cair dilakukan dengan cara melarutkan 1 g bubuk kitosan ke dalam 40 mL asam asetat 3% (v/v). Selanjutnya campuran tersebut di aduk menggunakan pengaduk magnetik selama \pm 4 jam.

4.4.2.3 Pembuatan Membran ESI Metanil Yellow Berbasis Aliquat 336-Kitosan

Membran ESI metanil yellow tipe kawat terlapis berbasis aliquat 336- kitosan di buat dari aliquat 336 metanil yellow, kitosan, PVC, dan pemlastis DOP. Berat total campuran komposisi bahan membran tersebut sebesar 1 gram. Membran ESI yang digunakan dalam pengukuran di buat dengan menggunakan 3 komposisi berbeda yang tercantum pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perbandingan Komposisi Membran

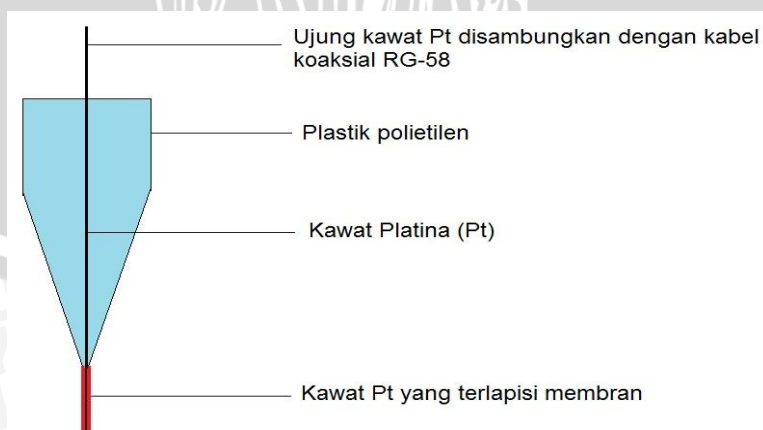
Komposisi Membran	% berat			
	Kitosan	Aliquat 336- Metanil yellow	PVC	DOP
I	0	4	32	64
II	5	0,5	34,5	60
III	4	0	32	64

Proses awal yang dilakukan adalah mengekstraksikan aliquat 336 Cl dengan larutan baku metanil yellow sampai didapat aliquat 336 metanil yellow lalu di campur dengan pemlastis, kemudian ditambah pelarut THF 3 ml dengan perbandingan berat komposisi membran : volume THF = 1 : 3. Setelah itu,

ditambahkan PVC sedikit demi sedikit. Selanjutnya, di aduk dengan pengaduk magnetik selama 3 jam sampai diperoleh larutan yang homogen dan tidak terdapat gelembung udara.

4.4.2.4 Pembuatan ESI Metanil Yellow Tipe Kawat Terlapis

Badan elektroda di buat dengan menggunakan kawat platina dengan panjang 5 cm dan diameter 0,5 mm. salah satu ujungnya sepanjang 1,5 cm dibiarkan terbuka sedangkan bagian lainnya di tutup dengan plastik polietilen yang bersifat inert. Pada ujung atas kawat disambungkan dengan kabel koaksial RG-58 sebagai penghubung ke potensiometer. Ujung kawat yang terbuka dibersihkan dari kotoran mekanik dan lemak dengan cara dicuci menggunakan asam nitrat 65% (b/v). Proses selanjutnya di bilas dengan menggunakan akuades dan alkohol 96% (b/v) sebanyak tiga kali pengulangan agar kotoran sisa pencucian dengan asam nitrat 65% bisa hilang. Lalu, dikeringkan dan dilanjutkan dengan melapisi ujung kawat Pt yang terbuka dengan membran ESI. Bagian ESI kawat terlapis ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 ESI Metanil Yellow Kawat Terlapis

4.4.2.5 Pelapisan Membran Metanil Yellow 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 di oven, elektroda didinginkan pada suhu ruang.

4.4.3 Optimasi Komposisi Membran ESI Metanil Yellow Tipe Kawat Terlapis

ESI metanil yellow yang telah dibuat berdasarkan komposisi bahan penyusun membran seperti Tabel 4.2 digunakan untuk mengukur potensial larutan metanil yellow konsentrasi 1×10^{-9} – 1×10^{-2} M sebanyak 15 mL. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Pengukuran potensial di ulang sebanyak 3 kali. Kemudian, dari nilai potensial yang diperoleh, ditentukan nilai faktor Nernst. Komposisi membran dinyatakan optimum jika nilai faktor Nernst mendekati teoritis yaitu 59,2 mV/ dekade konsentrasi.

