

Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)

Skripsi

Oleh:

RARA AULIA ARUMDATI

105090207111019



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam bidang Kimia

Oleh:

RARA AULIA ARUMDATI

105090207111019



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

i

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)

oleh
RARA AULIA ARUMDATI
105090207111019

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Ani Mulyasuryani, MS
NIP. 19630628 199103 2001

Qonitah Fardiyah, S.Si, M.Si
NIP. 19770705 200312 2001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Edi Priyo Utomo, M.S
NIP. 19571227 198603 1003

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Rara Aulia Arumdati
NIM : 105090207111019
Jurusan : Kimia
Penulis skripsi berjudul :

“Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)”

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan sayaterima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,

Rara Aulia Arumdati
NIM. 105090207111019

Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)

ABSTRAK

Mannitol yang bersifat elektroaktif dapat ditentukan secara amperometri. Analisis amperometri didasarkan pada arus difusi terhadap konsentrasi pada potensial dan waktu yang tetap. Oleh karena itu, penelitian ini melakukan optimasi potensial dan waktu penerapan potensial dengan teknik amperometri denyut, PAD (*Pulsed Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*) dalam sistem ruah dan sistem alir. Pada teknik PAD mannitol dioksidasi pada potensial kerja kemudian hasil oksidasi mannitol pada permukaan elektroda dibersihkan dengan potensial pembersih yaitu potensial oksidasi dan potensial reduksi. Dalam sistem ruah potensial kerja, potensial oksidasi dan potensial reduksi yang digunakan secara berturut-turut sebesar 0,3V selama 0,7 detik, 0,8V selama 0,6 detik, dan -0,8V selama 2,4 detik sedangkan dalam sistem alir sebesar 0,2V selama 0,7detik, 0,8V selama 0,6 detik, dan -0,8V selama 2,4 detik. Berbeda dengan PAD, DPAD menggunakan potensial *background* untuk mengetahui arus non faraday dalam pengukuran. Dalam sistem ruah digunakan potensial kerja, potensial *background*, potensial oksidasi, dan potensial reduksi secara berturut-turut sebesar 0,3V selama 0,7detik, -0,4V selama 0,7 detik 0,8V selama 0,6 detik, dan -0,8V selama 2,4 detik sedangkan dalam sistem alir sebesar 0,2V selama 0,7detik, -0,3V selama 0,7 detik 0,8V selama 0,6 detik, dan -0,8V selama 2,4 detik. Kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas, dan linearitas berturut-turut pada teknik PAD sistem ruah adalah 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M, 28 μM , 6396 $\mu\text{A/M}$, 0,992; pada teknik DPAD sistem ruah 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M, 20 μM , 5086 $\mu\text{A/M}$, 0,999; pada teknik PAD sistem alir 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M, 10 μM , 5040 $\mu\text{A/M}$, 0,999; pada teknik DPAD sistem alir 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M, 63 μM , 5395 $\mu\text{A/M}$, 0,999.

Kata kunci : mannitol, PAD (*Pulse Amperometry Detection*), dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*)

Determination of Mannitol by PAD (Pulse Amperometry Detection) Technique and DPAD (Differential Pulsed Amperometry Detection) Technique

ABSTRACT

Mannitol is an electroactive compounds that can determined by amperometry. Amperometry analysis is based on the diffusion current to the concentration at constant potential and time. Therefore in this work, the potential and time were optimized by pulse amperometry, are PAD (Pulse Amperometry Detection) and DPAD (Differential Pulsed Amperometry Detection), in bulk and flow system. PAD technique, mannitol was oxidized by working potential then the reaction product was cleaned by cleaning potentials, are oxidation and reduction potentials. In bulk, the working potential, oxidation potential, and reduction potential, respectively, were 0.3V for 0.7s, 0.8V for 0.6s, and -0.8V for 2.4s whereas in flow system used 0.2V for 0.7s, 0.8V for 0.6s, and -0.8V for 2.4s. Differ from PAD, DPAD used background potential to know non farradaic current in measurement. In bulk system used working potential, background potential, oxidation potential, and reduction potential, respectively, were 0.3V for 0.7s, -0.4V for 0.7s, 0.8V for 0.6s, and -0.8V for 2.4s whereas in flow system used 0.2V for 0.7s, -0.3V for 0.7s, 0.8V for 0.6s, and -0.8V for 2.4s. Characteristic of measurement such as range of linear concentration, limit of detection, sensitivity, and linearity, respectively, by PAD in bulk system were 1×10^{-4} M to 1×10^{-3} M, 28 μ M, 6396 μ A/M, 0.992; by DPAD in bulk system were 1×10^{-4} M to 1×10^{-3} M, 20 μ M, 5086 μ A/M, 0.999; by PAD in flow system were 1×10^{-4} M to 1×10^{-2} M, 10 μ M, 5040 μ A/M, 0.999; by DPAD technique in flow system were 1×10^{-4} M to 1×10^{-2} M, 63 μ M, 5395 μ A/M, 0.999.

Keyword : mannitol, PAD (Pulse Amperometry Detection), and DPAD (Differential Pulsed Amperometry Detection)



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T. atas berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat melakukan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*) dengan baik dan tepat waktu. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan sumbangan penelitian mengenai pengembangan teknik amperometri dalam penentuan mannitol.

Penyusunan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik dan tepat waktu tanpa bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak antara lain kedua orang tua Alm. Bapak Sugianto dan Ibu Rusmiati, dosen pembimbing pertama Ibu Ani Mulyasuryani, dosen pembimbing kedua Ibu Qonitah Fardiyah, Prof. Weresak Surareungchai, p³ Sirimarn Ngamchana, peneliti di Laboratorium Sensor Universitas King Mongkut Thonburi, Thailand, teman-teman, serta semua pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih banyak.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan, tetapi penulis berharap penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi terutama dalam metode elektrokimia. Semoga skripsi ini tidak hanya bermanfaat bagi penulis, tetapi juga bagi semua pihak yang membaca.

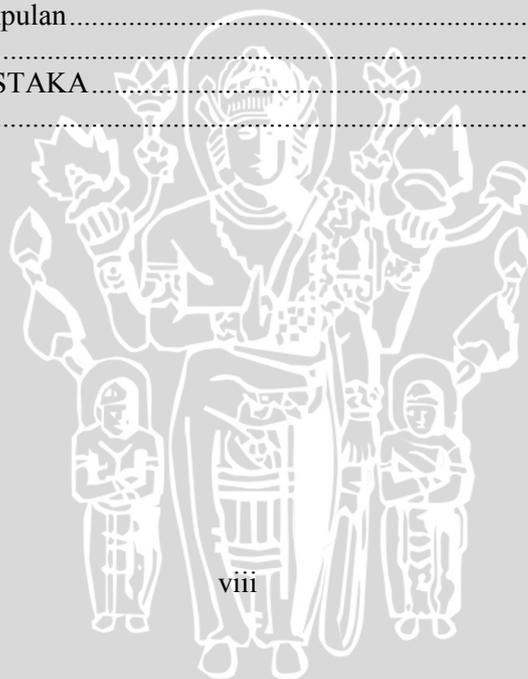
Malang, Januari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Voltametri	5
2.2 Amperometri	6
2.3 Penentuan Mannitol secara Amperometri	10
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.2.1 Alat Penelitian	15
3.2.2 Bahan Penelitian	15
3.3 Tahapan Penelitian	15
3.3.1 Optimasi Potensial dan Waktu Pengukuran Potensial	15
3.3.2 Pengukuran Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir	15
3.4 Prosedur Kerja Penelitian	15
3.4.1 Optimasi Potensial dan Waktu Penerapan Potensial	15

3.4.1.1 Pengukuran Voltametri Siklis Larutan NaOH 0,1 M dan Larutan Kerja Mannitol 2,5 mM; 5 mM; dan 10 mM.....	16
3.4.1.2 Optimasi Potensial Kerja Larutan Mannitol.....	16
3.4.1.3 Optimasi Waktu Pengukuran.....	17
3.4.1.4 Optimasi Potensial <i>Background</i>	17
3.4.2 Pengukuran Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penentuan Kondisi Optimum Penentuan Mannitol secara PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir.....	19
4.1.1 Penentuan Potensial Kerja.....	19
4.1.2 Penentuan Waktu Pengukuran Potensial.....	22
4.1.3 Penentuan Potensial <i>Background</i>	23
4.2 Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir.....	24
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	31
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	37



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Prinsip amperometry.....	7
Gambar 2.2 Bentuk gelombang yang diterapkan dalam teknik PAD.....	9
Gambar 2.3 Bentuk gelombang yang diterapkan teknik DPAD.....	10
Gambar 2.4 Reaksi pembentukan lapisan oksida pada elektroda emas.....	13
Gambar 4.1 Voltamogram siklik dari larutan NaOH 0,1 M (garis merah), larutan mannitol 2,5 mM + larutan NaOH 0,1 M (garis biru tua), larutan mannitol 5 mM + larutan NaOH 0,1 M (garis hijau), dan larutan mannitol 10 mM + larutan NaOH 0,1 M	19
Gambar 4.2 Kurva hubungan potensial kerja terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem ruah.....	20
Gambar 4.3 Kurva hubungan potensial kerja terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem alir	21
Gambar 4.4 Kurva hubungan waktu terhadap arus pada larutan mannitol konsentrasi 0,1 mM.....	22
Gambar 4.5 Kurva hubungan potensial <i>background</i> terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem ruah.....	23
Gambar 4.6 Kurva hubungan potensial <i>background</i> terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem alir	24
Gambar 4.7 Kurva hubungan konsentrasi mannitol terhadap arus dalam sistem ruah.....	25
Gambar 4.8 Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier terhadap arus dalam sistem ruah.....	25

Gambar 4.9	Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier terhadap arus dalam sistem ruah.....	26
Gambar 4.10	Kurva hubungan konsentrasi mannitol terhadap arus dalam sistem alir.....	27
Gambar 4.11	Kurva hubungan konsentrasi linier arus dalam sistem alir.....	28
Gambar L.1	Diagram alir tahapan penelitian.....	37
Gambar L.2	Amperogram penentuan potensial kerja dari penentuan mannitol dengan kisaran 0,05 V sampai 0,40 V dalam sistem ruah.....	50
Gambar L.3	Amperogram penentuan potensial kerja dari penentuan mannitol dengan kisaran 0,05 V sampai 0,40 V dalam Sistem alir.....	53
Gambar L.4	Kronoamperogram hubungan waktu terhadap arus.....	53
Gambar L.5	Amperogram penentuan potensial <i>background</i> dari penentuan mannitol dengan kisaran -0,50 V sampai 0,25 V dalam sistem ruah.....	57
Gambar L.6	Amperogram penentuan potensial <i>background</i> dari penentuan mannitol dengan kisaran -0,35 V sampai 0,25 V dalam sistem alir.....	62
Gambar L.7	Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dalam sistem ruah dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM.....	63
Gambar L.8	Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik DPAD dalam sistem ruah dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM.....	64
Gambar L.9	Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dalam sistem alir dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1M.....	66

Gambar L.10 Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik DPAD dalam sistem alir dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1 M.....68



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Parameter pengukuran mannitol dalam sistem ruah pada kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M.....	26
Tabel 4.2 Parameter pengukuran mannitol dalam sistem alir pada kisaran konsentrasi linier 5×10^{-3} M sampai 3×10^{-3} M.....	27
Tabel 4.3 Parameter pengukuran mannitol dalam sistem ruah dan sistem alir dengan teknik PAD.....	28
Tabel 4.4 Parameter pengukuran mannitol dalam sistem ruah dan sistem alir dengan teknik DPAD.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1	Diagram Alir Tahapan Penelitian	37
Lampiran 2	Diagram Kerja	38
	2.1 Penentuan Voltametri Siklik.....	38
	2.1.1 Penentuan Voltametri Siklik Larutan NaOH 0,1 M.....	38
	2.1.2 Penentuan Voltametri Siklik Larutan Mannitol.....	38
	2.2 Penentuan Potensial Kerja.....	39
	2.2.1 Penentuan Potensial Kerja dalam Sistem Ruah.....	39
	2.2.2 Penentuan Potensial Kerja dalam Sistem Alir.....	39
	2.3 Penentuan Waktu Pengukuran.....	40
	2.3.1 Penentuan Waktu Pengukuran Potensial Larutan NaOH 0,1 M.....	40
	2.3.2 Penentuan Waktu Pengukuran Potensial Larutan Mannitol.....	41
	2.4 Penentuan Potensial <i>Background</i>	41
	2.4.1 Penentuan Potensial <i>Background</i> dalam Sistem Ruah.....	41
	2.4.2 Penentuan Potensial <i>Background</i> dalam Sistem Alir.....	42
	2.5 Penentuan Larutan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD.....	43
	2.5.1 Penentuan Larutan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah.....	43

	2.5.2 Penentuan Larutan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Alir	44
Lampiran 3	Pembuatan Larutan	44
	3.1 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M	44
	3.2 Pembuatan Larutan Mannitol 1 M	45
	3.3 Pembuatan Larutan Mannitol dengan Kisaran Konsentrasi 0,1 mM sampai 1 M	45
Lampiran 4	Penentuan Potensial Kerja	48
Lampiran 5	Penentuan Waktu Pengukuran	53
Lampiran 6	Penentuan Potensial <i>Background</i>	54
Lampiran 7	Penentuan Batas Deteksi Penentuan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir	62
Lampiran 8	Gambar Penelitian	69



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mannitol termasuk salah satu gula alkohol yang terdapat dalam zaitun, manna, labu, bawang, rumput laut cokelat, dan jamur tanduk, dengan rumus kimia $C_6H_{14}O_6$ [1,2,3]. Mannitol dapat digunakan sebagai petunjuk adanya bakteri *Leuconostoc mesenteroides* pada proses pembuatan gula dan sebagai pemanis makanan [1, 4]. Namun bila mengkonsumsi makanan yang mengandung mannitol lebih dari 20 gram per hari akan memberikan efek laksatif atau pencahar [5]. Metode yang telah digunakan dalam penentuan mannitol antara lain Kromatografi Gas kapiler [6], Kromatografi Cair Kinerja Tinggi [7, 8], dan elektroforesis kapiler [9], tetapi, ketiga metode tersebut membutuhkan waktu yang lebih lama serta persiapan contoh yang rumit dalam penentuan mannitol. Pada penentuan mannitol menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, proses pemisahan senyawa dalam contoh dilakukan selama 18 menit [7]. Sebagai senyawa yang bersifat elektroaktif, mannitol dapat dianalisis tanpa proses pemisahan dengan potensial spesifik menggunakan metode elektrokimia, salah satu dari metode tersebut adalah amperometri [10].

Metode amperometri merupakan metode elektrokimia yang mengamati arus pada potensial yang tetap selama waktu tertentu [11,12,13]. Potensial dan waktu yang diterapkan harus menghasilkan arus yang optimal agar sensitifitas pengukuran meningkat. Pada permukaan elektroda, analit akan teroksidasi atau tereduksi dalam larutan selama waktu tertentu pada potensial kerja. Reaksi ini akan menyebabkan perbedaan konsentrasi analit pada tubuh larutan dan pada permukaan elektroda. Perbedaan konsentrasi analit ini akan membuat analit berdifusi dari konsentrasi tinggi menuju konsentrasi rendah sehingga menghasilkan arus yang disebut arus difusi. Dengan peningkatan waktu, konsentrasi analit pada tubuh larutan dan pada permukaan elektroda akan cenderung sama. Hasil reaksi pada permukaan elektroda akan memperbesar lapisan difusi larutan sehingga laju difusi akan menurun. Hal ini menyebabkan arus difusi yang dihasilkan menurun seiring pertambahan waktu [11,12,14,15].

Metode amperometri yang digunakan adalah amperometri potensial bertahap, yaitu PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*). Kedua metode ini dapat meningkatkan repeatabilitas pengukuran karena menerapkan potensial pembersih yang dapat menghilangkan hasil oksidasi mannitol yang tidak dapat direduksi kembali dan dapat menutupi permukaan elektroda. Potensial pembersih yang digunakan adalah potensial oksidasi dan potensial reduksi. Pada teknik PAD, mannitol dioksidasi pada potensial kerja menghasilkan senyawa karboksilat yang tidak dapat direduksi kembali. Senyawa ini akan teradsorpsi pada permukaan elektroda sehingga permukaan elektroda tertutupi dan sensitifitas pengukuran menurun. Hasil oksidasi mannitol dapat didesorpsi menggunakan potensial yang cukup positif, yaitu potensial oksidasi. Penggunaan potensial tinggi mengakibatkan reaksi reduksi air menjadi $\bullet\text{OH}_{\text{ads}}$ pada permukaan elektroda. Senyawa $\text{M}\bullet\text{OH}_{\text{ads}}$ kemudian berubah menjadi oksida logam emas pada permukaan elektroda. Oksida logam pada permukaan elektroda dapat dihilangkan dengan cara reduksi pada potensial reduksi sehingga diperoleh elektroda yang bersih kembali. Waktu penerapan potensial pembersih juga diperhatikan agar proses pembersihan optimal dan sensitifitas pengukuran meningkat [16,17]. Oleh karena itu potensial dan waktu pengukuran pada teknik PAD perlu dioptimasi.

