

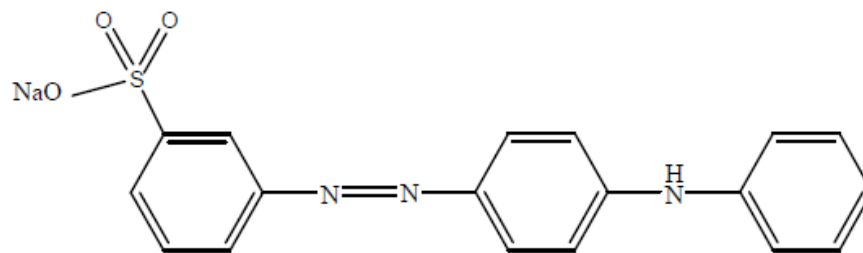
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metanil Yellow

Metanil yellow merupakan suatu pewarna sintetis yang dilarang digunakan di Indonesia sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/MenKes/Per/V/85 tentang "Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan Sebagai Bahan Berbahaya" (Menkes RI, 1985). Metanil yellow ($C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$) berbentuk serbuk kuning yang larut air dan dapat memberikan warna kuning pada makanan. Zat kimia ini banyak digunakan sebagai pewarna di berbagai negara berkembang (Nath, et al, 2013). Menurut BPOM, penyalahgunaan Metanil yellow di Indonesia banyak pada bahan-bahan makanan seperti krupuk, mie, tahu, jajanan-jajanan yang berwarna kuning, dan gorengan.

Metanil yellow masuk pada zat warna golongan azo yang memiliki struktur kimia pada Gambar 2.1, yang dilarang digunakan karena sifatnya yang toksik. Kelebihan zat ini adalah tidak memerlukan jumlah yang banyak untuk menciptakan intensitas warna yang sangat kuat, hanya memerlukan beberapa miligram zat warna ini untuk setiap kilogram pangan (BPOM, 2013). Salah satu keunggulan utama dari zat kimia metanil yellow adalah sifatnya yang sangat stabil. Namun berdasarkan bahan penyusunnya, metanil yellow disusun oleh bahan-bahan yang bersifat toksik, yaitu metanilat dan difenilamin. Penggunaan metanil yellow dalam industri digunakan pada pewarnaan wool, nilon, kulit, kertas, cat, aluminium, detergen, kayu, bulu, dan kosmetik (Supraptini, dkk, 2010).



Gambar 2.1 Struktur Metanil Yellow (Nath, et al, 2013).

Konsumsi metanil yellow sangat berbahaya pada kesehatan karena menyebabkan kerusakan yang tidak dapat diperbaiki pada sistem peroksidasi lemak pada hati, perubahan berat absolut dan relatif dari testis, perubahan pada parameter-parameter hematologi, berat badan, serum glukosa, kolesterol dari otak, hati, dan jantung ketika dikonsumsi secara tetap pada waktu yang lama (Nath, et al, 2013). Selain itu menurut Wirasto (2008), Metanil yellow dapat larut dengan baik dalam air sehingga mudah dan cepat saat terjadi penyebaran ke lingkungan. Metanil yellow dapat menyebabkan iritasi pada mata, kulit dan saluran pernafasan. Metanil yellow dapat menimbulkan tumor dalam berbagai jaringan hati, kandung kemih, saluran pencernaan atau bahkan di jaringan kulit.

Untuk membedakan apakah produk pangan menggunakan Metanil yellow dan tidak, biasanya produk pangan yang menggunakan Metanil yellow berwarna kuning menyolok dan cenderung berpendar, selain itu banyak memberikan titik-titik warna yang tidak homogen. Namun tidak semua produk makanan yang mengandung Metanil yellow dapat diamati secara visual dan secara langsung, sehingga memerlukan test dengan metode tertentu (Lubis dan Lutfi, 2010).