4.4.4 Faktor Nernst dan Kisaran Konsentrasi Pengukuran

Penentuan faktor Nernst dilakukan dengan cara mengukur potensial yang dihasilkan oleh ESI metanil yellow pada variasi konsentrasi larutan uji Metanil yellow 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} dan 1×10^{-9} M dengan 3 kali pengulangan. Dalam pengukuran potensial larutan analit digunakan

elektroda kalomel sebagai elektroda pembanding. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan potensial yang konstan dengan cara mengamati hasil pengukuran pada saat alat menunjukkan nilai paling lama. Data hasil pengukuran yang diperoleh di buat grafik hubungan Esel (mV) sebagai sumbu y terhadap $-\log [C_{18}H_{14}N_3O_3S^-]$ sebagai sumbu x. Kurva yang diperoleh merupakan garis lurus pada kisaran konsentrasi tertentu dengan kemiringan sebesar $-2,303 RT/nF$ merupakan faktor Nernst. Kisaran konsentrasi linier ditunjukkan oleh garis lurus pada kurva hubungan E (mV) terhadap $(C_{18}H_{14}N_3O_3S^-)$.

4.4.5 Optimasi Waktu Perendaman Membran ESI Metanil Yellow Tipe Kawat

Terlapis

ESI Metanil yellow direndam dalam larutan metanil yellow 0,05 M dengan variasi waktu 5 ; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45; 50; 55 dan 60 menit. Selanjutnya, elektroda di cuci dengan akuades dan dikeringkan pada suhu ruang sebelum digunakan. Pengukuran potensial larutan metanil yellow konsentrasi 1×10^{-9} – 1×10^{-2} M sebanyak 10 mL diulang sebanyak 3 kali. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Kemudian dari nilai potensial yang sudah diperoleh, ditentukan nilai faktor Nernstnya. Waktu perendaman membran dinyatakan optimum jika nilai faktor Nernst mendekati teoritis sebesar 59,2 mV/ dekade konsentrasi.

4.5 Analisis Data

Perhitungan nilai rata-rata potensial hasil pengukuran dihitung dengan persamaan dalam persamaan 4.1.

$$\bar{x} = \sum_i \frac{x_i}{n} \quad (4.1)$$

Keterangan: \bar{x} = rata-rata nilai potensial; x_i = nilai potensial ke- i ; i = pengulangan ke- i ; n = jumlah pengulangan.

Selain menghitung nilai rata-rata potensial, salah satu persyaratan yang mendasar dalam suatu analisis adalah ketelitian dan ketepatan. Hasil analisis dapat dikatakan teliti (*precise*) jika dalam satu seri pengukuran mempunyai selisih yang sangat kecil antar satu nilai dengan nilai yang lain, sedangkan hasil analisis dikatakan tepat (*accurate*) jika nilai rata-rata hasil pengukuran mendekati nilai sebenarnya (*true value*) dari suatu jumlah yang diukur. Ketelitian hasil pengukuran yang diperoleh dapat ditentukan dengan menghitung nilai SD (standar deviasi) dan KV (koefisien variasi). Perhitungan SD dan KV dapat dihitung pada persamaan 4.2.

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}} \\ \text{KV} &= \frac{\text{SD}}{\bar{x}} 100\% \end{aligned} \quad (4.2)$$

Keterangan: SD = standart deviasi; KV = koefisien variasi; x_i = nilai faktor Nernst ke- i ; \bar{x} = rata-rata nilai faktor Nernst; n = jumlah pengulangan

Semakin kecil nilai SD dan KV dari seluruh hasil pengukuran, maka metode yang digunakan semakin teliti. Ketelitian dapat diketahui dengan menghitung % kesalahan relatif. Harga % kesalahan relatif yang semakin kecil (< 5%) menunjukkan semakin tinggi tingkat ketepatan hasil pengukuran.

Perhitungan % kesalahan relatif dapat menggunakan persamaan 4.3.

$$\% \text{ kesalahan relatif} = \frac{|\bar{x} - x_i|}{\bar{x}} 100\% \quad (4.3)$$

Keterangan: x_i = nilai faktor Nernst ke- i ; \bar{x} = rata-rata nilai faktor Nernst.