Tahapan reaksi yang terjadi pada teknik DPAD sama dengan teknik PAD hanya saja pada teknik DPAD dilakukan pengukuran arus non faraday pada potensial *background* sehingga diharapkan dapat meningkatkan arus difusi [14]. Arus difusi yang tercatat pada teknik DPAD merupakan perbedaan arus saat sebelum dan setelah penerapan denyut [14]. Pada penelitian ini kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas/kepekaan, dan linieritas ditentukan menggunakan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir pada kondisi optimum

1.2 Rumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini, yaitu :

1. Bagaimana kondisi optimum penentuan mannitol secara PAD dan DPAD dalam sistem ruah dalam sistem alir?
2. Bagaimana kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas/ kepekaan, dan linearitas penentuan mannitol dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini yaitu :

1. Optimasi potensial dan waktu pengukuran pada teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir.
2. Larutan mannitol yang digunakan adalah larutan D-mannitol.
3. Elektroda yang digunakan adalah elektroda kerja emas, elektroda pembanding Ag/AgCl, dan elektroda pendukung Pt.
4. Sistem pengukuran mannitol dilakukan dalam sistem ruah dan sistem alir.
5. Kecepatan aliran pompa dalam sistem alir sebesar 1mL/menit

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mempelajari kondisi optimum penentuan mannitol secara PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir
2. Mempelajari kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas/ kepekaan, dan linearitas penentuan mannitol dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui kondisi optimum penentuan mannitol dengan teknik DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir
2. Mengetahui kondisi optimum penentuan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem alir
3. Mengetahui kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas/ kepekaan, dan linearitas penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah maupun sistem alir



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Voltametri

Voltametri adalah metode elektrokimia yang mempelajari hubungan potensial-arus-waktu selama proses elektrolisis berlangsung dalam sel elektrokimia. Total arus yang dihasilkan pada metode ini berasal dari penjumlahan arus yang dihasilkan pada masing-masing transfer massa yang terjadi dalam sel elektrokimia. Transfer massa dapat terjadi dengan tiga cara, yaitu difusi, konveksi, dan migrasi. Transfer massa difusi adalah proses perpindahan massa yang disebabkan oleh perbedaan konsentrasi analit pada permukaan elektroda dan pada tubuh larutan. Transfer massa konveksi adalah proses perpindahan massa karena gaya yang ditambahkan dari luar, seperti pengadukan atau getaran sedangkan transfer massa migrasi adalah proses perpindahan massa yang terjadi akibat perbedaan muatan dalam larutan. Bila ketiga transfer massa terjadi dalam larutan encer maka penipisan lapisan elektroda akan terjadi dan resistensi larutan akan meningkat sehingga penurunan potensial (*potential drop*) berdasarkan hukum Ohm akan berubah dalam larutan dan nilai arus yang dihasilkan akan diragukan. Oleh karena itu, pada larutan ditambahkan larutan elektrolit dan dilakukan penurunan kecepatan pengadukan agar arus yang dihasilkan hanya berasal dari perbedaan konsentrasi analit yang diinginkan [11].

$$i = i_d$$

Pada elektroda terjadi dua jenis proses, yaitu proses faraday dan non faraday. Proses faraday adalah proses yang melibatkan transfer elektron pada logam dan permukaan larutan, seperti reaksi oksidasi maupun reduksi sedangkan pada proses non faraday hanya terjadi proses adsorpsi-desorpsi [11].

Potensial puncak yang diperoleh dalam sistem *reversible* dengan metode voltametri adalah sebesar potensial formal, yaitu [12]

$$E^o = \frac{E_{pc} + E_{pa}}{2} \quad (2.1)$$

Dimana E_{pc} adalah potensial puncak pada katoda dan E_{pa} adalah potensial puncak anoda. Arus puncak yang dihasilkan dalam sistem ini adalah sebesar

$$i_p = (2,69 \times 10^5)n^{3/2} ACD^{1/2}v^{1/2} \quad (2.2)$$

Dimana n adalah jumlah elektron, A adalah luas permukaan elektroda (dalam cm^2), C adalah konsentrasi (dalam mol/cm^3), D adalah koefisien difusi (dalam cm^2/s), dan v adalah laju pemindaian potensial (dalam V/s). Dalam sistem *irreversible*, potensial puncak sebesar

$$E_p = E^o - \frac{RT}{\alpha n_a F} \left[0,78 - \ln \frac{k^o}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha n_a F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2.3)$$

Dimana E^o adalah potensial formal, α adalah koefisien transfer, n_a adalah jumlah elektron yang terlibat dalam perpindahan muatan. Arus puncak yang dihasilkan pada sistem ini adalah sebesar [12]

$$i_p = (2,99 \times 10^5)n(\alpha n_a)^{1/2} ACD^{1/2}v^{1/2} \quad (2.4)$$

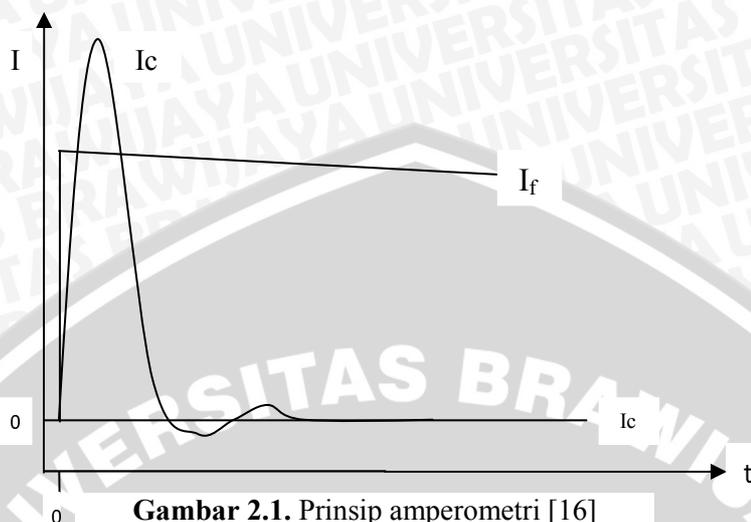
2.2 Amperometri

Amperometri merupakan salah satu cabang dari voltametri yang mengamati arus pada potensial tetap [11,12,13]. Pada penerapan metode amperometri digunakan tiga jenis elektroda, yaitu elektroda kerja, *counter electrode*, dan elektroda pembanding. Elektroda kerja digunakan sebagai tempat terjadi reaksi reduksi atau oksidasi analit. Jenis elektroda kerja yang biasa digunakan adalah elektroda kerja emas, karbon, dan Pt. *Counter electrode* digunakan sebagai penyeimbang arus difusi dari elektroda kerja. Bila pada elektroda kerja terjadi reaksi oksidasi maka pada *counter electrode* terjadi reaksi reduksi. *Counter electrode* yang biasa digunakan adalah elektroda yang bersifat inert, seperti elektroda Pt. Elektroda pembanding digunakan untuk membandingkan potensial pada elektroda kerja. Elektroda pembanding memiliki nilai potensial setengah sel yang tetap dan telah diketahui. Jenis elektroda pembanding yang biasa digunakan adalah elektroda kalomel jenuh dan elektroda Ag/AgCl [16,17].

Prinsip amperometri dapat dilihat pada gambar 2.1 bahwa arus dari larutan yang tidak mengandung analit diukur menggunakan potensial yang diterapkan. Arus yang dihasilkan akan menurun sesuai dengan penurunan arus kapasitif [14]. Bila potensial telah diatur sesuai dengan potensial kerja, kemudian analit ditambahkan ke dalam larutan maka arus difusi akan terukur [14]. Untuk elektroda planar, nilai arus difusi akan bergantung pada jumlah elektron (n),

konstanta Faraday (F), luas permukaan (A), konsentrasi (C), koefisien difusi (D), dan waktu (t). Persamaan Cottrell diberikan pada persamaan 2.1 [11,12,14].

$$i_d(t) = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad (2.5)$$



Gambar 2.1. Prinsip amperometri [16]

Untuk mendapatkan sensitifitas yang tinggi, arus difusi dipengaruhi oleh potensial kerja yang diterapkan dan waktu penerapan potensial.

Potensial kerja dapat ditentukan melalui pengukuran voltametri siklik. Hasil potensial kerja akan lebih besar daripada potensial reduksi standar karena dipengaruhi oleh potensial formal (E^0), konstanta gas (R), temperatur (T), jumlah elektron (n), konstanta Faraday (F), koefisien difusi reduksi (D_R), dan koefisien difusi oksidasi (D_o), yang dihubungkan pada persamaan 2.7 [11]

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d(\tau) - i(\tau)}{i(\tau)} \quad (2.6)$$

$$E_{1/2} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{D_R}{D_o} \quad (2.7)$$

Nilai arus yang dihasilkan potensial dalam sistem *irreversible* ditentukan oleh konstanta Faraday (F), luas permukaan elektroda (A), konsentrasi analit pada tubuh larutan (C_o^*), konstanta laju

standar (k^0), koefisien transfer (α), perbandingan F dengan RT (f), potensial puncak (E_p), dan potensial formal (E^0), dapat dilihat pada persamaan 2.4 [11]

$$i_p = 0,227 F A C_0 k^0 \exp \left[-\alpha f (E_p - E^0) \right] \quad (2.8)$$

Dari persamaan 2.8 dapat diketahui bahwa dengan penurunan selisih potensial puncak dengan potensial formal maka akan meningkatkan arus yang diperoleh.

Ketergantungan arus kepada waktu dapat diamati dengan teknik *chronoamperometry* karena pada teknik ini arus diamati sebagai fungsi terhadap waktu. Kurva hubungan arus dan waktu menggambarkan perubahan konsentrasi di sekitar permukaan elektroda. Pada waktu yang rendah, perbedaan konsentrasi hasil oksidasi pada permukaan elektroda dengan konsentrasi analit pada larutan akan besar sehingga menghasilkan lapisan difusi yang tipis. Lapisan difusi yang tipis ini akan mengakibatkan proses difusi yang cepat sehingga arus difusi yang dihasilkan tinggi [11,12].

$$i(t) = \frac{n F A D_0^{1/2} C_0 (b)}{(\pi t)^{1/2}} \quad (2.9)$$

Metode amperometri yang digunakan adalah amperometri denyut yang menggunakan potensial bertahap. Pada penerapan potensial bertahap, arus yang dihasilkan tidak saja arus yang berasal dari analit atau yang disebut arus faraday, tetapi juga diikuti dengan arus non faraday. Nilai dari arus non faraday ini akan menurun secara eksponensial. Arus non faraday ini akan dihasilkan bila elektroda bersifat seperti elektroda polarisasi ideal. Pada saat seperti ini elektroda bertindak seperti kapasitor. Ketika potensial diterapkan maka muatan akan terakumulasi pada elektroda sampai tercapai jumlah muatan sebesar [11]:

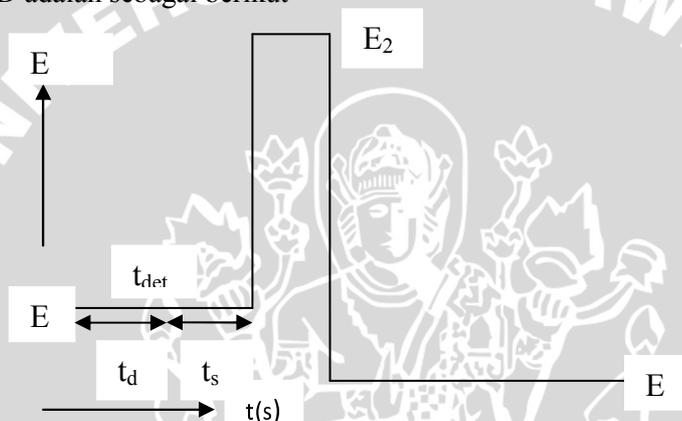
$$q = E C_d \left[1 - e^{-t/R_s C_d} \right] \quad (2.10)$$

dimana q adalah muatan yang tersimpan dalam kapasitor, E adalah potensial yang melewati kapasitor, C_d adalah kapasitansi lapisan rangkap, dan R_s adalah resistensi larutan. Selama proses akumulasi muatan tersebut, arus kapasitif mengalir sebesar [11]:

$$i = \frac{E}{R_s} e^{-t/R_s C_d} \quad (2.11)$$

Arus yang dihasilkan oleh persamaan di atas disebut arus kapasitif. Nilai arus kapasitif dapat diabaikan pada saat 5 kali waktu yang konstan untuk sel elektrokimia.

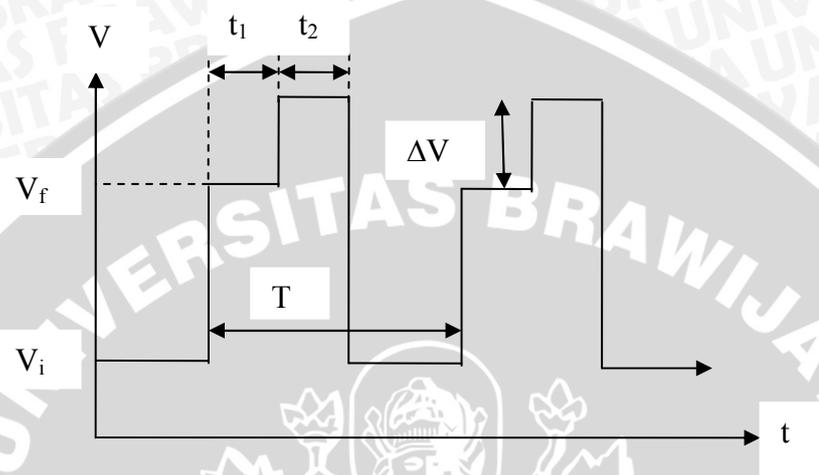
Contoh teknik dengan amperometri denyut adalah teknik PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*). Teknik PAD adalah teknik amperometri yang menggunakan tiga potensial denyut dengan pengukuran arus yang dilakukan setelah penerapan denyut. Teknik ini pertama kali diterapkan sebagai metode pembersihan elektroda oleh Hammiet pada tahun 1924. Pada percobaan tersebut, Hammiet menerapkan potensial denyut untuk mengaktifkan kembali elektroda Pt untuk mengoksidasi H_2 . Penelitian ini terus dikembangkan sampai pada tahun 1970-an terdapat sekelompok peneliti yang diketuai oleh Denis C. Johnson mengembangkan metode elektroanalisis pada elektroda logam mulia yang didasarkan pada tiga potensial denyut. Teknik ini kemudian diketahui sebagai PAD (*Pulse Amperometry Detection*). Teknik PAD diterapkan untuk beberapa golongan senyawa seperti alkohol, karbohidrat, aldehyd, amina, dan senyawa organosulfur [16]. Bentuk gelombang yang diterapkan pada teknik PAD adalah sebagai berikut



Gambar 2.2. Bentuk gelombang yang diterapkan pada teknik PAD [16]

Teknik DPAD adalah teknik amperometri yang menggunakan potensial denyut dengan pengukuran arus yang

dilakukan sebelum dan setelah penerapan denyut. Teknik ini pertama kali dilakukan oleh Marcenac dan Gonon pada tahun 1985. Pada penelitian tersebut, mereka menggunakan elektroda serat karbon untuk penentuan dopamine dalam larutan berair dan otak tikus [18,19]. Teknik ini dapat menghasilkan sinyal yang lebih kuat dan gangguan dari senyawa lain lebih kecil dibandingkan metode amperometri dengan satu potensial konstan. Teknik DPAD telah banyak digunakan seperti pada penentuan NO, logam Se, senyawa tembaga(II) - tetraaminoftalosianin, kobalt - etilenobis(salisilideneiminet), molekul dioksigen, dan asam askorbat [19]. Bentuk gelombang yang diterapkan pada teknik DPAD adalah sebagai berikut



Gambar 2.3. Bentuk gelombang yang diterapkan pada teknik DPAD [23]

2.3 Penentuan Mannitol secara Amperometri

Mannitol merupakan gula alkohol yang bersifat elektroaktif sehingga dapat dioksidasi secara elektrokimia dengan potensial pada kisaran 0,05 V sampai 0,3 V [20,21]. Metode penentuan mannitol yang telah dilakukan adalah Kromatografi Gas kapiler - ionisasi *flame* [6], elektroforesis kapiler - amperometri dengan elektroda kerja tembaga [7], dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi - voltametri dengan elektroda tembaga [8]. Metode Kromatografi Gas kapiler

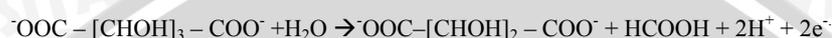
telah dilakukan oleh Wang, H.X. et al [6] dengan cara mengubah mannitol menjadi senyawa yang memiliki titik didih yang rendah, yaitu heksaasetat melalui proses asetilasi. Temperatur pada kolom kromatografi kapiler diatur pada 180°C sedangkan pada detektor diatur pada 210°C. Hasil penelitian yang diperoleh adalah kisaran konsentrasi linier sebesar 0,05 sampai 10 mg/mL, dan batas deteksi 0,01 mg/mL. Metode voltametri telah dilakukan oleh Wring,S. et al [8] menggunakan 3 elektroda, yaitu elektroda pembanding Ag/AgCl, elektroda pendukung Pt, dan elektroda kerja tembaga dengan diameter 3,1 mm. Pada metode ini kisaran potensial yang diterapkan untuk voltametri siklik -0,3 V sampai 0,9 V, dan larutan elektrolit NaOH 0,1 M. Hasil penelitian yang diperoleh diketahui potensial deteksi maksimum untuk penentuan mannitol sebesar 0,55 V, konsentrasi linier 359 pg sampai 2,24 µg, dan batas deteksi 71,8 pg sedangkan metode amperometri telah dilakukan oleh Chen,G., et al [7] dengan menggabungkan metode tersebut dalam elektroforesis kapiler. Pada metode ini digunakan elektroda pembanding kalomel jenuh, elektroda kerja tembaga, dan larutan elektrolit NaOH. Elektroda kerja tembaga yang digunakan memiliki diameter 300 µm dengan penerapan potensial kerja +0,65 V. Dari metode amperometri tersebut dihasilkan konsentrasi linier 2,5 – 0,005 mM dengan batas deteksi 1 µM untuk mannitol. Ketiga metode tersebut menggunakan teknik pemisahan dan persiapan contoh yang rumit sehingga akan membutuhkan waktu penentuan mannitol yang lebih lama. Sebagai senyawa elektroaktif, mannitol dapat ditentukan dengan sensitifitas yang tinggi tanpa proses pemisahan menggunakan metode elektrokimia. Penurunan arus difusi yang terjadi akibat adsorpsi hasil oksidasi mannitol pada permukaan elektroda tidak memungkinkan penentuan mannitol menggunakan metode voltametri. Oleh karena itu mannitol ditentukan secara amperometri [9].