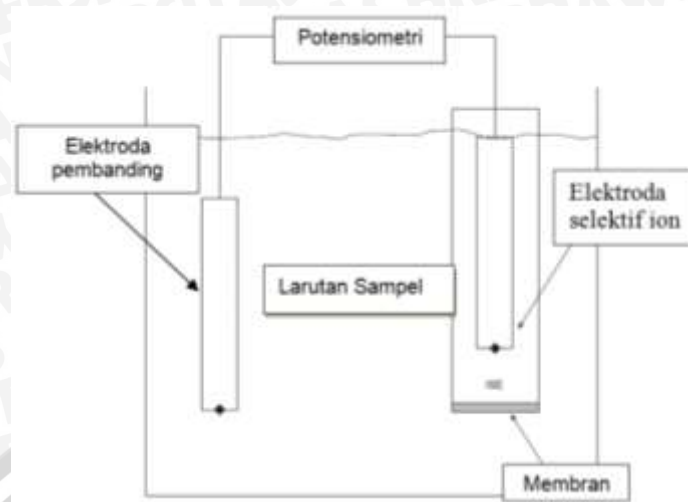
Analisis yang sampai saat ini digunakan untuk mendeteksi zat warna Metanil yellow pada produk makanan dan minuman. Analisis tersebut terdiri atas analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif. Analisis yang ada tersebut antara lain adalah kromatografi lapis tipis kinerja tinggi dua arah (Xia Li-Ya, et al, 2009),

high performance liquid chromatography (Yue, et al, 2006), dan yang terbaru adalah spektrofotometri sinar tampak (Nath, et al, 2013).

2.2 Elektroda Selektif Ion (ESI)

Elektroda selektif ion (ESI) adalah setengah sel paro elektrokimia (elektroda) yang menggunakan membran ion sebagai sensor. Oleh karena itu ESI akan lebih merespon analit yang disensornya dibandingkan ion lain yang berada bersama-sama dalam sampel (Atikah, 1994). Elektroda selektif ion merupakan suatu sensor elektrokimia yang peka terhadap aktifitas ion larutan analit yang diukur ditandai dengan perubahan potensial secara reversibel (Gea, 2005). Menurut Gandjar (2005) ESI ini disebut selektif karena biasanya hanya peka terhadap salah satu ion saja.

Elektroda selektif ion merupakan salah satu sensor kimia yang menggunakan prinsip potensiometri. Potensiometri adalah pengujian dengan prinsip fisikokimia yang menggunakan peralatan listrik tertentu untuk mengukur adanya beda potensial antar elektroda indikator. Rangkaian alat potensiometri ditunjukkan oleh Gambar 2.2. Besarnya nilai potensial elektroda indikator ini tergantung pada konsentrasi ion-ion tertentu dalam larutan analit (Gandjar, 2009). Ion-ion tersebut akan dikenali oleh elektroda melalui mekanisme reaksi kesetimbangan kimia (pertukaran ion) pada permukaan sensor yang mengandung suatu komponen yang akan bereaksi secara kimia dan secara reversibel dengan analit yang kontak dengan membran. Komponen yang berperan dalam berlangsungnya reaksi tersebut adalah membran selektif ion yang melapisi permukaan sensor (Cattrall, 1997).



Gambar 2.2 Rangkaian Alat pada Pengukuran ESI (Harvey, 2000)

Suatu elektroda selektif ion harus memiliki beberapa sifat agar elektrode tersebut mempunyai sensitivitas dan selektivitas yang baik terhadap kation dan anion tertentu. Sifat tersebut antara lain (Agustiani, 2007):

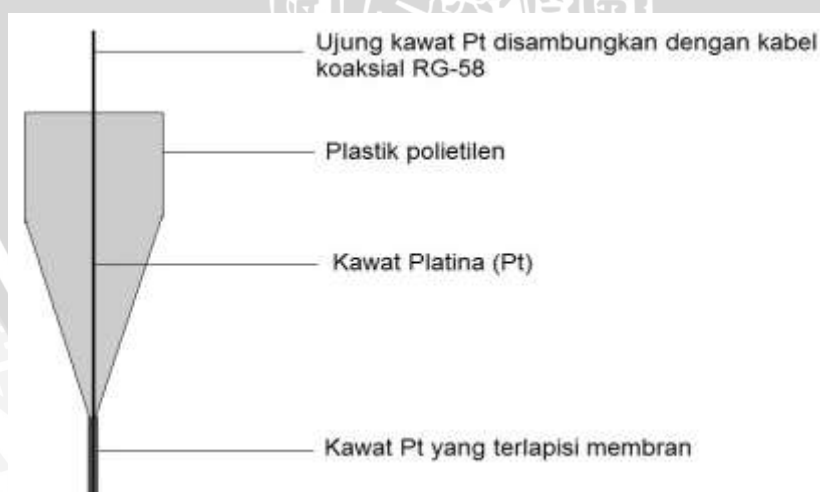
1. Tidak larut air
2. Dapat menghantarkan listrik
3. Bereaksi secara selektif dengan ion-ion analit melalui tiga tipe ikatan, yaitu pertukaran ion, kristalisasi, dan kompleksasi.

