

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang didasarkan pada prinsip potensiometri dengan cara mengukur potensial larutan benzoat dari rentang 10^{-8} - 10^{-1} M menggunakan ESI benzoat tipe kawat terlapis berbasis aliat 336-kitosan.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Klinis Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-April 2016.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Potensiometri Fischer, elektroda pembanding kalomel Fischer, pengaduk magnetik (*stirrer*) Fischer, batang magnetik stirer, timbangan analitik (Ohaus), oven (Memmert UN 55), corong pisah (Pyrex), dan peralatan gelas.

4.3.2 Bahan

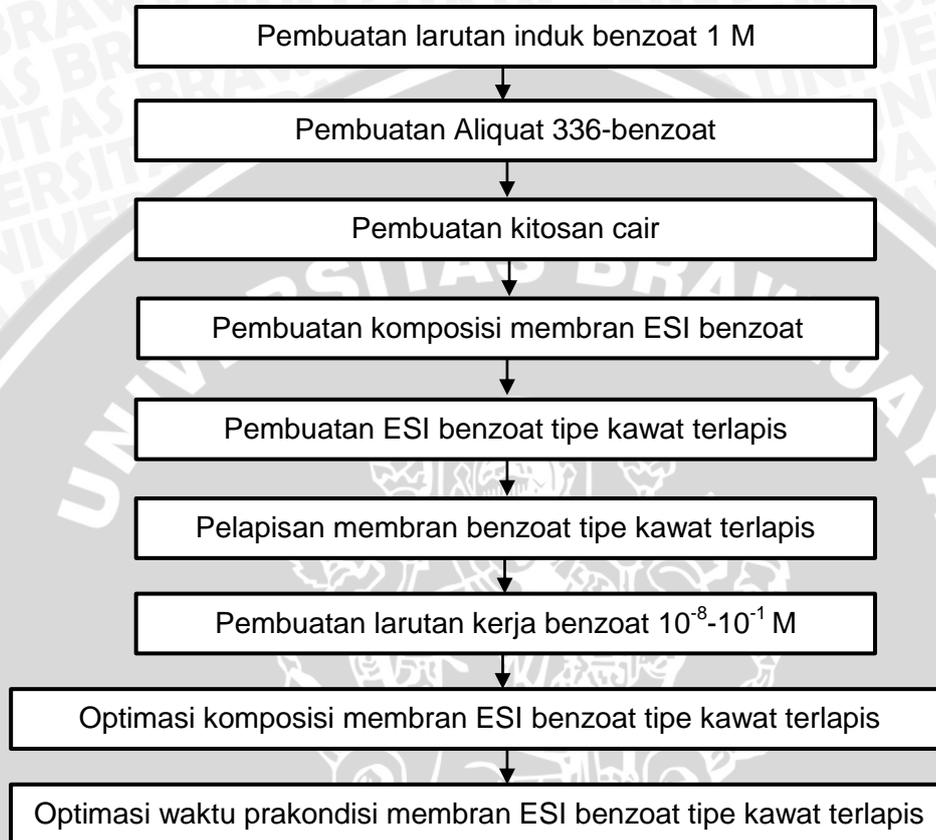
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Natrium benzoat (teknis), AgNO_3 , etanol 96% (b/v), alikuat-336 (Sigma Aldrich), kitosan (Sigma Aldrich) PVC dengan BM tinggi 160.000 g/mol, DOP, THF, kabel koaksial, kawat platina, plastik polietilen, dan akuades.

4.4 Batasan Masalah

- a. Komposisi bahan yang digunakan untuk pembuatan membran ESI benzoat adalah alikuat 336-benzoat, kitosan serta bahan pendukung PVC, DOP, dan pelarut THF.
- b. Larutan uji yang digunakan adalah larutan benzoat dengan konsentrasi rentang 10^{-8} - 10^{-1} M.
- c. Variasi waktu prakondisi menggunakan larutan benzoat 0,1 M selama 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 menit.
- d. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang (28°C)