Pada penentuan mannitol ini digunakan 3 elektroda, yaitu elektroda kerja Au, *counter electrode* Pt, dan elektroda pembanding Ag/AgCl. Elektroda kerja merupakan elektroda tempat terjadi reaksi dari mannitol. Pada penelitian ini digunakan elektroda kerja emas karena menurut ESA [22], elektroda kerja emas memiliki kisaran potensial -0,8 V sampai 0,45 V yang cocok dalam penentuan mannitol. Selain itu, elektroda kerja emas juga memiliki arus *background* yang rendah, dan mudah untuk dibersihkan secara fisik

[16]. *Counter electrode* merupakan elektroda yang dapat memberikan elektron kepada elektroda kerja sehingga dapat menyeimbangkan arus difusi. *Counter electrode* harus bersifat inert agar tidak memberikan gangguan pada elektroda kerja, seperti elektroda Pt. Elektroda pembanding merupakan elektroda yang telah diketahui potensial setengah sel dari elektroda tersebut. Elektroda ini akan menstabilkan potensial kerja. Potensial setengah sel pada elektroda Ag/AgCl sebesar 0,222 V. Mannitol dioksidasi secara elektrokimia menghasilkan senyawa karboksilat yang tidak dapat direduksi kembali menjadi mannitol. Pertama, mannitol dioksidasi dengan pemutusan ikatan C1 – C2 secara cepat [16].

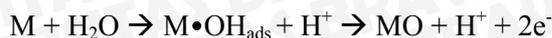


Kemudian pemutusan ikatan C5 – C6 secara lambat



Hasil reaksi yang tidak dapat direduksi kembali ini akan menjadi pengotor yang dapat diadsorpsi oleh permukaan elektroda sehingga akan menurunkan repeatabilitas pengukuran. Masalah ini dapat diselesaikan menggunakan potensial bertahap, yaitu PAD (*Pulse Amperometry Detection*) dan DPAD (*Differential Pulsed Amperometry Detection*) [14]. PAD adalah metode amperometri yang menerapkan potensial bertahap untuk proses pembersihan elektroda [14] dan arus diukur setelah penerapan denyut. Pada teknik PAD, pengukuran didasarkan pada tiga denyut selama t_1 , t_2 , dan t_3 . Tahapan potensial yang digunakan pada sistem PAD dapat dijelaskan pada gambar 2.2 yaitu potensial pertama E_1 merupakan potensial kerja dari analit. Potensial ini dapat diketahui dari voltamogram siklik analit. Pada potensial pertama ini terjadi proses penurunan arus kapasitif menjadi nol selama t_4 dan proses oksidasi analit selama t_5 . Setelah itu dilakukan penerapan potensial kedua E_2 selama t_2 dan potensial ketiga E_3 selama t_3 . Selama penerapan E_2 , hasil oksidasi mannitol yang menutupi permukaan elektroda akan terdesorpsi. Akibat dari penerapan potensial kedua E_2 lapisan oksida akan terbentuk pada permukaan elektroda. Potensial yang tinggi akan mereduksi air menjadi $\bullet\text{OH}_{\text{ads}}$ pada permukaan elektroda. Senyawa

$M\cdot OH_{ads}$ kemudian berubah menjadi oksida logam emas pada permukaan elektroda. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut



Gambar 2.4. Reaksi pembentukan lapisan oksida pada elektroda emas

Pada saat penerapan E_3 , lapisan oksida dihilangkan dengan cara reduksi menggunakan potensial yang cukup negatif. Proses ini dapat membuat permukaan elektroda bersih kembali sehingga saat E_1 akan diterapkan kembali sehingga repeatabilitas pengukuran meningkat [14,16,17]. Pada teknik PAD masih terdapat pengaruh arus non faraday dari pengukuran sehingga arus difusi yang dihasilkan dari teknik PAD ini rendah. Oleh karena itu, untuk meningkatkan arus difusi digunakan teknik DPAD yang menggunakan potensial *background* untuk mengukur arus non faraday yang dihasilkan.

Teknik DPAD adalah salah satu teknik amperometri denyut yang melakukan pengukuran arus sebelum dan setelah penerapan denyut serta melibatkan persamaan matematika atau diferensiasi elektronik sehingga teknik ini disebut dengan diferensial. Parameter pada teknik DPAD yang harus dimasukkan ke dalam instrumen adalah potensial awal, potensial akhir, modulasi amplitudo denyut dan waktu serta waktu *prepulse*. Tahapan *prepulse* diperlukan untuk menghilangkan arus kapasitas yang dihasilkan dari polarisasi elektroda. Arus kapasitas ini dapat menutupi arus faraday yang dihasilkan dari proses oksidasi analit. Bentuk gelombang yang diterapkan pada teknik DPAD ditunjukkan oleh gambar 2.3 [11,14,23]. Pada teknik DPAD digunakan potensial *background* dimana pada dari potensial *background* tersebut dihasilkan arus non faraday. Arus non faraday ini akan menunjukkan arus dasar sebelum penerapan denyut sehingga saat pengukuran arus dengan teknik DPAD akan dihasilkan arus yang tinggi [14]

Pada metode amperometri, kecepatan pengadukan dapat menghasilkan arus konveksi yang akan membuat nilai arus yang dihasilkan tidak sebanding dengan konsentrasi analit. Oleh karena itu, pengaruh pengadukan dalam sistem ruah diminimalkan dengan mengganti sistem pengukuran menggunakan sistem alir [12]. Desain sel pada sistem alir yang diterapkan harus dapat menghasilkan sinyal

yang tinggi, membutuhkan volume sedikit, hidrodinamika yang baik, dan memudahkan dalam hal susunan dan perawatan. Desain sel yang paling sering digunakan adalah lapis tipis dan dinding berpencar (*wall-jet*) [12]. Pada penelitian ini digunakan desain sel lapis tipis. Sel lapis tipis terdiri dari dua buah balok yang menghimpit suatu lapisan tipis yang terbuat dari teflon. Lapisan tersebut dapat dilewati oleh larutan dengan volume yang kecil ($\sim 1\mu\text{L}$). Elektroda kerja ditempatkan lebih tinggi dibanding dengan *counter electrode* dan elektroda pembanding agar reaksi yang terjadi pada kedua elektroda tersebut tidak mengganggu elektroda kerja. Pada sel lapis tipis, larutan mengalir menuju permukaan elektroda *planar* oleh pompa dengan gerak peristaltik [12,24,25]. Setelah itu larutan contoh ditambahkan melalui katup injeksi kemudian larutan contoh akan menuju ke dalam sel dan akan dideteksi oleh detektor.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di *Sensor Technology Laboratory, Pilot Plant Development and Training Institute, King Mongkut's University of Technology (KMUTT)*, Bangkok, Thailand pada bulan Juli sampai September 2013.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, neraca analitik, mesin pemutar, pengaduk magnetik, injektor sampel manual (9725(i), Rheodyne), sel elektrokimia, pompa peristaltik (Masterflex, Cole Paemer), elektroda kerja emas dengan diameter 1,6 mm, elektroda pembanding Ag/AgCl, *counter electrode* Pt, pipet mikroliter, potensiostat (Autolab PGSTAT 12, Eco Chemie), seperangkat alat detektor sistem alir.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain padatan NaOH (BDH), padatan D-mannitol (Sigma-Aldrich), dan air deionisasi.

3.3 Tahapan Penelitian

- 3.3.1 Optimasi potensial dan waktu pengukuran potensial
- 3.3.2 Pengukuran mannitol dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir

3.4 Prosedur Kerja Penelitian

3.4.1 Optimasi Potensial dan Waktu Penerapan Potensial

3.4.1.1 Pengukuran Voltametri Siklik Larutan NaOH 0,1 M dan Larutan Mannitol 2,5 mM; 5 mM; 10 mM

Elektroda kerja emas, elektroda pembanding Ag/AgCl, dan *counter electrode* Pt yang telah bersih digabungkan dengan perekat. Pada pengukuran voltametri siklik larutan NaOH, ketiga elektroda dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0.1M sebanyak 5 mL. Kemudian elektroda dihubungkan dengan kabel, lalu program dijalankan pada kisaran potensial -0,8V – 0,8V.

Pada pengukuran voltametri siklik larutan mannitol, larutan NaOH sebanyak 5 mL dalam gelas kimia 10 mL ditambahkan 12,5 μ L larutan mannitol untuk pengukuran larutan mannitol 2,5 mM. Hal yang sama dilakukan untuk pengukuran larutan mannitol 5mM dan 10 mM dengan volume penambahan larutan mannitol sebanyak 25 μ L dan 50 μ L. Setelah itu program dijalankan dengan cara yang sama pada pengukuran larutan NaOH 0,1 M

3.4.1.2 Optimasi Potensial Kerja Larutan Mannitol

Larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5000 μ L dipipet dengan pipet mikro 5000 μ L lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL. Setelah itu pengaduk magnetik dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL kemudian mesin pemutar dihidupkan dengan kecepatan konstan. Ketiga elektroda yang telah bersih dan telah direkatkan dimasukkan ke dalam larutan dan disambungkan dengan kabel. Lalu program dijalankan pada metode *multiple pulse amperometry* dengan 3 tahapan potensial, yaitu potensial kerja, potensial oksidasi, dan potensial reduksi, secara berurutan. Kisaran potensial yang akan diterapkan diperoleh dari voltamogram siklik. Ketika arus menunjukkan nilai yang tidak relatif sama, larutan mannitol sebanyak 2,5 μ L ditambahkan ke dalam larutan NaOH 0,1 M. Setiap pergantian potensial, dilakukan pergantian gelas kimia 10 mL dan larutan NaOH 0.1 M. Pengadukan terus dihidupkan sampai pengukuran untuk semua kisaran potensial ditentukan.

3.4.1.3 Optimasi Waktu Pengukuran Potensial

Larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5000 μL dipipet dengan pipet mikro 5000 μL lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL. Setelah itu ketiga elektroda yang telah bersih direkatkan dan dicelupkan dalam larutan NaOH. Kemudian program dijalankan pada metode *chronoamperometry* dengan potensial yang diperoleh dari hasil optimasi potensial kerja. Setelah itu larutan mannitol sebanyak 2,5 μL ditambahkan ke dalam larutan NaOH, lalu program dijalankan kembali. Pada pengukuran larutan mannitol 2 mM dilakukan hal yang sama seperti pengerjaan di atas hanya saja volume larutan mannitol yang ditambahkan sebanyak 10 μL . Setelah itu, kisaran waktu pengukuran potensial kerja yang diperoleh dari kronoamperogram dioptimasi menggunakan konsentrasi mannitol 0,1 mM.

3.4.1.4 Optimasi Potensial Background

Larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5000 μL dipipet dengan pipet mikro 5000 μL lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL. Setelah itu pengaduk magnet dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL kemudian mesin pemutar dihidupkan dengan kecepatan konstan. Ketiga elektroda yang telah bersih dan telah direkatkan dimasukkan ke dalam larutan dan disambungkan dengan kabel. Lalu program dijalankan pada metode *differential pulse amperometry* dengan 4 tahapan potensial, yaitu potensial kerja, potensial *background*, potensial oksidasi, dan potensial reduksi, secara berurutan. Potensial kerja, potensial oksidasi, dan potensial reduksi yang diterapkan diperoleh dari hasil voltametri siklik dan optimasi potensial kerja sedangkan waktu untuk masing-masing potensial didapat dari kronoamperogram. Pada potensial *background* diterapkan beberapa kisaran potensial. Ketika arus menunjukkan nilai yang relatif sama, larutan mannitol sebanyak 2,5 μL ditambahkan ke dalam larutan NaOH 0,1 M. Setiap pergantian potensial, dilakukan pergantian gelas kimia 10 mL dan larutan NaOH 0,1 M. Pengadukan terus dihidupkan sampai pengukuran untuk semua kisaran potensial ditentukan.

3.4.2 Pengukuran Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir

Larutan mannitol yang telah dibuat dengan konsentrasi yang berbeda diukur dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir. Tahapan potensial serta potensial yang diterapkan disesuaikan dengan hasil yang telah didapat dari pengerjaan sebelumnya. Setelah itu dibuat kurva hubungan konsentrasi sebagai sumbu x dan arus difusi sebagai sumbu y. Dari kurva tersebut dapat diketahui parameter analisis hasil pengukuran.

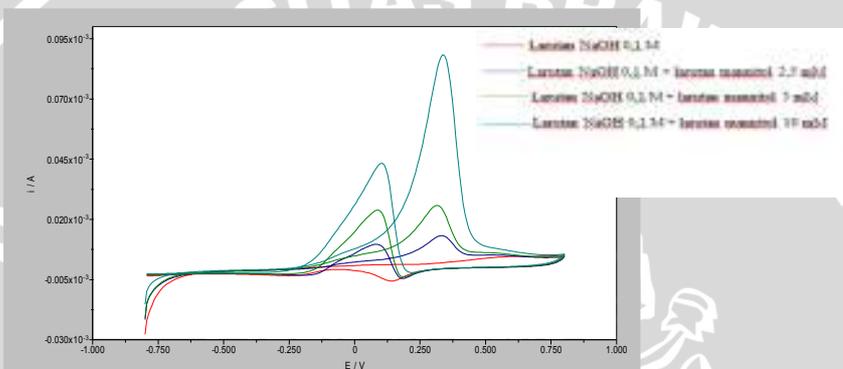


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Kondisi Optimum Penentuan Mannitol secara PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir

4.1.1 Penentuan Potensial Kerja

Potensial kerja merupakan potensial yang diterapkan oleh elektroda kerja untuk mengoksidasi atau mereduksi analit dalam larutan. Potensial kerja harus dioptimasi karena arus difusi yang dihasilkan bergantung pada potensial kerja yang diterapkan. Pada saat potensial kerja diterapkan dalam suatu larutan, maka konsentrasi analit pada permukaan elektroda dan pada tubuh larutan akan berbeda. Hal ini akan menyebabkan pergerakan analit secara difusi sehingga menghasilkan arus. Tahap pertama dalam penentuan potensial kerja adalah voltametri siklik, menggambarkan proses reduksi dan oksidasi pada elektroda kerja.

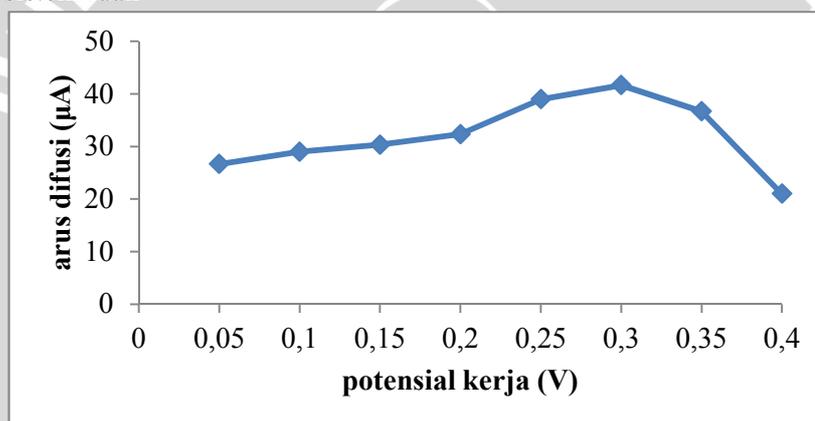


Gambar 4.1. Voltamogram siklik dari larutan NaOH 0,1 M (garis merah), larutan mannitol 2,5 mM + larutan NaOH 0,1 M (garis biru tua), larutan mannitol 5 mM + larutan NaOH 0,1 M (garis hijau), dan larutan mannitol 10 mM + larutan naoh 0,1 M (biru muda)

Pada gambar 4.1 ditunjukkan voltammogram siklik dari larutan NaOH 0,1M dan larutan mannitol 2,5 mM; 5mM; dan 10 mM. Pemindaian voltametri siklik bergerak dari potensial negatif

menuju potensial positif. Pada voltamogram siklik merah terdapat puncak dengan arus positif pada potensial 0,6 V karena terbentuk emas oksida (AuO) sedangkan pada potensial 0,14 V terdapat puncak dengan arus negatif yang disebabkan oleh reaksi reduksi dari emas oksida (AuO) menjadi elektroda emas kembali. Lapisan oksida yang terbentuk dapat dijelaskan pada bab 2 gambar 2.4. Pada voltamogram siklik biru tua, hijau dan biru muda terjadi reaksi oksidasi mannitol menjadi senyawa karboksilat pada potensial 0,3 V. Hal ini ditandai dengan kenaikan arus menuju arah positif tetapi, reaksi oksidasi mannitol ini dihalangi oleh pembentukan lapisan oksida sehingga arus pada potensial setelah 0,3 V menurun dengan cepat. Setelah itu, ketika pemindaian bergerak menuju potensial negatif terjadi reaksi reduksi pada lapisan oksida menjadi logam kembali. Hal ini menyebabkan reaksi oksidasi mannitol kembali terjadi, ditandai dengan puncak oksidasi kedua pada potensial 0,08 V.