Keunggulan dari metode ESI adalah waktu yang relatif cepat untuk analisis, preparasi dan prosedur mudah, respon yang ditimbulkan cepat, pengoperasian mudah, selektif, dan murah (Atikah et al, 2012). Selain itu ESI memberikan hasil analisis yang kuantitatif meskipun dalam konsentrasi yang kecil, memiliki gangguan cukup kecil, dan prosedur analisisnya sederhana (Ningsih, 2008).

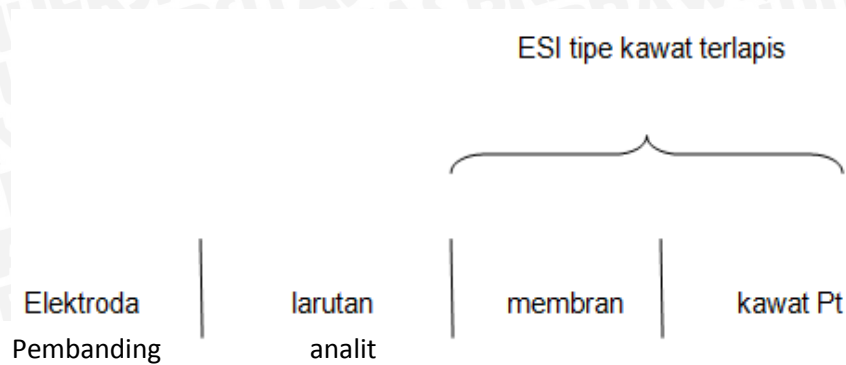
2.3 Elektroda Selektif Ion (ESI) Tipe Kawat Terlapis

Elektroda selektif ion memiliki banyak tipe, antara lain ESI kawat terlapis, ESI tipe tabung, dan ESI pendeteksi gas (Laksminarayanaiah, 1976). ESI kawat terlapis lebih sederhana dibandingkan konstruksi pada ESI tipe tabung. Pada ESI tipe kawat terlapis memakai konduktor elektronik seperti kawat Pt, Ag, Cu, dan C yang dilapisi membran selektif ion, yang pada tipe ESI tipe tabung lebih rumit menggunakan sistem pembanding dalam (Laksminarayanaiah, 1976).

Kelebihan lain ESI tipe kawat terlapis selain lebih sederhana adalah memiliki karakteristik yang sama dan kadang-kadang lebih baik daripada ESI tipe tabung, tidak memerlukan larutan pembanding dalam, dapat menentukan konsentrasi analit dalam jumlah renik (perlu sampel sedikit), konstruksinya sederhana dan praktis, relatif murah, dan ukurannya kecil (sekitar 1-2 mm), dapat digunakan dalam posisi miring yang sesuai untuk kebutuhan in vivo (Bailey, 1976). Konstruksi dari ESI tipe kawat terlapis ditunjukkan oleh Gambar 2.3, dan skema sel ESI tipe kawat terlapis ditunjukkan oleh Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Konstruksi ESI Tipe Kawat Terlapis



Gambar 2.4 Skema Sel ESI Tipe Kawat Terlapis (Wygladacs, 2006)