4.5 Tahapan Penelitian

4.5.1 Skema Tahapan Penelitian



Gambar 4.1 Skema Tahapan Penelitian

4.5.2 Preparasi Larutan

4.5.2.1 Pembuatan Larutan Induk Benzoat 1 M

Larutan induk benzoat konsentrasi 1 M dibuat dengan cara ditimbang natrium benzoat sebanyak 14,411 gram dilarutkan dalam 10 mL akuades kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan selanjutnya ditambahkan akuades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

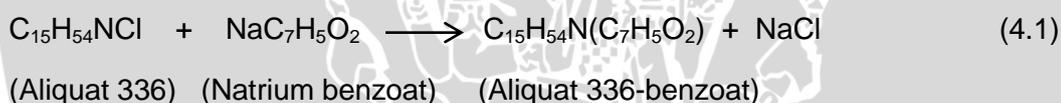
4.5.2.2 Pembuatan Larutan Kerja Benzoat

Larutan kerja benzoat dibuat pada konsentrasi 10^{-8} - 10^{-1} M seperti yang tercantum pada Tabel 4.1. Larutan kerja benzoat 10^{-1} M dibuat dengan cara mengencerkan larutan induk benzoat konsentrasi 1 M dengan mengambil 5 mL larutan benzoat 1 M dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, selanjutnya diencerkan menggunakan akuades sampai tanda batas. Kemudian larutan dikocok hingga homogen. Selanjutnya larutan kerja benzoat 10^{-2} M dibuat dengan cara mengencerkan larutan kerja benzoat 10^{-1} M dengan mengambil 5 mL dan dimasukkan ke labu ukur 50 mL, kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, dan seterusnya hingga didapat konsentrasi larutan kerja benzoat 10^{-8} M. Pembuatan larutan kerja benzoat 10^{-8} - 10^{-1} M ditunjukkan pada Lampiran 1.

4.5.3 Pembuatan Elektroda Selektif Ion (ESI) Benzoat

4.5.3.1 Pembuatan Aliquat 336-Benzoat

Aliquat 336-benzoat dibuat melalui ekstraksi larutan aliquat 336-Cl dengan larutan induk benzoat 1 M. Larutan aliquat 336-Cl dipipet 5 mL dengan menggunakan pipet volum dan dimasukkan ke corong pisah kemudian ditambahkan larutan induk benzoat 25 mL, lalu dikocok selama 10 menit sehingga terjadi pengikatan benzoat pada aliquat 336 seperti pada reaksi 4.1. Selanjutnya larutan didiamkan kurang lebih 24 jam agar fase organik dan fase air terpisah secara sempurna. Ekstraksi fase organik dilakukan hingga fase air terakhir tidak mengandung ion klorida. Ada tidaknya ion klorida dapat diketahui dengan dilakukan penetesan AgNO_3 0,1 N. Jika fase air masih mengandung ion klorida, maka akan terbentuk endapan putih AgCl .



4.5.3.2 Pembuatan Kitosan Cair

Pembuatan kitosan cair dilakukan dengan melarutkan 1 gram bubuk kitosan ke dalam 40 mL asam asetat 3% (v/v). Kemudian campuran diaduk dengan pengaduk magnetik selama 4 jam.

4.5.3.3 Pembuatan Membran ESI Benzoat Berbasis Aliquat 336-kitosan

Membran ESI tipe kawat terlapis berbasis aliquat 336-kitosan dibuat dari aliquat 336-benzoat, kitosan, PVC, dan pemlastis DOP. Berat total campuran komposisi bahan membran adalah 1 gram. Membran ESI yang digunakan dalam pengukuran dibuat dengan komposisi yang berbeda. Komposisi membran kombinasi aliquat 336-kitosan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi Membran Kombinasi Aliquat 336-Kitosan

Komposisi Membran	% Berat (%b/b)			
	Kitosan	Aliquat 336-Benzoat	PVC	DOP
A	1	0,5	38,5	60
B	2	0,5	37,5	60
C	3	0,5	36,5	60

Proses awal adalah mengekstraksikan aliquat-336 dengan larutan baku benzoat hingga didapat aliquat 336-benzoat, kemudian dicampur dengan pemlastis DOP, selanjutnya ditambah pelarut THF 3 mL dengan perbandingan berat komposisi membran : volum = 1 : 3. Selanjutnya ditambahkan PVC sedikit demi sedikit dan dilakukan pengadukan dengan pengaduk magnetik stirer selama 3 jam hingga diperoleh larutan yang homogen dan tidak terdapat gelembung udara.