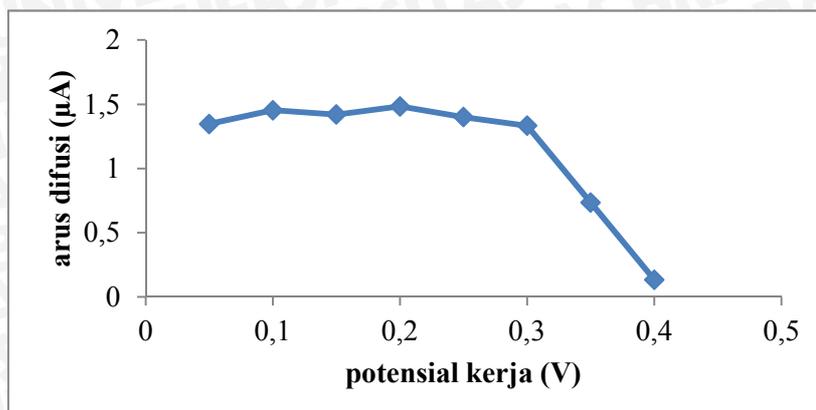
Kisaran potensial kerja yang dihasilkan dari voltametri siklik adalah sebesar 0,05 V sampai 0,4 V. Kisaran potensial ini digunakan untuk menentukan potensial kerja mannitol dengan cara membuat kurva hubungan kisaran potensial pada sumbu x dan arus difusi yang dihasilkan pada sumbu y. Berdasarkan penelitian, diperoleh kurva di bawah ini untuk penentuan potensial kerja dalam sistem ruah



Gambar 4.2. Kurva hubungan potensial kerja terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem ruah

Dari gambar 4.2 diperoleh potensial 0,3 V sebagai potensial kerja mannitol dalam sistem ruah. Hal ini dikarenakan pada potensial 0,3V dihasilkan arus difusi terbesar.

Pada penentuan potensial kerja dalam sistem alir diperoleh kurva di bawah ini



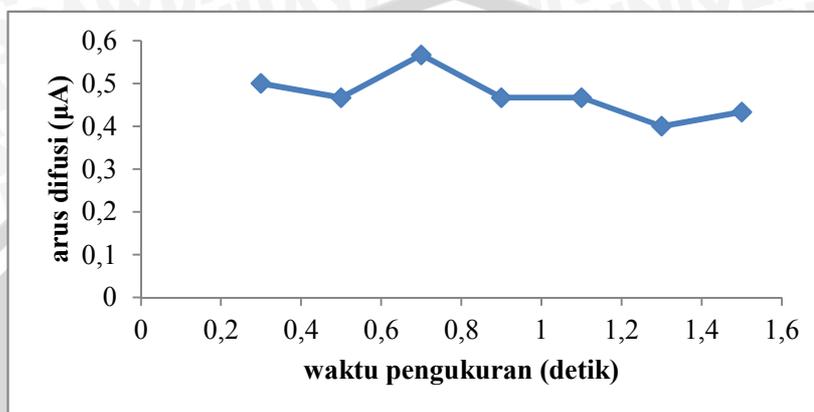
Gambar 4.3. Kurva hubungan potensial kerja terhadap arus pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem alir

Dari kurva diatas diperoleh potensial kerja dalam sistem alir sebesar 0,2 V. Perbedaan bentuk kurva, nilai arus difusi yang dihasilkan, dan potensial kerja diantara kedua sistem disebabkan oleh perbedaan volume analit dalam sel elektrokimia. Dalam sistem alir, volume analit yang masuk ke dalam sel elektrokimia lebih sedikit dibandingkan dalam sistem ruah sehingga jumlah analit yang teroksidasi pada permukaan elektroda dalam sistem alir lebih sedikit daripada dalam sistem ruah. Hal ini menyebabkan arus difusi, dan potensial kerja dalam sistem alir lebih kecil dibanding dalam sistem ruah.

Arus pada potensial 0,35 V dan 0,4 V menurun disebabkan oleh terbentuk lapisan oksida pada elektroda sehingga akan menghambat oksidasi mannitol (seperti pada penjelasan voltametri siklik dan bab 2).

4.1.2 Penentuan Waktu Pengukuran Potensial

Waktu pengukuran potensial ditetapkan karena arus difusi akan menurun sebanding dengan $t^{1/2}$. Ketergantungan arus difusi terhadap waktu dapat dilihat dari persamaan 2.5. Berdasarkan hasil penentuan waktu pengukuran potensial secara kronoamperogram (pada lampiran L.5) diperoleh kisaran waktu pengukuran 0,3 detik sampai 1,5 detik. Kisaran waktu ini kemudian dioptimasi dan dibuat kurva hubungan waktu pengukuran terhadap arus difusi yang dihasilkan. Berdasarkan hasil optimasi waktu pengukuran diperoleh kurva sebagai berikut



Gambar 4.4. Kurva hubungan waktu pengukuran terhadap arus difusi pada larutan mannitol 0,1 mM

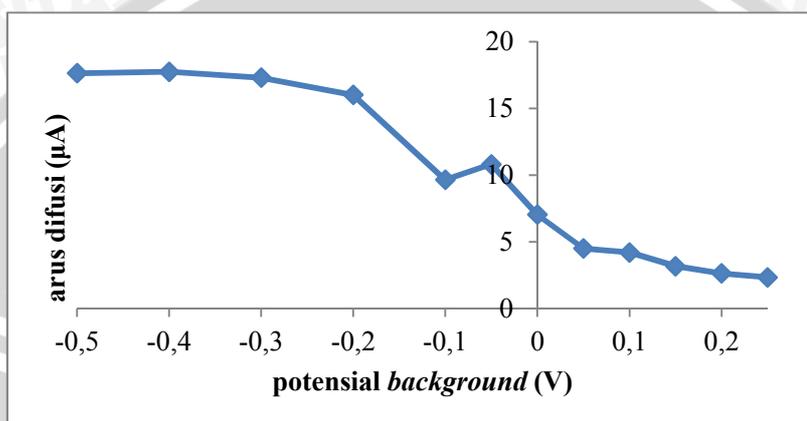
Dari kurva di atas, diperoleh waktu pengukuran potensial kerja mannitol sebesar 0,7 detik. Hal ini ditandai dengan arus difusi yang dihasilkan pada waktu 0,7 detik paling tinggi. Waktu pengukuran potensial oksidasi dan potensial reduksi diperoleh dari kurva kronoamperogram pada lampiran L.5. Waktu yang diperoleh untuk pengukuran potensial oksidasi sebesar 0,6 detik, dan potensial reduksi sebesar 2,4 detik.

Arus difusi yang dihasilkan pada waktu 0,5 detik dan 0,9 detik lebih rendah dibanding pada waktu 0,7 detik. Hal ini disebabkan oleh reaksi oksidasi mannitol yang terjadi tidak sempurna sehingga jumlah mannitol yang teroksidasi menjadi sedikit dan arus

difusi yang dihasilkan menjadi rendah. Pada waktu 0,9 detik, perbedaan konsentrasi mannitol pada permukaan elektroda kerja emas dan pada tubuh larutan cenderung sama sehingga laju difusi menjadi lambat dan arus difusi yang dihasilkan akan rendah.

4.1.3 Penentuan Potensial *Background*

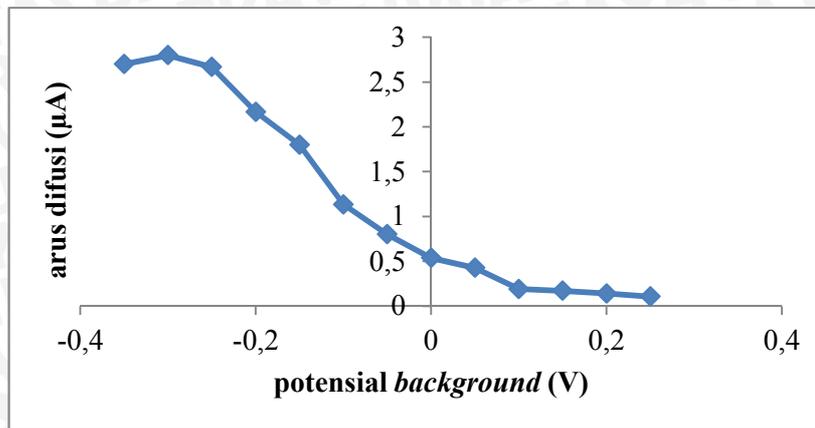
Pada teknik DPAD, digunakan potensial *background* untuk mengetahui arus non faraday dalam pengukuran. Teknik penentuan potensial *background* dilakukan dengan teknik *Differential Pulse Amperometry*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kurva hubungan potensial *background* dengan arus difusi pada kisaran potensial -0,5 V sampai 0,25 V dalam sistem ruah. Pada penentuan potensial *background* dalam sistem ruah diperoleh kurva seperti di bawah ini



Gambar 4.5. Kurva hubungan potensial *background* terhadap arus difusi pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem ruah

Dari gambar 4.5 diperoleh potensial *background* dalam sistem sistem ruah sebesar -0,4 V. Hal ini ditunjukkan dengan arus difusi yang paling tinggi.

Dalam sistem alir, penentuan potensial *background* dilakukan pada kisaran -0,35 V sampai 0,25 V. Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan diperoleh kurva di bawah ini

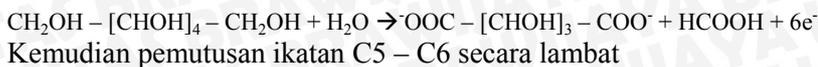


Gambar 4.6. Kurva hubungan potensial *background* terhadap arus difusi pada mannitol konsentrasi 0,5 mM dalam sistem alir

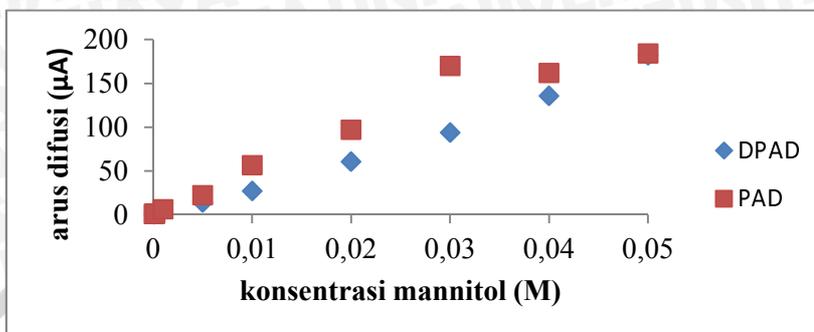
Berdasarkan kurva di atas diperoleh potensial *background* dalam sistem alir sebesar -0,3 V. Perbedaan bentuk kurva, nilai arus difusi yang dihasilkan, dan potensial *background* yang diperoleh disebabkan oleh perbedaan jumlah analit yang terukur pada sistem ruah dan sistem alir. Pada sistem ruah, perbedaan konsentrasi mannitol pada permukaan elektroda dan tubuh larutan besar. Akan tetapi pada sistem alir, perbedaan konsentrasi mannitol pada permukaan elektroda dan tubuh larutan rendah. Hal ini dikarenakan pada sistem alir, larutan akan bergerak masuk ke dalam sel elektrokimia dan bereaksi pada elektroda kerja sehingga jumlah mannitol yang bereaksi pada elektroda kerja emas lebih sedikit dibanding dalam sistem ruah.

4.2 Penentuan Mannitol Menggunakan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Alir

Mannitol dapat dioksidasi secara elektrokimia melalui 2 tahapan pemutusan atom C membentuk senyawa karboksilat yang tidak dapat direduksi kembali. Pertama, mannitol dioksidasi menjadi dengan pemutusan ikatan C1 – C2 secara cepat.

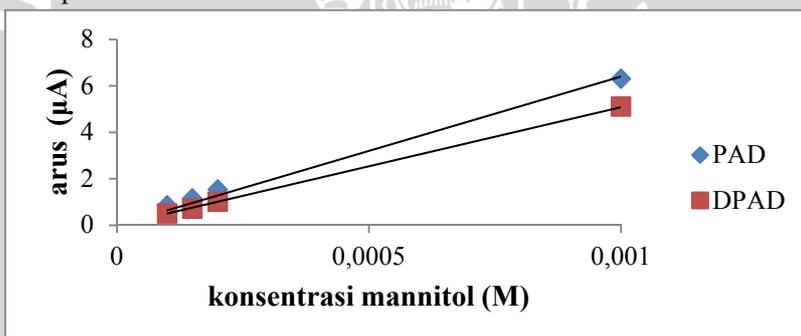


Larutan mannitol dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM diukur dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah. Berdasarkan pengukuran mannitol menggunakan teknik PAD dan DPAD dalam sistem alir dan sistem ruah diperoleh hasil seperti tabel di bawah ini



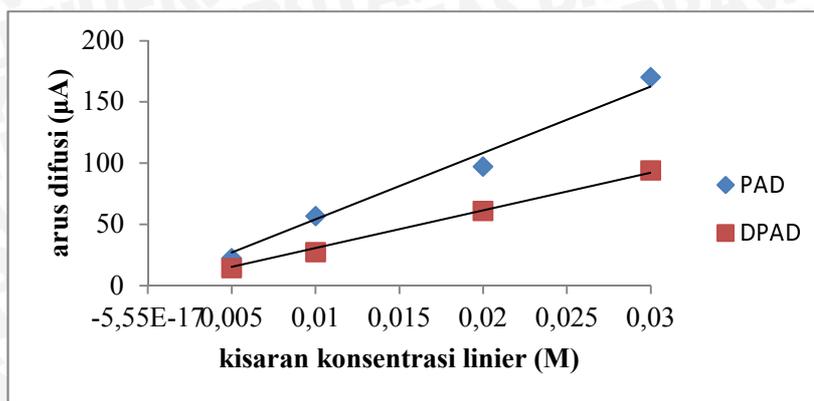
Gambar 4.7. Kurva hubungan konsentrasi mannitol terhadap arus dalam sistem ruah

Dari kurva di atas dapat ditentukan kisaran konsentrasi linier untuk penentuan mannitol dalam sistem ruah sebesar 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M.



Gambar 4.8. Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier terhadap arus pada sistem ruah

Dari gambar 4.7 juga dapat ditentukan kisaran konsentrasi linier untuk penentuan mannitol dalam sistem ruah sebesar 5×10^{-3} M sampai 3×10^{-3} M. Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier dengan arus difusi adalah sebagai berikut



Gambar 4.9. Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier terhadap arus difusi dalam sistem ruah

Berdasarkan kedua kisaran linier diperoleh batas deteksi, sensitifitas/kepekaan, dan linearitas penentuan mannitol dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah sesuai dengan tabel berikut

Tabel 4.1. Parameter pengukuran mannitol dalam sistem ruah pada kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M.

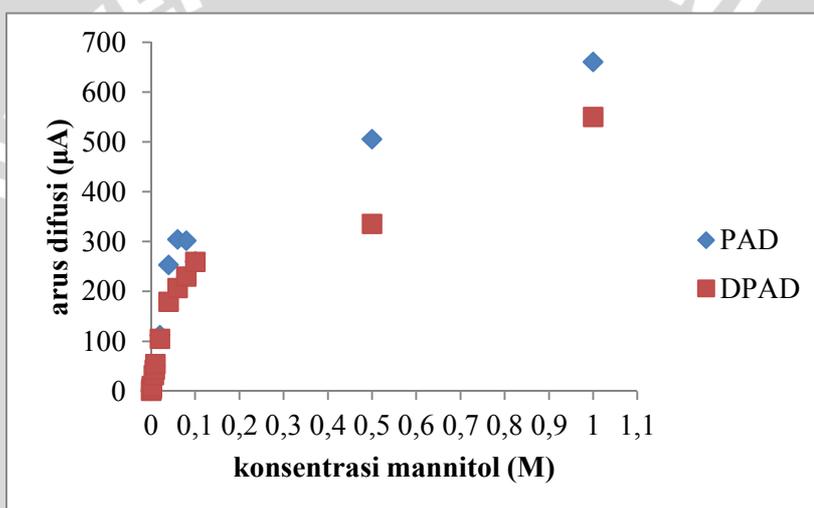
Parameter	Teknik PAD	Teknik DPAD
Kisaran konsentrasi linier (M)	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$
Sensitifitas/kepekaan ($\mu A/M$)	6396	5086
Batas deteksi (μM)	28	20
Linieritas	0.992	0.999
Persamaan	$y = 6396 x$	$y = 5086 x$

Tabel 4.2. Parameter pengukuran mannitol dalam sistem alir pada kisaran konsentrasi linier 5×10^{-3} M sampai 3×10^{-3} M

Parameter	Teknik PAD	Teknik DPAD
Kisaran konsentrasi linier (M)	5×10^{-3} - 3×10^{-3}	5×10^{-3} - 3×10^{-3}
Sensitifitas/kepekaan ($\mu\text{A}/\text{M}$)	5417	3072
Batas deteksi (μM)	18	70
Linieritas	0.982	0.995
Persamaan	$y = 5417 x$	$y = 3072 x$

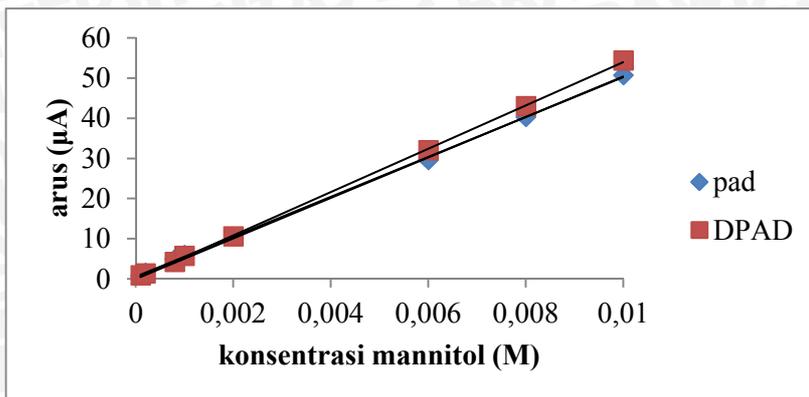
Bila dilihat dari nilai sensitifitas maka pada kisaran konsentrasi linier mannitol 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M memiliki parameter pengukuran yang lebih baik dibanding dengan kisaran konsentrasi 5×10^{-3} M sampai 3×10^{-3} M.