2.4 Membran Elektroda Selektif Ion (ESI)

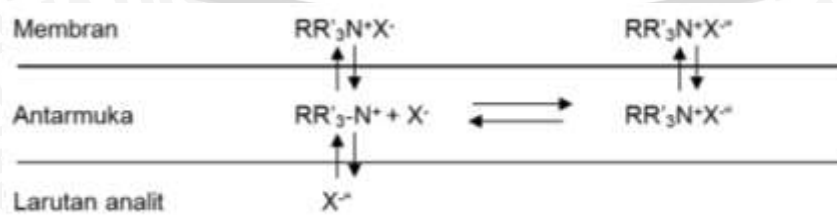
Membran adalah komponen penting dari ESI yaitu suatu lapisan yang memisahkan dua fasa dan mengatur perpindahan massa dari kedua fasa yang dipisahkan. Adanya transpor massa dari satu fasa ke fasa lain disebabkan oleh gaya dorong seperti perbedaan konsentrasi, tekanan maupun potensial listrik dimana kinerja membrane dinyatakan oleh permeabilitas dan selektivitas membrane dengan ion yang disensor (Mulder, 1996 dalam tesis Kurniasih, 2012). Elektroda selektif ion bermembran cair adalah suatu elektroda yang membrannya berupa cairan senyawa organik dengan berat molekul tinggi dan tidak larut dalam air sehingga memungkinkan terjadinya pertukaran ion antara ion bebas dalam larutan yang diukur dengan ion-ion pada molekul *carrier* membran (Day dan Underwood, 2002).

Membran adalah bagian terpenting dari ESI. Membran adalah suatu lapisan yang memisahkan dua fasa dan mengatur perpindahan massa (dalam hal ini ion) dari kedua fasa yang dipisahkan. Sifat yang harus dimiliki membran selektif ion agar ESI memiliki sensitivitas dan selektivitas yang baik terhadap ion yang disensornya adalah (Atikah, 1994):

1. Bersifat hidrofobik dan mempunyai tetapan dielektrik tinggi

2. Menghantarkan listrik meskipun kecil $\approx 10^6 (\Omega\text{cm})^{-1}$ yang ditimbulkan migrasi ion dan dapat dicapai dengan porositas rendah yang memiliki kerapatan muatan tinggi
3. Dapat bereaksi dengan ion analit
4. Bersifat lentur (fleksibel) sehingga ion-ion di dalamnya memiliki mobilitas tinggi dan dapat bermigrasi, walaupun mobilitas bukan merupakan faktor utama yang menentukan selektifitas.

Umumnya, membran ESI bersifat permselektif yakni memiliki matriks dengan gugus ionik tetap, sehingga membran bermuatan tetap. membran akan menjadi media bagi transpor ion-ion tertentu untuk melakukan pertukaran secara spesifik dalam rentang konsentrasi tertentu (Bailey 1976 dalam skripsi Zulkarnain, 2011). Pada bagian luar membran akan bersentuhan langsung dengan larutan, maka *carrier* (bahan aktif) membran mengalami disosiasi menjadi ion-ion bebas pada antarmuka membran. Hal tersebut dapat menyebabkan permukaan membran bermuatan positif sehingga anion-anion dari ion sejenis yang berasal dari larutan bermigrasi menuju permukaan membran. Selanjutnya ion-ion saling menggantikan posisinya untuk berikatan dengan gugus tetap membran dna pertukaran ion ini akan terus berlangsung sampai mencapai kesetimbangan elektrokimia. Kesetimbangan ini akan menghasilkan nilai beda potensial pada antarmuka membran larutan (Bailey, 1976). Mekanisme reaksi secara umum yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Gambar Mekanisme Reaksi Pertukaran Ion (Bailey, 1976)

Mekanisme pertukaran ion pada membran oleh Gross *et al* (2008) dinyatakan sesuai Persamaan 2.1. Sedangkan beda potensial yang terjadi ditunjukkan dengan persamaan Nernst sesuai dengan Persamaan 2.2, dengan E = potensial elektroda, E° = potensial standar elektroda, R = konstanta gas (8,314 JK⁻¹ mol⁻¹) T = suhu (K), F = bilangan Faraday (96, 485 Cmol⁻¹), n = muatan anion/kation analit, a_x = aktivitas anion target (Bailey, 1976).