4.5.3.4 Pembuatan ESI Benzoat Tipe Kawat Terlapis

Badan elektroda terdiri dari kawat platina 5 cm dengan diameter 0,5 mm, dan salah satu ujungnya sepanjang 1,5 cm yang dibiarkan terbuka dan bagian lainnya ditutup plastik polietilen yang bersifat inert. Ujung atas kawat dihubungkan dengan kabel koaksial yang menjadi penghubung ke potensiometer. Sebelum digunakan, ujung kawat yang dibersihkan dengan menggunakan asam nitrat (HNO_3) 65% (b/v) dan dibilas dengan alkohol dalam 3 kali pengulangan agar kotoran sisa pencucian dengan asam nitrat 65% (b/v) hilang. Selanjutnya dikeringkan dan dilapisi ujung kawat platina dengan menggunakan membran ESI.

4.5.3.5 Pelapisan Membran ESI Benzoat Tipe Kawat Terlapis

Pelapisan membran ESI benzoat tipe kawat terlapis ini dilakukan dengan mencelupkan kawat platina ke dalam larutan membran hingga larutan membran dapat melapisi dan menempel pada seluruh permukaan kawat platina. Pencelupan elektroda tersebut dilakukan 3-5 kali pencelupan hingga didapat ketebalan sekitar 0,1-0,2 mm. Selanjutnya dilakukan pengeringan pada suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 12 jam, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 50°C selama 12 jam agar ketahanan membran dapat meningkat dan selanjutnya direndam dalam larutan benzoat 0,1 M selama 12 jam (Puspitaningrum, *et al* (2014); Rismiarti, *et al* (2014)).

4.5.3.6 Optimasi Komposisi Membran ESI Benzoat Tipe Kawat Terlapis

ESI dibuat dengan komposisi yang telah ditetapkan pada Tabel 4.2 selanjutnya digunakan untuk mengukur potensial larutan benzoat konsentrasi 10^8 - 10^{-1} M. Pembacaan dilakukan ketika alat menunjukkan harga potensial yang konstan. Pengukuran potensial dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian dari nilai potensial yang telah didapat, ditentukan faktor Nernst. Komposisi membran ESI dinyatakan optimum jika faktor Nernst mendekati faktor Nernst teoritis, yakni $59,73 \pm 5$ mV/dekade konsentrasi. Perhitungan faktor Nernst teoritis pada suhu 28°C dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.5.4 Optimasi Waktu Prakondisi Membran ESI Benzoat Tipe Kawat Terlapis

ESI direndam dalam larutan benzoat 0,1 M dengan variasi waktu 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 menit. Kemudian elektroda dikeringkan pada suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) sebelum digunakan. Pengukuran larutan benzoat konsentrasi 10^8 - 10^{-1} M

diulang sebanyak 3 kali. Pembacaan potensial dilakukan saat alat menunjukkan harga potensial paling konstan yang selanjutnya ditentukan faktor Nernstnya. Waktu prakondisi dikatakan optimum jika faktor Nernst mendekati faktor Nernst teoritis yaitu $59,73 \pm 5$ mV/dekade konsentrasi.

4.5.5 Analisis Data

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

$$X = \sum \frac{x_i}{n}$$

Keterangan:

X = rata-rata nilai potensial

x_i = nilai potensial ke- i

n = jumlah pengulangan yang dilakukan

Ketelitian hasil data yang diperoleh dapat ditentukan dengan pengukuran nilai Standar deviasi (SD). Berikut adalah rumus perhitungan Standar Deviasi (SD):

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

Keterangan:

SD = Standar Deviasi

X = Rata-rata nilai faktor Nernst

x_i = Nilai faktor Nernst ke- i

n = Jumlah pengulangan yang dilakukan

Jika diinterpretasikan, semakin kecil nilai SD yang diperoleh dari hasil pengukuran, maka presisi metode yang digunakan semakin tinggi. Sebaliknya jika nilai SD dari seluruh hasil pengukuran semakin besar, maka presisi metode yang digunakan adalah rendah.