Penentuan mannitol pada kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1 M dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem alir diperoleh kurva sebagai berikut



Gambar 4.10. Kurva hubungan konsentrasi mannitol terhadap arus dalam sistem alir

Dari kurva di atas dapat ditentukan kisaran konsentrasi linier untuk penentuan mannitol dengan teknik PAD dan DPAD dalam sistem alir sebesar 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M.



Gambar 4.11. Kurva hubungan kisaran konsentrasi linier terhadap arus dalam sistem alir

Berdasarkan pengukuran mannitol menggunakan teknik PAD dan DPAD dalam sistem alir dan sistem ruah diperoleh hasil seperti tabel di bawah ini

Tabel 4.3. Parameter pengukuran mannitol dalam sistem ruah dan sistem alir dengan teknik PAD

parameter	sistem ruah	sistem alir
Kisaran konsentrasi (M)	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-2}$
Batas deteksi (μM)	28	10
Sensitifitas ($\mu\text{A/M}$)	6396	5040
Linearitas	0,992	0,999
Persamaan	$y = 6396 x$	$y = 5040 x$

Tabel 4.4.Parameter Pengukuran Mannitol dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir dengan Teknik DPAD

Parameter	sistem ruah	sistem alir
Kisaran konsentrasi (M)	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-2}$
Batas deteksi (μM)	20	63
Sensitifitas ($\mu\text{A/M}$)	5086	5395
Linearitas	0,999	0,999
Persamaan	$y = 5086 x$	$y = 5395 x$

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa kisaran konsentrasi yang dihasilkan dalam sistem alir lebih panjang dibandingkan dalam sistem ruah. Hal ini dikarenakan dalam sistem alir memungkinkan pekerjaan secara kontinu sehingga arus yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi mannitol.

Batas deteksi menunjukkan konsentrasi terendah yang masih dapat terbaca oleh alat serta memberikan nilai arus tiga kali lebih besar daripada nilai arus blanko. Batas deteksi yang terendah dihasilkan oleh pengukuran mannitol dengan teknik PAD dalam sistem alir. Hal ini dikarenakan *noise* (gangguan) pada sistem alir lebih rendah dibanding sistem ruah sedangkan pada teknik DPAD batas deteksi yang dihasilkan lebih besar dibanding dengan teknik PAD karena pada teknik DPAD potensial denyut yang diterapkan sebanyak 4 denyut. Seperti yang telah diketahui bahwa dengan penerapan potensial bertahap, arus yang terukur bukan hanya arus difusi yang berasal dari analit saja tetapi juga arus kapasitif. Penambahan jumlah denyut dalam suatu pengukuran akan meningkatkan arus kapasitif sehingga arus *noise* pada teknik DPAD lebih besar dibanding dengan teknik PAD.

Sensitifitas menunjukkan kesesuaian perubahan konsentrasi terhadap perubahan arus difusi yang diperoleh dari slope persamaan regresi linier. Sensitifitas teknik PAD dalam sistem ruah merupakan sensitifitas yang paling tinggi dibandingkan dengan teknik yang lain.

Hal ini disebabkan oleh *noise* (gangguan) pada teknik DPAD lebih besar dibanding pada teknik PAD. Linearitas menunjukkan ketepatan pengukuran. Pada penentuan mannitol dengan teknik PAD dan DPAD baik dalam sistem ruah maupun sistem alir dihasilkan linearitas yang tinggi. Hasil ini menunjukkan ketepatan penentuan mannitol dengan PAD maupun DPAD baik.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kondisi optimum penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dan DPAD dalam sistem ruah dan sistem alir adalah sebagai berikut

1. Teknik PAD dalam sistem ruah adalah potensial kerja 0,3 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik
2. Teknik DPAD dalam sistem ruah adalah potensial kerja 0,3 V selama 0,7 detik, potensial *background* -0,4 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.
3. Teknik PAD dalam sistem alir adalah potensial kerja 0,2 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik
4. Teknik DPAD dalam sistem alir adalah potensial kerja 0,2 V selama 0,7 detik, potensial *background* -0,3 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.

Kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, sensitifitas, dan linearitas hasil penelitian, berturut-turut sebagai berikut

1. Pada teknik PAD sistem ruah kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M, batas deteksi 28 μM , sensitifitas 6396 $\mu\text{A/M}$, linearitas 0,992
2. Pada teknik DPAD sistem ruah kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-3} M, batas deteksi 20 μM , sensitifitas 5086 $\mu\text{A/M}$, linearitas 0,999
3. Pada teknik PAD sistem alir kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M, batas deteksi 10 μM , sensitifitas 5040 $\mu\text{A/M}$, linearitas 0,999
4. Pada teknik DPAD sistem alir kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M, batas deteksi 63 μM , sensitifitas 5395 $\mu\text{A/M}$, linearitas 0,999.

5.2 Saran

Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut untuk mengaplikasikan metode ini pada sampel makanan secara langsung.



DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Badal, C.S., and F. Michael Rachine, 2011, Biotechnological Production of Mannitol And Its Applications. *Application Microbial Biotechnol*, **89**, 879-891
- [2]. Bambang, M., Patrick, dan Ahmad, D., dan Leonardus, S.B.K., 2009, Isolasi Senyawa Manitol dan Ergosterol dari Fraksi Isopropanol Jamur Tanduk (*Termitomyces eurhizus Berk*), *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia*, **7**, 79-83
- [3]. Yugo, Suryo Priyadi, 2012, **Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel**, Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi, Universitas Indonesia, Jakarta, 1
- [4]. Gillian, E., and William, H., 2006, Determination of Sugarcane Deterioration at the Factory: Development of a Rapid, Easy and Inexpensive Enzymatic Method to Measure Mannitol, *Food Chemistry*, **98**, 366–372
- [5]. Tim BPOM, 2011, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.5.12.11.09955 Tahun 2011 Tentang Pendaftaran Pangan Olahan , *Badan Pengawan Obat dan Makanan, Indonesia*
- [6]. Wang, H.X., Li, Y.Q, and Li, L., 2006, Determination of Mannitol in Health Food by Capillary Gas Chromatography, *Journal of Sinchuan University*, **37**, 480-483
- [7]. Kazunori, M., Ross, B., and Geoffrey, D., 1996, Rapid and Simultaneous Quantification of Rhamnose, Mannitol, and Lactose in Urine by HPLC for Estimating Intestinal Permeability in Pediatric Practice, *Clinical Chemistry*, **42**, 71-75.
- [8]. S.A. Wring., A. Terry, R. Causon, and W.N. Jenner, 1998, The Electroanalysis of Mannitol, Xylose and Lactulose at

Copper Electrodes: Voltammetric Studies and Bioanalysis in Human Urine by Means of HPLC with Electrochemical Detection, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **16**, 1213–1224

- [9]. Gang, C., Luyan, Z., Xingliang, W., and Jiannong, Y., 2005, Determination of Mannitol and Three Sugar in *Ligustrum lucidum* Ait. by Capillary Electrophoresis with Electrochemical Detection, *Analytica Chimica Acta*, **530**, 15-21
- [10]. Alfred, S., and Andrea, W., tanpa tahun, Determining Carbohydrates in Essential and Non-Essential Foodstuff Using Ion Chromatography, *Separation science*, **3**, 6
- [11]. Allen, J. B., and Larry R. F., 2001, **Electrochemical Methods : Fundamental and applications**, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc, New York, 9-10, 157-159,163-164,
- [12]. Joseph, W., 2006, **Analytical Electrochemistry**, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc, New Jersey, 32-34, 67-68, 76-80, 98-105
- [13]. Scholz, F., 2010, **Electroanalytical Methods Guide to Experiment and Applicatio**, 2nd, Revised and Extended Edition, Springer, New York, 33-34
- [14]. Christopher, M. A. B., and Ana, M.O.B., 1994, **Electrochemistry : Principle, Methodse, and Application**, Oxford University Press Inc, New York, 129-130, 200-201,
- [15]. Jiri, K., Jiri, D., and Ladislav, K., 1993, **Principles of Electrochemistr**, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, England, 198-202

- [16]. Mithran, S., and Werasak, S., 2012, **Food and Nutritional Components**, The Royal Society of Chemistry, Thailand, 484-497
- [17]. John, K. K., 2009, **An Analytical Method for the Measurement of Lactulose and Mannitol; A Non-Invasive Method for the Measurement of Intestinal Permiability**, A Dissertation Submitted To The Rajiv Gandhi University Of Health Sciences, Karnataka, Bangalore, India, 45-47
- [18]. Francois, M., and Francois, G., 1985, Fast in Vivo Monitoring Dopamine Release in the Rat Brain with Differential Pulse Amperometry, *Analytic Chemistry*, **57**, 1778-1779.
- [19]. Fabiano, B.G., Claudete, F.P., and Antonio, 2005, Development of an Automatic Electrochemical System for Differential Pulse Amperometry and Its Application for Se(IV) Determination , *Electroanalysis*, **17**, 2084-2089.
- [20]. Simon, C.F., Moses, S.K., Michael, F.L., and Gerald, E.L., and George, E.G., 1990. Rapid and Simultaneous Determination of Lactulose and Mannitol in Urine, by HPLC with Pulsed Amperometric Detection, for Use in Studies of Intestinal Permeability, *Clinical Chemistry*, **36**, 797-799.
- [21]. M.S. Barboza, T.M.J, Silva., R.L., Guerrant., and A.A.M.Lima., 1999, Measurement of Intestinal Permeability using Mannitol and Lactulose in Children with Diarrheal Diseases, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **32**, 1499-1504.
- [22]. ESA, 2010, Technical Note : The Working Electrode-2, *ESA Analytical*, 2
- [23]. Fransisco, J.H.L., Jose, L.G.A., Fernando, J.A.C., and Jose, L.B.G, 1997, A PC-Controlled Voltage Pulse Generator for

Electroanalytical Applications, *review of scientific instruments*, **68**, 1879- 1885

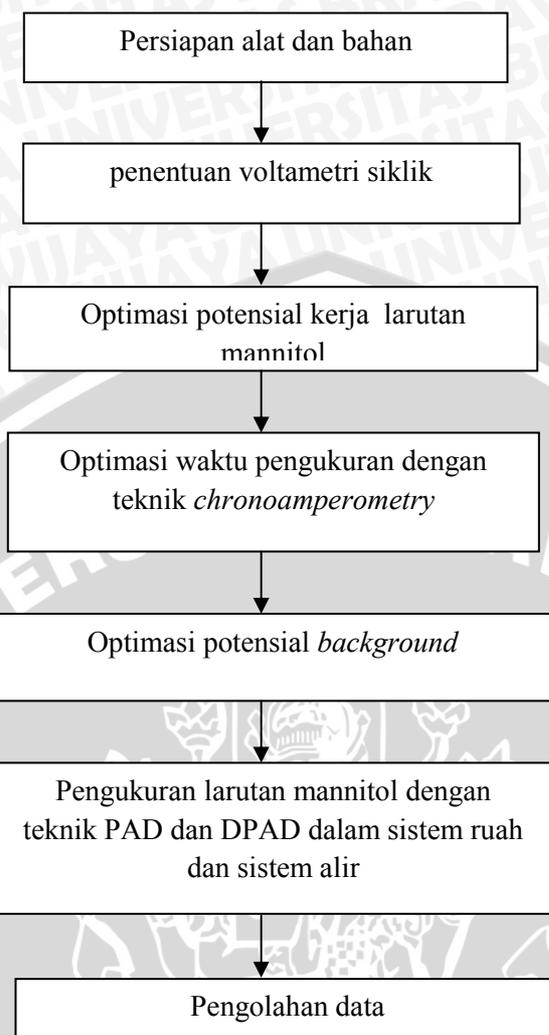
[24]. Jaromir, R., and Elo, and Harald H., 1988 , **Flow Injection Analysis**, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc, Canada, 1-9

[25]. Livia, N., Geza,N., and Peter, H., 2001, Copper Electrode Based Amperometry Detection Cell for Sugar and Organic Acid Measurement, *Sensor And Actuators. B*, **76**, 494-499



Lampiran

L.1. Diagram Alir Tahapan Penelitian



Gambar L1. Diagram alir tahapan penelitian

L.2. Diagram Kerja

L.2.1. Penentuan Voltametri Siklik

L.2.1.1. Penentuan Voltametri Siklik Larutan NaOH 0,1 M

Larutan NaOH 0,1M

- dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL sebanyak 5 mL dengan mikro pipet 5000 μL .
- elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- program pada komputer dipilih *cyclic voltammetry*, kemudian potensial diatur dari -0,8 V sampai 0,8 V.
- dijalankan program voltametri siklik.

Voltamogram siklik larutan NaOH 0,1 M

L.2.1.2. Penentuan Voltametri Siklik Larutan Mannitol 2,5 mM; 5mM; 10 mM

Larutan mannitol 1 M

- Dipipet masing-masing sebanyak 12,5 μL ; 25 μL ; 50 μL ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5 mL.
- Elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* di rekatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- Program pada komputer dipilih *cyclic voltammetry*, kemudian potensial diatur dari -0,8 V sampai 0,8 V
- Dijalankan program voltametri siklik.

Voltamogram siklik larutan mannitol 2,5 mM; 5mM; 10 mM

L.2.2. Penentuan Potensial Kerja Mannitol

L.2.2.1. Penentuan Potensial Kerja Mannitol dalam Sistem Ruah

Larutan mannitol 1 M

- dipipet sebanyak 2,5 μL ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5 mL.
- dimasukkan pengaduk magnet ke dalam gelas kimia 10 mL.
- elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- program pada komputer dipilih *multiple pulse amperometry*.
- potensial dipilih 0,05 V; 0,10 V; 0,15 V; 0,20 V; 0,25 V; 0,30 V; 0,35 V; 0,40 V
- dijalankan program voltametri *multiple pulse amperometry*.
- pengerjaan diatas diulangi untuk masing-masing potensial.

Amperogram larutan mannitol 0,5 M

L.2.2.2. Penentuan Potensial Kerja Mannitol dalam Sistem Alir

Larutan NaOH 0,1 M

- dimasukkan ke dalam botol penampung
- selang pompa dengan gerakan peristaltik dicelupkan ke dalam botol penampung berisi larutan NaOH 0,1 M
- pompa dihidupkan dengan kecepatan 1 mL/menit.
- program pada komputer dipilih *multiple pulse amperometry*.
- potensial dipilih 0,05 V; 0,10 V; 0,15 V; 0,20 V; 0,25 V; 0,30 V; 0,35 V; 0,40 V

- dijalankan program voltametri *multiple pulse amperometry*.
- bila arus menunjukkan nilai yang relatif sama, larutan mannitol 0,5 M ditambahkan ke dalam katup injeksi sebanyak 60 μL
- penambahan larutan mannitol diulangi sebanyak 3 kali setiap arus bernilai relatif sama
- pengerjaan diatas diulangi untuk masing-masing potensial.

Amperogram larutan mannitol 0,5 M

L.2.3. Penentuan Waktu Pengukuran

L.2.3.1. Penentuan Waktu Pengukuran Potensial larutan NaOH 0,1M

Larutan NaOH 0,1 M

- dimasukkan ke dalam gelas kimia 10 mL sebanyak 5 mL dengan mikro pipet 5000 μL .
- elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- program pada komputer dipilih *chronoamperometry*, kemudian potensial diatur dengan tahapan potensial kerja, potensial oksidasi, dan potensial reduksi.
- dijalankan program *chronoamperometry*.

kronoamperogram larutan NaOH 0,1 M

L.2.3.2. Penentuan Waktu Pengukuran Potensial Larutan Mannitol

Larutan mannitol 1 M

- dipipet masing-masing sebanyak 10 μL ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5 mL. Elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- program pada komputer dipilih *chronoamperometry*, kemudian potensial diatur dengan tahapan potensial kerja, potensial oksidasi, dan potensial reduksi.
- dijalankan program *chronoamperometry*.

Kronoamperogram larutan mannitol 2 mM

L.2.4. Penentuan Potensial *Background* Larutan Mannitol

L.2.4.1 Penentuan Potensial *Background* Larutan Mannitol dalam Sistem Ruah

Larutan mannitol 1M

- dipipet sebanyak 2,5 μL ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5 mL.
- dimasukkan pengaduk magnet ke dalam gelas kimia 10 mL.
- elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- program pada komputer dipilih *differential pulse amperometry*.
- potensial dipilih -0,50 V; -0,40 V; -0,30 V; -0,20 V; -0,10 V; -0,05 V; 0,00 V; 0,05 V; 0,10 V; 0,15 V; 0,20 V; 0,25 V

- dijalankan program *differential pulse amperometry*.
- pengerjaan diatas diulangi untuk masing-masing potensial.

Amperogram larutan mannitol 0,5 M

L.2.4.2. Penentuan Potensial *Background* Larutan Mannitol dalam Sistem Alir

Larutan NaOH 0,1 M

- dimasukkan ke dalam botol penampung
- selang pompa dengan gerakan peristaltik dicelupkan ke dalam botol penampung berisi larutan NaOH 0,1 M
- pompa dihidupkan dengan kecepatan 1 mL/menit.
- program pada komputer dipilih *differential pulse amperometry*
- potensial dipilih dipilih -0,50 V; -0,40 V; -0,30 V; -0,20 V; -0,10 V; -0,05 V; 0,00 V; 0,05 V; 0,10 V; 0,15 V; 0,20 V; 0,25 V
- dijalankan program *differential pulse amperometry*.
- bila arus yang dihasilkan bernilai relatif sama, larutan mannitol 0,5 M ditambahkan ke dalam katup injeksi sebanyak 60 μ L
- penambahan larutan mannitol diulangi sebanyak 3 kali setiap arus yang dihasilkan bernilai relatif sama
- pengerjaan diatas diulangi untuk masing-masing potensial.