$$E = E^{\circ} \pm \frac{2,303 RT}{nF} \log a_{x-air} \dots\dots\dots 2.2$$

2.5 Komponen Penyusun ESI Metanil Yellow Tipe Kawat Terlapis

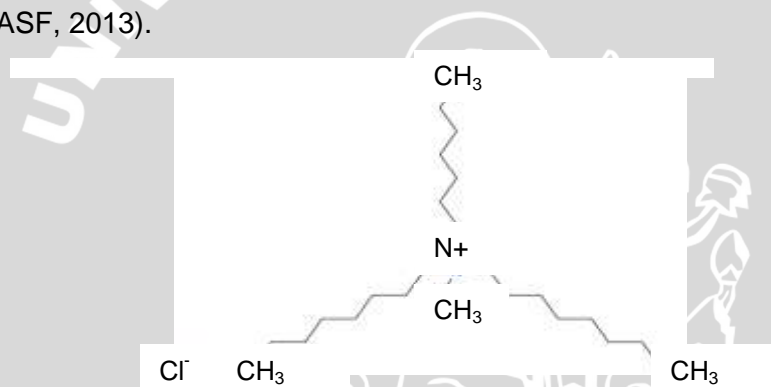
Elektroda selektif ion metanil yellow terdiri dari badan elektroda, konduktor elektronik kawat platina (Pt), membran yang digunakan sebagai bahan pengenal (sensor ion) dalam ESI terdiri dari *carrier* (bahan aktif) senyawa Aliquat-336-metanil yellow dan kitosan, bahan pendukung polimer PVC, plasticizer DOP dalam pelarut tetrahidrofur (THF).

Sebagai badan elektroda ESI digunakan plastik polietilen, karena bersifat inert dan merupakan isolator yang baik (Lakshminarayanaiah, 1976). Konduktor logam yang digunakan dalam ESI kawat terlapis adalah kawat platina, tetapi perak, tembaga dan grafit juga dapat digunakan. Platina merupakan logam yang memiliki sifat konduktivitas yang baik dan bersifat inert (Pouretedal, 2006).

Sebagai *carrier* membran digunakan senyawa garam amonium kuarterner Aliquat-336 yang memiliki rumus kimia CH₃N⁺[(CH₂)₇CH₃] dan kitosan. Aliquat-336 merupakan larutan ionik, yang tersusun atas amonium klorida kuartener (O'Rourke, et al, 2011) dengan struktur kimia pada Gambar 2.6. Aliquat-336

adalah garam amonium kuartener yang tidak larut dalam air. Aliquat-336 dapat membentuk garam larut minyak dari spesies anionik. Aliquat-336 dibentuk oleh kation organik yang sangat besar yang dapat berhubungan dengan ion klorida (BASF, 2013).

Berdasarkan struktur amoniumnya, Aliquat-336 memiliki rentang pH yang lebih lebar dari amonium primer, sekunder, atau tersier. Oleh karena itu, aliquat-336 dapat digunakan pada kondisi pH asam hingga sedikit alkali. Berat molekul rata-rata dari aliquat-336 adalah 442 g/mol. Dengan titik didih sebesar 132 °C dan titik leleh -14 °C. Berat jenis Aliquat-336 adalah sekitar 0,88 g/cm³ pada 35 °C (BASF, 2013).

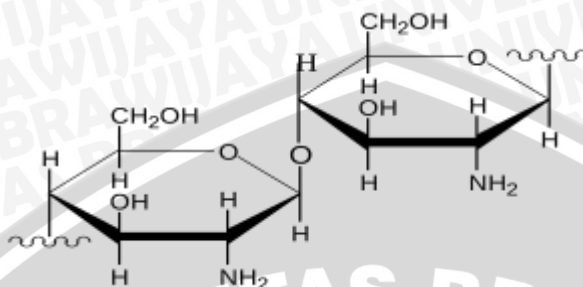


Gambar 2.6 Struktur Aliquat-336

Carrier kedua yang digunakan adalah kitosan yang merupakan turunan kitin yang telah diasetilasi menggunakan basa kuat. Kitosan mengalami protonasi pada gugus amino di glukosamin pada kondisi asam dibawah pKa-nya (pKa 6,3), sehingga mengubah gugus amino menjadi RNH_3^+ yang dapat berfungsi sebagai penukar ion dalam membran. Ion positif pada kitosan dapat berikatan dengan ion negatif zat warna (Yahaya, et al., 2008).