Amperogram larutan mannitol 0,5 M

L.2.5. Penentuan Larutan Mannitol dalam Teknik PAD dan DPAD

L.2.5.1. Penentuan Larutan Mannitol dalam Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah

Larutan mannitol 1 M

- dipipet sebanyak 0,5 μL sampai 250 μL ke dalam gelas kimia 10 mL yang berisi larutan NaOH 0,1 M sebanyak 5 mL.
- dimasukkan pengaduk magnet ke dalam gelas kimia 10 mL.
- elektroda kerja, elektroda pembanding, dan *counter electrode* direkatkan kemudian dicelupkan ke dalam gelas kimia 10 mL.
- pada teknik PAD, program pada komputer dipilih *multiple pulse amperometry*.
- potensial yang digunakan potensial kerja 0,30 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.
- pada teknik DPAD, program pada computer dipilih *differential pulse amperometry*.
- potensial yang digunakan potensial kerja 0,3 V selama 0,7 detik, potensial *background* -0,4 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.
- dijalankan masing-masing program amperometri

Amperogram larutan mannitol

L.2.5.2 Penentuan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Alir

Larutan NaOH 0,1 M

- dimasukkan ke dalam botol penampung
- selang pompa dengan gerakan peristaltik dicelupkan ke dalam botol penampung berisi larutan NaOH 0,1 M.
- pompa dihidupkan dengan kecepatan 1 mL/menit.
- pada teknik PAD, program pada komputer dipilih *multiple pulse amperometry*.
- potensial yang digunakan potensial kerja 0,20 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.
- pada teknik DPAD, program pada computer dipilih *differential pulse amperometry*.
- potensial yang digunakan potensial kerja 0,2 V selama 0,7 detik, potensial *background* -0,3 V selama 0,7 detik, potensial oksidasi 0,8 V selama 0,6 detik, dan potensial reduksi -0,8 V selama 2,4 detik.
- dijalankan masing-masing program amperometri

Amperogram larutan mannitol

L.3. Pembuatan Larutan

L.3.1. Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M

Sebanyak 4 gram padatan NaOH ditimbang dan dilarutkan sedikit dengan air deionisasi dalam gelas kimia. Kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu takar 1000 mL dan ditambahkan air deionisasi sampai tanda batas. Setelah itu larutan dihomogenkan.

$BM\ NaOH = 40\ gram/mol$; $volume\ larutan\ NaOH = 1\ L$;
 $konsentrasi\ NaOH = 0,1\ mol/L$

$$\begin{aligned} \text{Mol NaOH} &= [\text{NaOH}] \times \text{volume NaOH} \\ &= 0,1 \text{ mol/L} \times 1 \text{ L} \\ &= 0,1 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa NaOH} &= \text{mol NaOH} \times \text{BM NaOH} \\ &= 0,1 \text{ mol} \times 40 \text{ gram/mol} \\ &= 4 \text{ gram} \end{aligned}$$

L.3.2. Pembuatan Larutan Mannitol 1 M

Padatan D-mannitol sebanyak 0.9108 gram ditimbang dan dilarutkan dengan air deionisasi hingga volume 2 mL dalam gelas kimia. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan air deionisasi hingga tanda batas. Setelah itu dihomogenkan.

BM mannitol = 182,17 gram/mol ; volume larutan mannitol = 5 mL ; konsentrasi mannitol = 1 mol/L

$$\begin{aligned} \text{Mol mannitol} &= [\text{mannitol}] \times \text{volume mannitol} \\ &= 1 \text{ mol/L} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 5 \times 10^{-3} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa mannitol} &= \text{mol mannitol} \times \text{BM mannitol} \\ &= 5 \times 10^{-3} \text{ mol} \times 182,17 \text{ gram/mol} = 0,9108 \text{ gram} \end{aligned}$$

L.3.3. Pembuatan larutan mannitol dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1 M

Larutan mannitol 1 M dipipet sebanyak 0,5 μL ; 2,5 μL ; 10 μL ; 12,5 μL ; 20 μL ; 30 μL ; 40 μL ; 50 μL ; 100 μL ; 200 μL ; 300 μL ; 400 μL ; 500 μL ; 2500 μL ; 5000 μL menggunakan mikropipet 0 - 100 μL , 100 - 1000 μL , dan 5000 μL . Selanjutnya masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL. ditambahkan air deionisasi sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 0,1 mM

$$\frac{1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 0,5 \times 10^{-6} \text{ L} = 0,5 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 0,5 mM

$$= \frac{5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 2,5 \times 10^{-6} \text{ L} = 2,5 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 2 mM

$$= \frac{2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 10 \times 10^{-6} \text{ L} = 10 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 2,5 mM

$$= \frac{2,5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 12,5 \times 10^{-6} \text{ L} = 12,5 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 4 mM

$$= \frac{4 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 20 \times 10^{-6} \text{ L} = 20 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 5 mM

$$= \frac{5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 25 \times 10^{-6} \text{ L} = 25 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 6 mM

$$= \frac{6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 30 \times 10^{-6} \text{ L} = 30 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 8 mM

$$= \frac{8 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 40 \times 10^{-6} \text{ L} = 40 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 10 mM

$$= \frac{10 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 50 \times 10^{-6} \text{ L} = 50 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 20 mM

$$= \frac{20 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 100 \times 10^{-6} \text{ L} = 100 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 40 mM

$$= \frac{40 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 200 \times 10^{-6} \text{ L} = 200 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 60 mM

$$= \frac{60 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 300 \times 10^{-6} \text{ L} = 300 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 80 mM

$$= \frac{80 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 400 \times 10^{-6} \text{ L} = 400 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 100 mM

$$= \frac{100 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 500 \times 10^{-6} \text{ L} = 500 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 500 mM

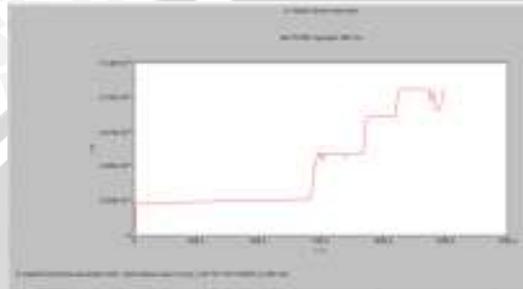
$$= \frac{500 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 2500 \times 10^{-6} \text{ L} = 2500 \mu\text{L}$$

Volume larutan mannitol 1 M yang dibutuhkan untuk membuat larutan mannitol 1000 mM

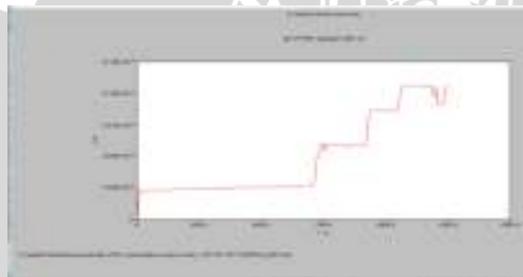
$$= \frac{1000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}}{1 \text{ mol/L}} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 5000 \times 10^{-6} \text{ L} = 5000 \mu\text{L}$$

L.4. Penentuan Potensial Kerja

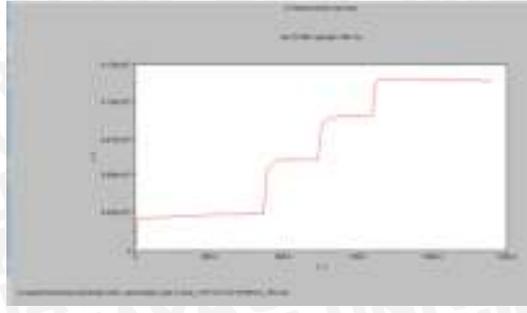
Amperogram yang diperoleh dari penentuan potensial kerja dalam sistem ruah dengan kisaran potensial 0,05 V sampai 0,4 V adalah sebagai berikut
0,05 V



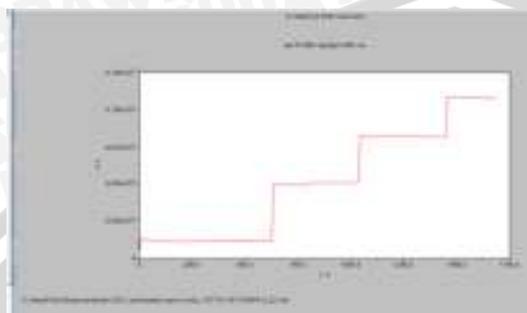
0,10 V



0,15 V



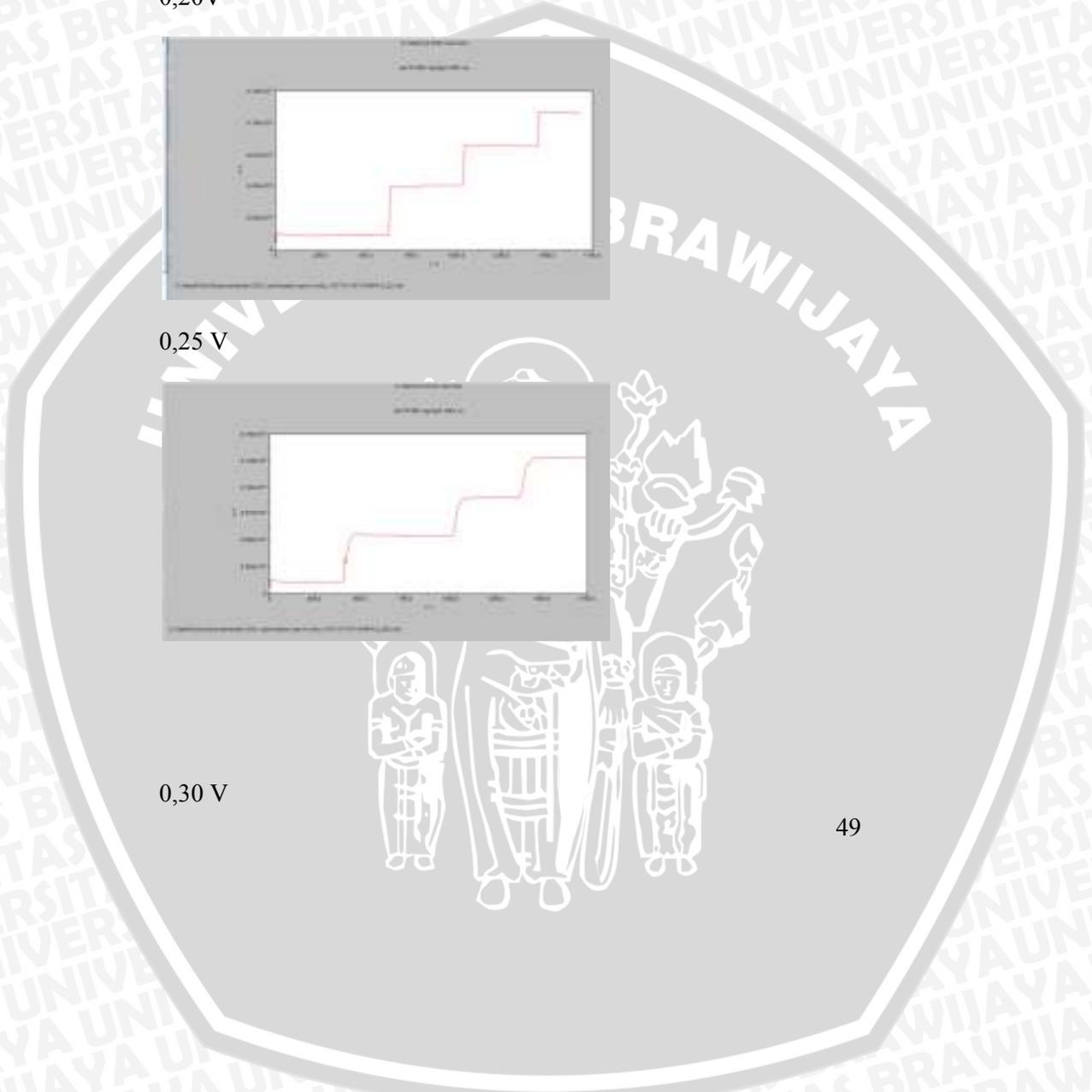
0,20V

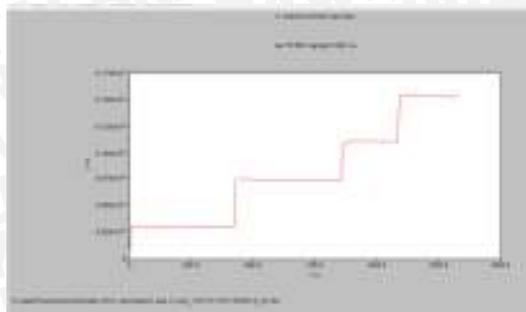


0,25 V



0,30 V





0,35 V

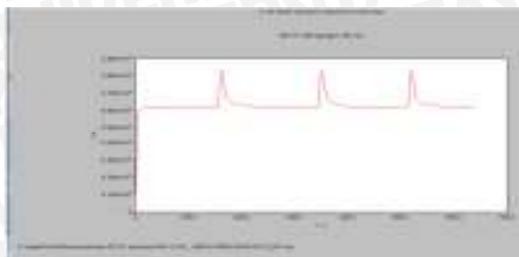


0,40

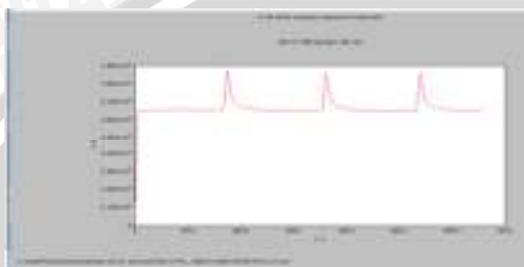


Gambar L.2. Amperogram penentuan potensial kerja dari penentuan mannitol dengan kisaran 0,05 V sampai 0,40 V dalam sistem ruah

Amperogram yang diperoleh dari penentuan potensial kerja dalam sistem alir dengan kisaran potensial 0,05 V sampai 0,35 V adalah sebagai berikut :



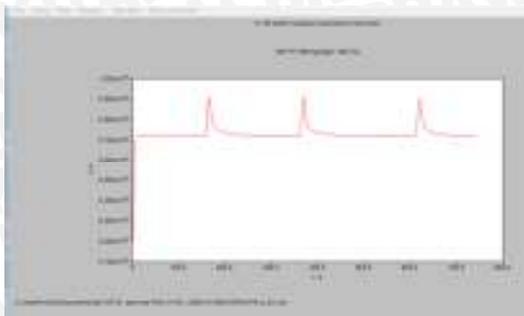
0,10 V



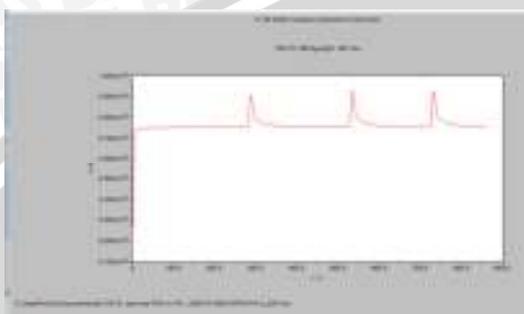
0,15 V



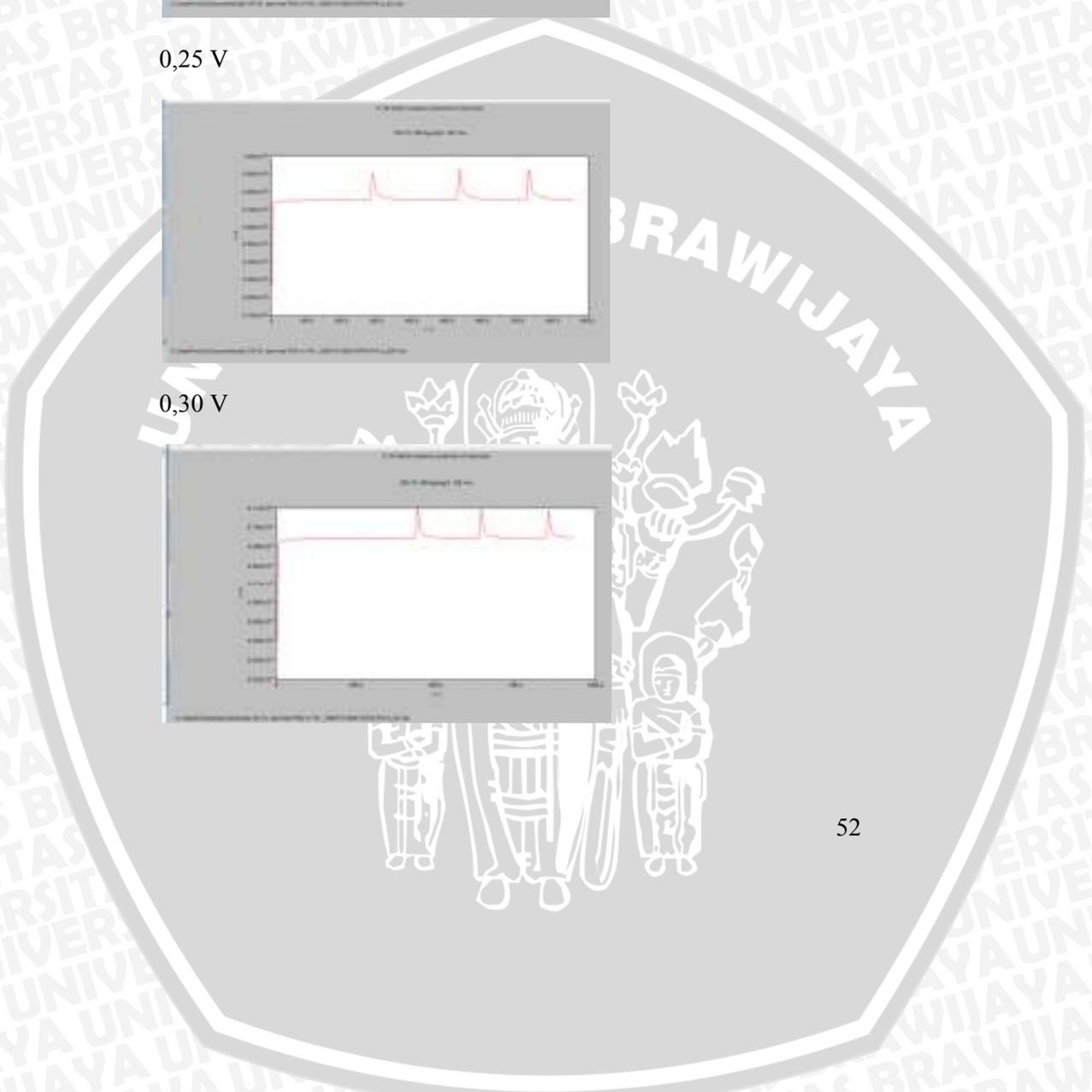
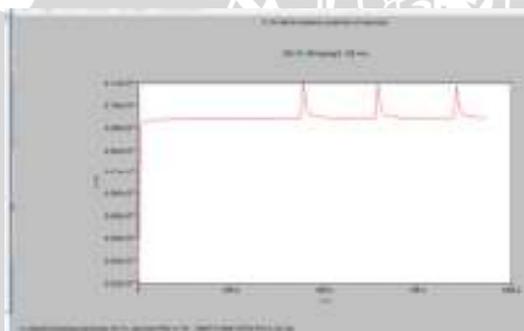
0,20 V



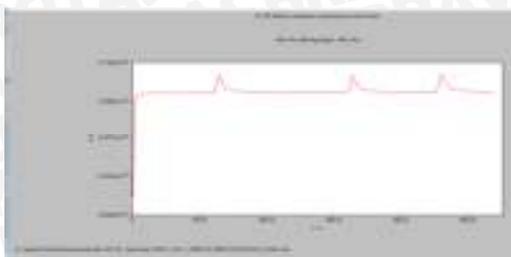
0,25 V



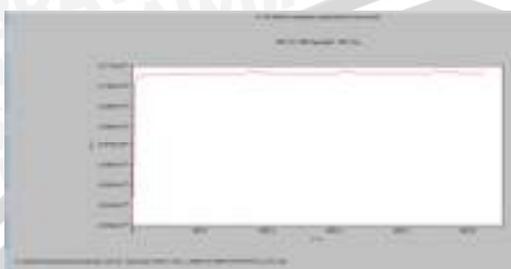
0,30 V



0,35 V

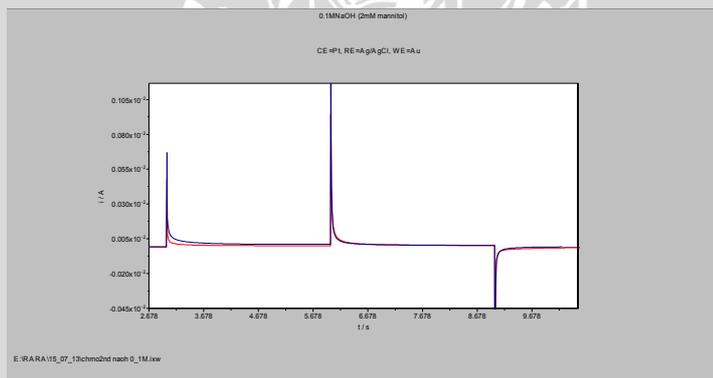


0,40 V



Gambar L.3. Amperogram penentuan potensial kerja dari penentuan mannitol dengan kisaran 0,05 V sampai 0,40 V dalam sistem alir

L.5. Penentuan Waktu Pengukuran



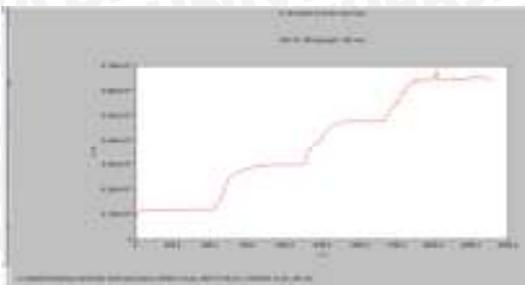
Gambar L.4. Kronoamperogram hubungan waktu terhadap arus



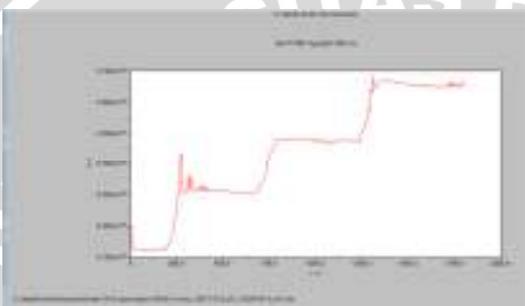
L.6. Penentuan Potensial *Background*

Amperogram yang diperoleh dari penentuan potensial *background* dalam sistem ruah dengan kisaran potensial -0,5 V sampai 0,25 V adalah sebagai berikut :

-0,5 V



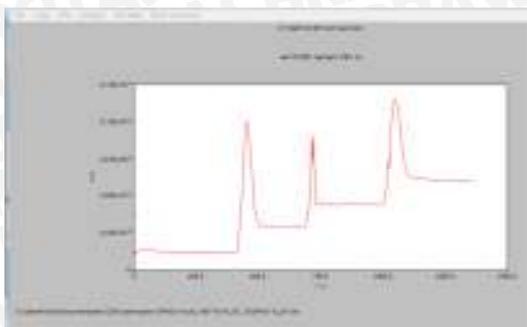
-0,40 V



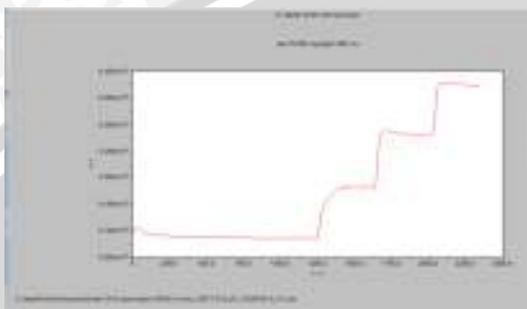
-0,30 V



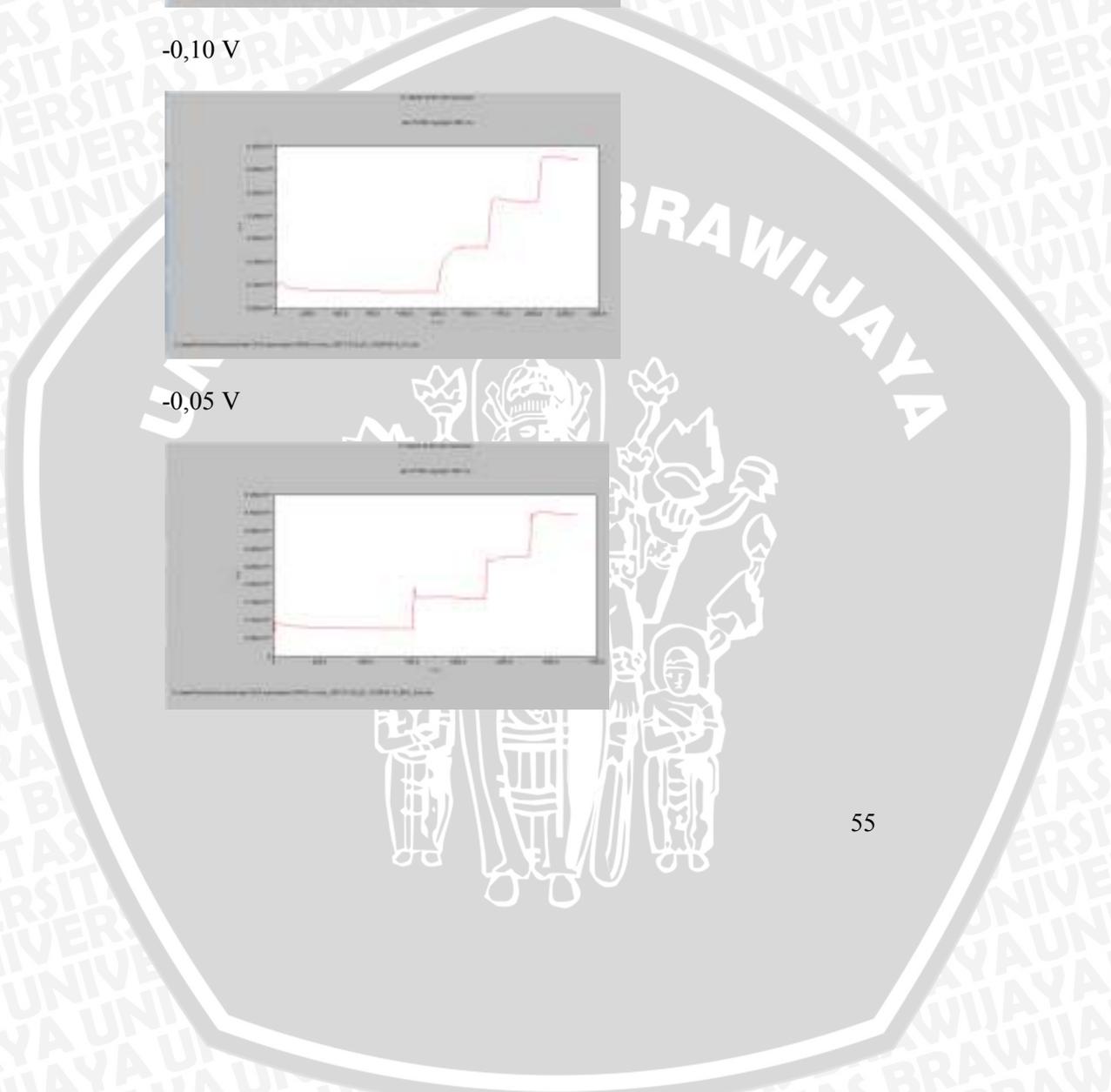
-0,20 V



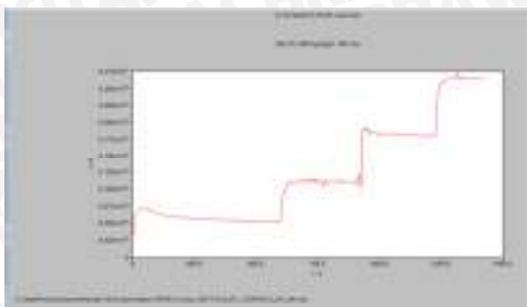
-0,10 V



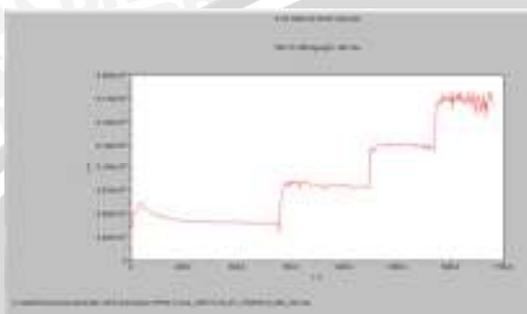
-0,05 V



0,00 V



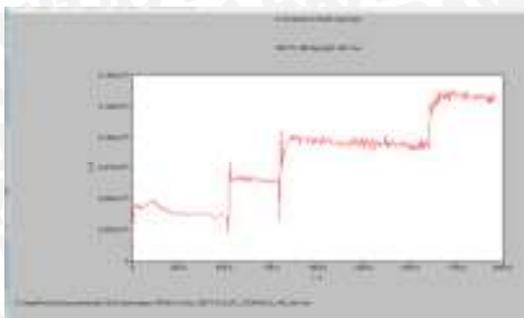
0,05 V



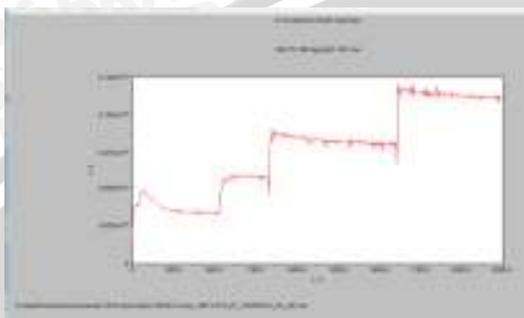
0,10 V



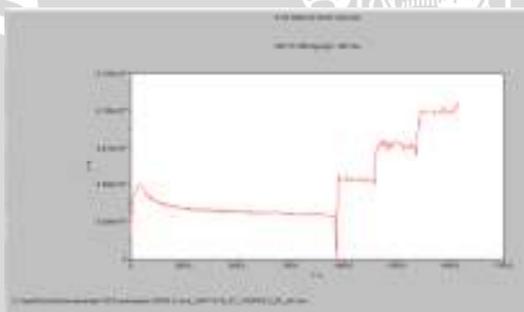
0,15 V



0,20 V



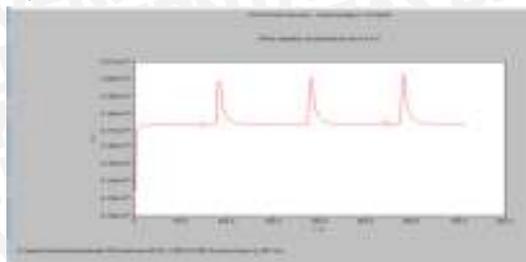
0,25 V



Gambar L.5. Amperogram penentuan potensial *background* dari penentuan mannitol dengan kisaran -0,5 V sampai 0,25 V dalam sistem ruah

Amperogram yang diperoleh dari penentuan potensial *background* dalam sistem alir dengan kisaran potensial -0,35 V sampai 0,25 V.