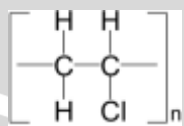
Menurut Shetty (2006) Kitosan adalah bahan *biodegradable*, biokompatibel, dan tidak toksik. Derajat deatilasi yang tinggi (lebih dari 60%) yang membuat jumlah gugus amina (NH_2) berikatan dengan ion sehingga terjadi

pembentukan ion kompleks dari kitosan. Pembentukan ion kompleks tersebut dari tiga cara yaitu adsorpsi dengan ion alkali, pertukaran ion, dan pembentukan khelat. Struktur dari kitosan ditunjukkan Gambar 2.7.

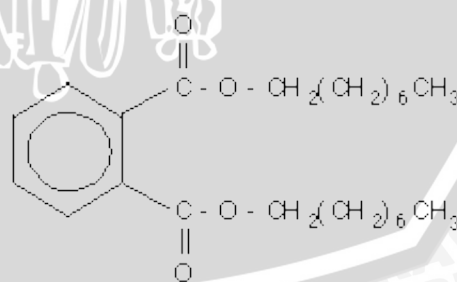


Gambar 2.7 Struktur Kitosan

Bahan pendukung yang digunakan bertujuan untuk meningkatkan kestabilan mekanik dan homogenitas membran. Bahan pendukung yang dipilih adalah PVC yang banyak digunakan pada membran ESI karena memiliki pori-pori kecil (Lewis, 1997 dalam Zulkairnain 2011) stabil dalam kondisi asam atau basa (Souza, et al, 2006), bersifat hidrofobik sehingga tidak *swelling* (Sombastri, 2008), Tg dari PVC relatif tinggi (80°C) sehingga bersifat kaku. Selain itu PVC sebagai matriks akan membentuk fasa membran yang tidak larut dalam air, tidak mudah menguap yang memiliki parameter kelarutan sebesar 9,45 (cal/cm³)^{1/2} (Atikah, 1994). Struktur PVC ditunjukkan oleh Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur PVC

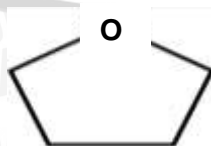


Gambar 2.9 Struktur DOP

Bahan *plasticizer* yang digunakan adalah DOP (C₂₄H₃₈O₄) yang strukturnya ditunjukkan oleh Gambar 2.9. DOP merupakan diester aromatic

dengan viskositas yang tinggi (81,4 cp) pada temperatur 20 °C (Sax dan Lewis, 1987 dalam Zulkarnain, 2011), memiliki berat molekul 390, 56 g/mol dan volatilitas rendah 4,5%. Selain itu DOP memiliki kelarutan dalam air yang kecil yaitu 0,01% dan harga parameter kelarutan $7,9 \text{ (cal/cm}^3)^{1/2}$ (Stark, 2008). DOP juga tidak mudah menguap dan memiliki tetapan dielektrik kategori rendah 5,0 (Tehrani, *et. al.*, 2010). Tujuan penambahan DOP pada membran dilakukan untuk mengurangi kekakuan sehingga membran menjadi lebih elastis dan mampu mengkondisikan temperature transisi gelas di bawah temperatur kamar agar membran yang terbentuk mampu menghantarkan listrik sehingga memungkinkan adanya mobilitas ion-ion (Zulkarnain, 2011) sehingga untuk membuat membran menjadi homogeny dengan penggunaan PVC, maka diperlukan penambahan bahan plasticizer lebih banyak dua kali daripada jumlah PVC (Shamsipur, 2007 dalam Faridbod, *et al*, 2008).

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan membran adalah THF. Tetrahidrofuran (THF) merupakan senyawa organik heterosiklik dengan rumus kimia $(\text{CH}_2)_4\text{O}$ yang memiliki nilai tetapan dielektrik 7,6, viskositas rendah dan harga parameter kelarutan THF sebesar $9.10 \text{ (cal/cm}^3)^{1/2}$. THF juga memiliki titik didih 660 °C dan berat molekul yaitu 72,12 g/mol, larut dalam air dan memiliki densitas sebesar 2.5. Penggunaan THF pada pembuatan membran ESI bertujuan menghomogenkan komponen membran ESI dimana penggunaan PVC yang merupakan asam lewis, maka akan diperlukan pelarut yang bersifat basa lewis seperti THF (Lazo, 2000). Struktur kimia THF ditunjukkan oleh Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Struktur THF

2.6 Karakterisasi ESI

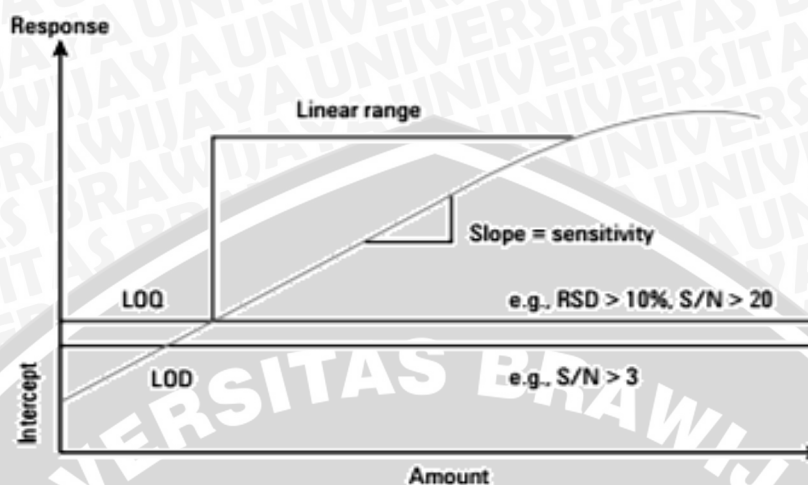
Elektroda Selektif Ion memiliki beberapa karakteristik dasar yang dapat menentukan kualitas ESI. Kualitas ESI tersebut menunjukkan layak atau tidaknya suatu ESI digunakan dalam pengukuran. Menurut Kunusa (2011), ESI harus memenuhi faktor Nernst. Selain itu, idealnya ESI harus memiliki rentang konsentrasi linier yang lebar (10^{-5} - 10^{-1} M), konsentrasi batas deteksi yang rendah (10^{-6} M), waktu respon yang cepat (<1 menit), dan waktu pemakaian yang lama (> 5 bulan).

2.6.1 Faktor Nernst dan Rentang Konsentrasi Linier

Faktor Nernst merupakan karakteristik terpenting dalam elektroda selektif ion. Faktor Nernst menunjukkan beda potensial yang spesifik terhadap ion tertentu ketika ion tersebut melewati membran atau kepekaan elektroda terhadap ion tertentu. Faktor Nernst ditunjukkan oleh kemiringan (slope) pada garis lurus yang diperoleh dari grafik hubungan antara E (mV) pada sumbu y vs $-\log [C_{18}H_{14}N_3O_3S]$ pada sumbu x . Faktor Nernst teoritis untuk ion monovalen adalah $59,2 \pm 5$ mV/dekade dan ion divalen sebesar $29,6 \pm 5$ mV/dekade (Kunusa, 2011).

Rentang konsentrasi linier menunjukkan interval dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi lebih rendah dari analit dalam sampel pada kurva yang menunjukkan respon linier (Huber, 2010). Rentang konsentrasi linier penting untuk diketahui pada ESI karena pada aktivitas ion target yang sangat rendah atau tinggi terdapat deviasi/penyimpangan dari linieritas. Rentang konsentrasi ESI dinyatakan sebagai batas konsentrasi yang mana kurva potensial E (mV) terhadap $-\log C$ konsentrasi masih memberikan garis lurus sehingga masih memenuhi persamaan Nernst. Rentang konsentrasi linier dari suatu ESI terletak

pada konsentrasi antara $10^{-1}M$ - $10^{-5}M$ (Wroblewski, 2005). Gambar 2.11 adalah grafik yang menunjukkan rentang konsentrasi linier.