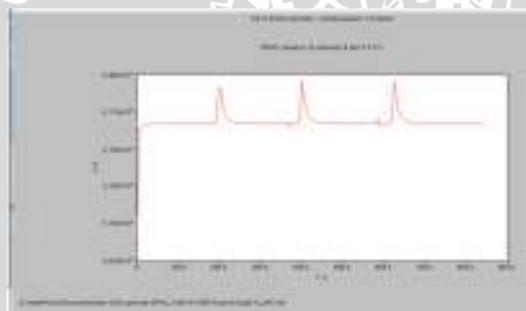
-0,35 V



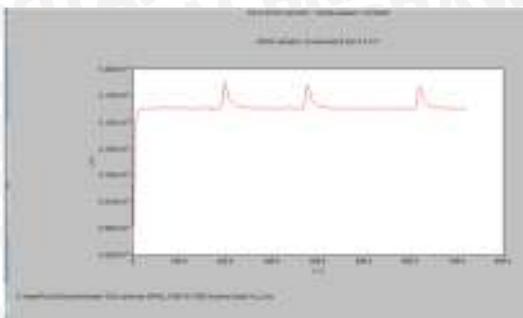
-0,30 V



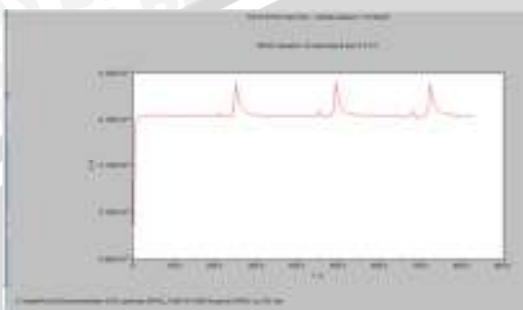
-0,25 V



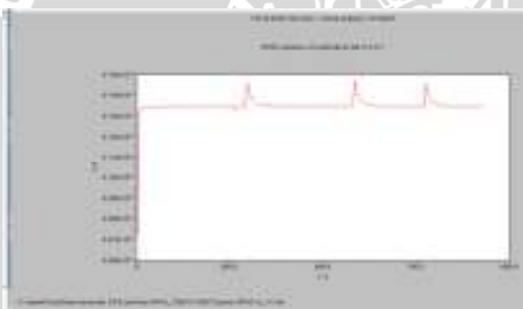
-0,20 V



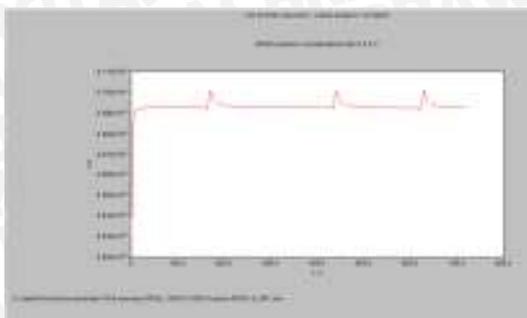
-0,15 V



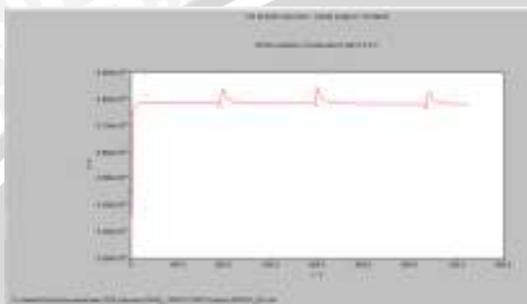
-0,10 V



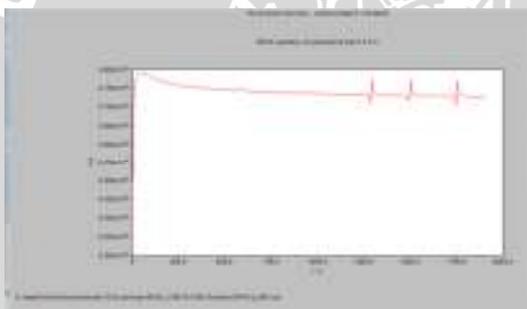
-0,05 V



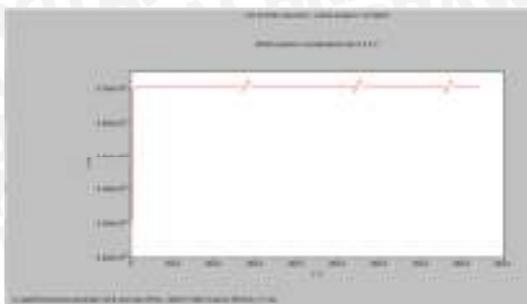
0,00 V



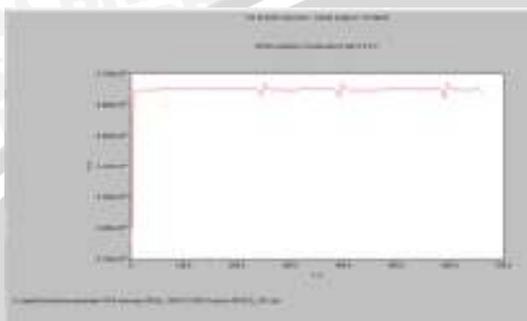
0,05 V



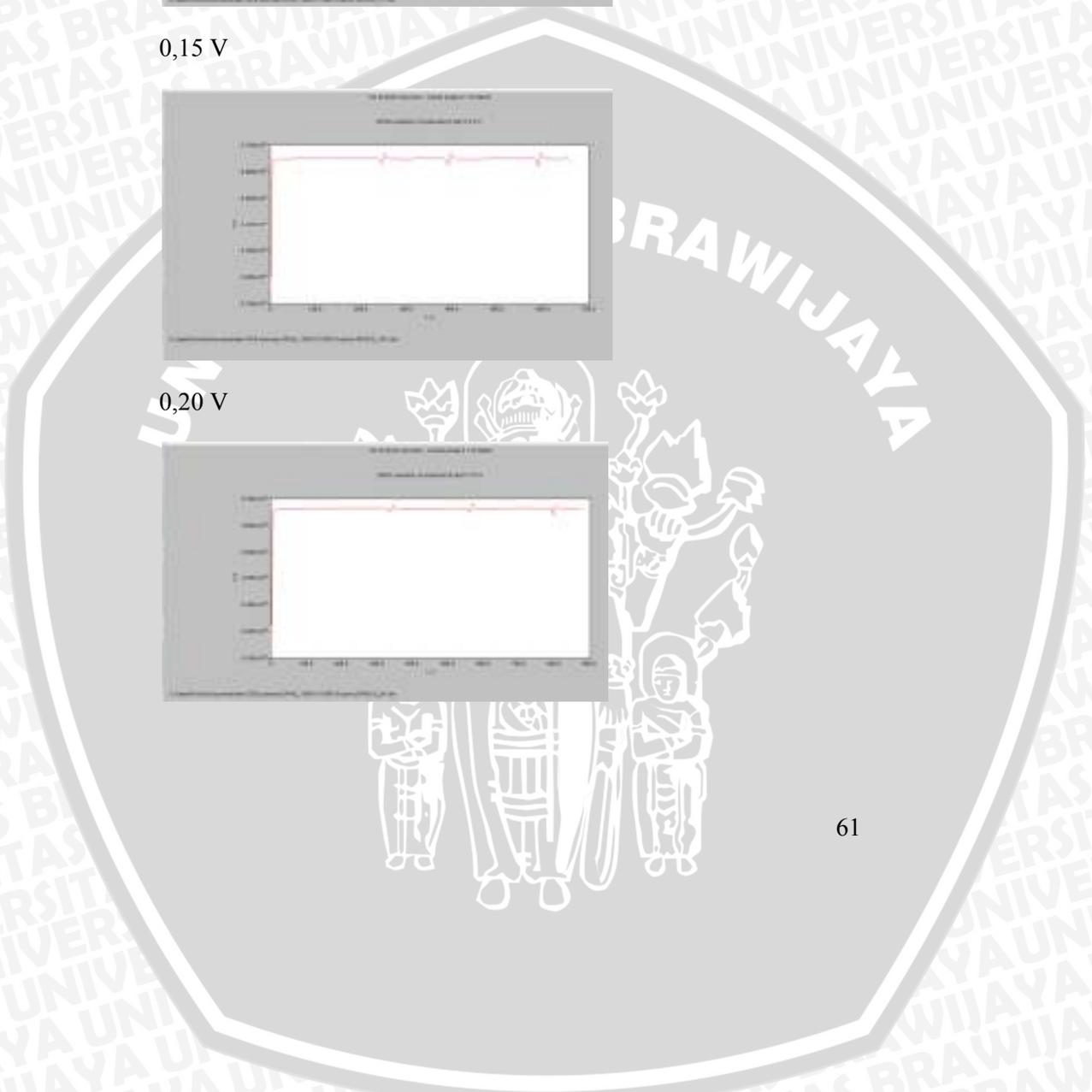
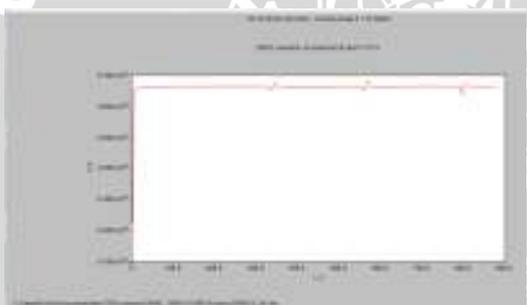
0,10 V



0,15 V



0,20 V



0,25 V

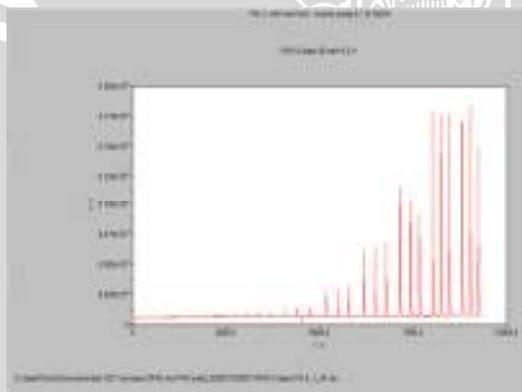


Gambar L.6. Amperogram penentuan potensial *background* dari penentuan mannitol dengan kisaran -0,35 V sampai 0,25 V dalam sistem alir

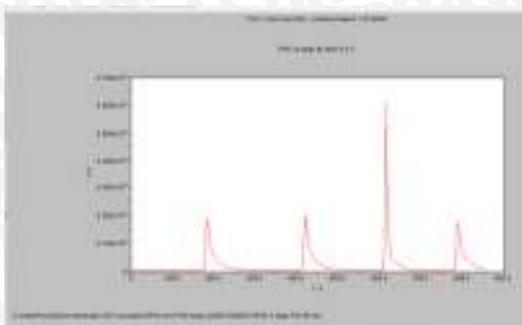
L.7. Penentuan Batas Deteksi Penentuan Mannitol dengan Teknik PAD dan DPAD dalam Sistem Ruah dan Sistem Alir

Amperogram yang diperoleh dari penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM dalam sistem ruah adalah sebagai berikut :

Kosentrasi Mannitol 0,1 mM sampai 40 mM



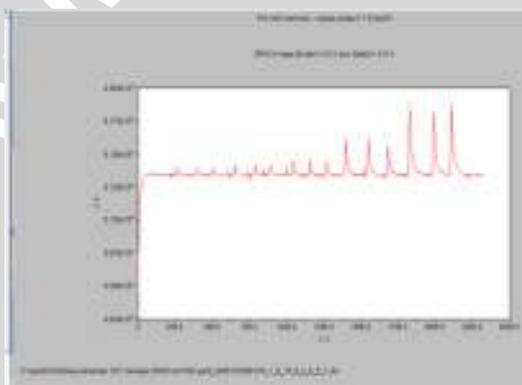
Konsentrasi Mannitol 50 mM



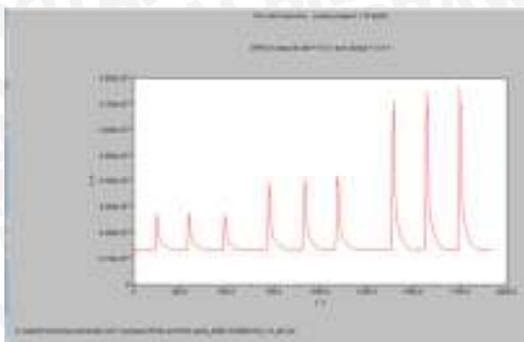
Gambar L.7. Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dalam sistem ruah dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM

Amperogram yang diperoleh dari penentuan mannitol menggunakan teknik DPAD dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM dalam sistem ruah adalah sebagai berikut :

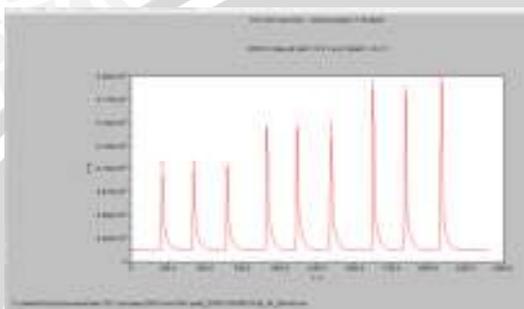
Konsentrasi 0,1 mM sampai 1 mM



Kosentrasi 5mM sampai 20 mM



Kosentrasi 30 mM sampai 50 mM



Gambar L.8. Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik DPAD dalam sistem ruah dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 50 mM

Untuk teknik PAD dalam sistem ruah, diperoleh persamaan $y = 6396x$. Penentuan batas deteksi dilakukan dengan cara :

$$y = (3 \times \text{standar deviasi noise}) + \text{rata-rata noise}$$

$$y = (3 \times 0,03) + 0,09$$

$$y = 0,18 \mu\text{A}$$

$$x = \frac{0,18}{6396}$$

$$x = 2,81 \times 10^{-5} \text{M} = 28,10 \mu\text{M} = 28 \mu\text{M}$$

Jadi, batas deteksi untuk penentuan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem ruah sebesar $28 \mu\text{M}$.

Untuk teknik DPAD dalam sistem ruah, diperoleh persamaan $y = 5086x$. Penentuan batas deteksi dilakukan dengan cara :

$$y = (3 \times \text{standar deviasi } noise) + \text{rata-rata } noise$$

$$y = (3 \times 4,37 \times 10^{-16}) + 0,1$$

$$y = 0,1 \mu$$

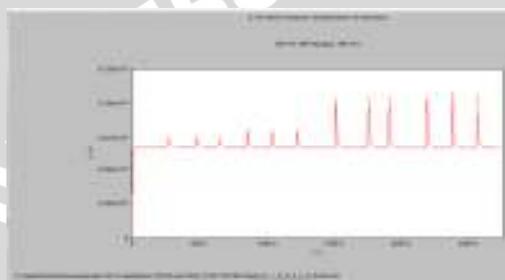
$$x = \frac{0,1}{5086}$$

$$x = 1,97 \times 10^{-5} \text{M} = 19,7 \mu\text{M} = 20 \mu\text{M}$$

Jadi, batas deteksi untuk penentuan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem ruah sebesar $20 \mu\text{M}$.

Amperogram yang didapatkan dari penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dengan kisaran konsentrasi $0,1 \text{ mM}$ sampai 1 M dalam sistem ruah adalah sebagai berikut :

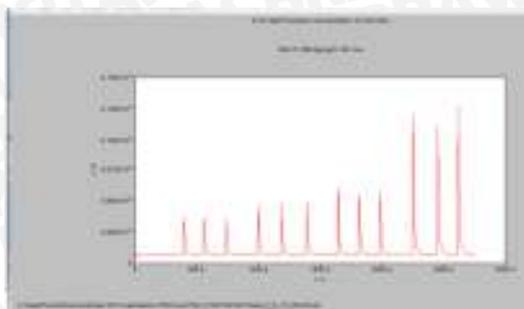
Konsentrasi $0,1 \text{ mM}$ sampai $0,6 \text{ mM}$



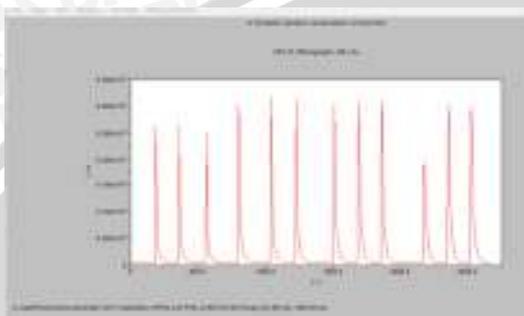
Konsentrasi $0,8 \text{ mM}$ sampai 4 mM



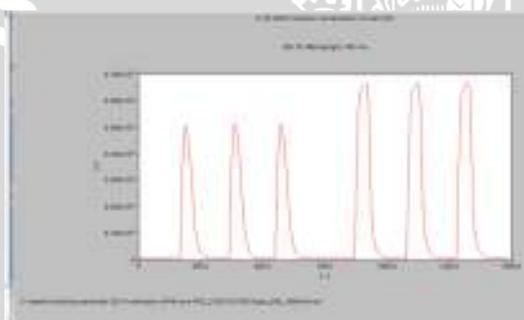
Konsentrasi 6 mM sampai 20 mM



Konsentrasi 40 mM sampai 100 mM

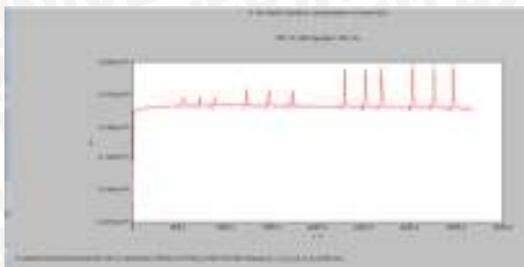


Konsentrasi 500 mM sampai 1000 mM

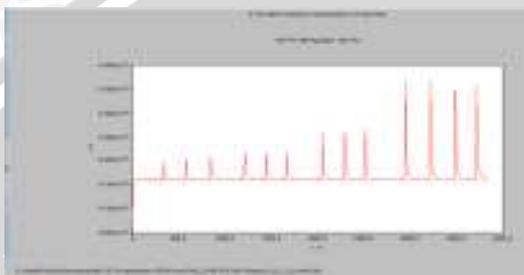


Gambar L.9. Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dalam sistem alir dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1M

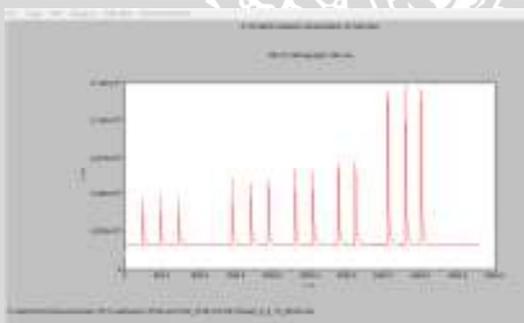
Amperogram yang didapatkan dari penentuan mannitol menggunakan teknik PAD dengan kisaran kosentrasi 0,1 mM sampai 1 M dalam sistem alir adalah sebagai berikut :
 Kosentrasi 0,1 mM sampai 0,6 mM



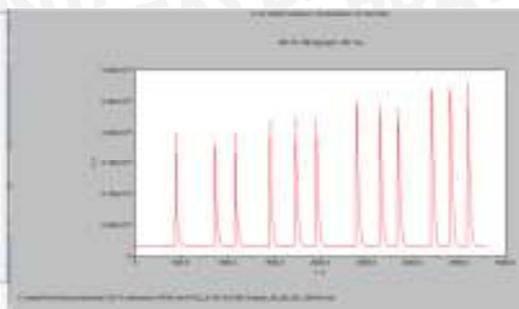
0,8 mM sampai 4 mM



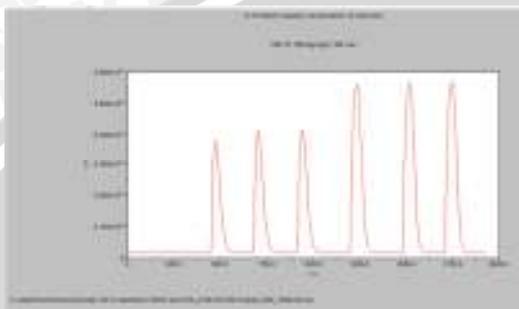
Konsentrasi 6 mM sampai 20 mM



Kosentrasi 40 mM sampai 100 mM



Kosentrasi 500 mM sampai 1000 mM



Gambar L.10. Amperogram penentuan mannitol menggunakan teknik DPAD dalam sistem alir dengan kisaran konsentrasi 0,1 mM sampai 1 M

Untuk teknik PAD dalam sistem ruah, diperoleh persamaan $y = 5040x$. Penentuan batas deteksi dilakukan dengan cara :

$$y = (3 \times \text{standar deviasi } noise) + \text{rata-rata } noise$$

$$y = (3 \times 0,01) + 0,02$$

$$y = 0,05 \mu A$$

$$x = \frac{0,05}{5040}$$

$$x = 9,92 \times 10^{-6} M = 9,92 \mu M = 10 \mu M$$

Jadi, batas deteksi untuk penentuan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem ruah sebesar $10\mu\text{M}$

Untuk teknik DPAD dalam sistem ruah, diperoleh persamaan $y = 5395x$. Penentuan batas deteksi dilakukan dengan cara :

$$y = (3 \times \text{standar deviasi } noise) + \text{rata-rata } noise$$

$$y = (3 \times 0,09) + 0,07$$

$$y = 0,34 \mu\text{A}$$

$$x = \frac{0,34}{5395}$$

$$x = 6,30 \times 10^{-5}\text{M} = 63,0 \mu\text{M} = 63 \mu\text{M}$$

Jadi, batas deteksi untuk penentuan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem ruah sebesar $63 \mu\text{M}$

L.8. Gambar penelitian





UNIVERSITAS BRAWIJAYA





UNIVERSITAS BRAWIJAYA