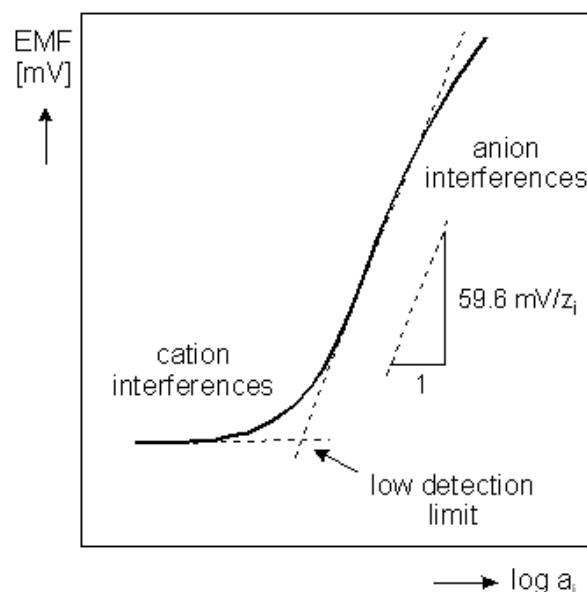


Gambar 2.11 Grafik Rentang Konsentrasi Linier (Huber, 2010)

2.6.2 Batas Deteksi

Batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) menunjukkan jumlah terendah dari analit dalam sampel yang dapat dideteksi (tetapi tidak harus secara kuantitatif) sesuai kondisi percobaan, dan masih memberi respon yang signifikan jika dibandingkan dengan blanko (Huber, 2010). Dengan demikian, uji batas deteksi hanya membuktikan bahwa jumlah analit di atas atau di bawah tingkat tertentu. Pada ESI, batas deteksi merupakan konsentrasi terendah dari suatu analit yang dapat diukur oleh elektroda yang digunakan atau menyatakan sensitivitas dari ESI. Sesuai rekomendasi IUPAC batas deteksi ditunjukkan oleh bagian persilangan dari dua bagian linier yang diekstrapolasikan dari kurva. Pada sebagian besar ESI batas deteksi terukur pada 10^{-5} - 10^{-6} M. Batas deteksi yang terukur biasanya dapat terpengaruh oleh adanya ion pengganggu atau kotoran lain (Wroblewski, 2005). Batas deteksi ditunjukkan oleh perpotongan dua garis lurus dengan garis lengkung yang diekstrapolasikan pada sumbu x dari kurva

yang menunjukkan respon hubungan antara konsentrasi pada sumbu x dan potensial pada sumbu y (Kunusa, 2011), seperti juga ditunjukkan Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Kurva Penentuan Batas Deteksi (Wroblewski, 2005).

2.6.3 Waktu Respon

Menurut IUPAC, waktu respon merupakan waktu sesaat yang konstan yang mana diperoleh elektroda selektif ion dan elektroda reference dicelupkan pada larutan sampel dan waktu konstan sesaat pertama yang mana potensial sel elektroda menjadi sama tetap hingga 1 [mV] atau telah mencapai 90% dari nilai akhir akibat terjadinya perubahan ion utama (Wroblewski, 2005). Waktu respon merupakan salah satu hal penting untuk mencirikan kinerja suatu ESI. ESI dengan kinerja yang baik memiliki waktu respon cepat dalam pendeteksian sehingga waktu analisis menjadi lebih cepat dan lebih efisien. Waktu respon dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kecepatan pengadukan, ketebalan elektroda, konsentrasi, dan ion pengganggu pada larutan (Gea, 2000). Selain itu menurut Kunusa (2011) tipe membran juga mempengaruhi waktu respon suatu ESI.

2.6.4 Usia Pakai (*Life Time*)

Usia pakai suatu elektroda adalah sampai berapa lama suatu elektroda masih dianggap memenuhi persyaratan analitis untuk suatu pengukuran. Usia pakai elektroda juga bergantung pada penggunaan dan penyimpanan (Gea, 2000). Usia pakai dapat ditentukan dengan mengukur faktor Nernst pada setiap selang waktu tertentu. ESI tidak layak lagi untuk digunakan ketika faktor Nernst yang terukur menyimpang jauh dari faktor Nernst teoritis (Kunusa, 2011). Ketika ESI digunakan, komponen penyusun membran yang hilang (*plasticizer* dan ionofor yang terpartisi ke larutan analit karena kurang hidrofobik) akan memperpendek usia pakai ESI (Bailey, 1976).

