

PENENTUAN MANNITOL SECARA AMPEROMETRI DENYUT (PAD) DALAM SISTEM ALIR (FIA)

Rara Aulia Arumdati, Ani Mulyasuryani*, Qonitah Fardiyah

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145*

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
E-mail : mulyasuryani@ub.ac.id

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, yaitu PAD (*Pulsed Amperometry Detection*) dalam 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 alir potensial kerja, potensial oksidasi dan potensial reduksi yang digunakan secara berturut-turut sebesar 0,2V selama 0,7detik, 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 alir 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M, 10 μ M, 5040 μ A/M, 0,999.

Kata kunci : mannitol, *Pulse Amperometry Detection*, sistem alir (FIA)

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, is PAD (Pulse Amperometry Detection) in 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 flow system, the working potential, oxidation potential, and reduction potential, respectively, were used 0.2V 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 flow system were 1×10^{-4} M to 1×10^{-2} M, 10 μ M, 5040 μ A/M, 0.999.

Keyword : flow system (FIA), mannitol, Pulse Amperometry Detection

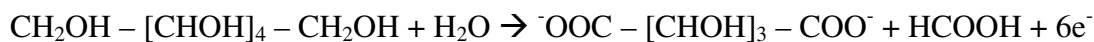
PENDAHULUAN

Mannitol termasuk salah satu gula alkohol yang terdapat dalam zaitun, manna, labu, bawang, rumput laut coklat, dan jamur tanduk, dengan rumus kimia $C_6H_{14}O_6$ [6,7,9]. Mannitol banyak digunakan dalam bidang makanan, dan kesehatan. Pada bidang makanan, mannitol dapat digunakan sebagai petunjuk keberadaan bakteri *Leuconostoc mesenteroides* pada proses pembuatan gula [3], dan sebagai pemanis makanan [1]. Konsumsi mannitol lebih dari 20 gram per hari akan memberikan efek laksatif [1,8]. Oleh karena itu diperlukan suatu metode untuk menentukan kadar mannitol. Metode yang telah digunakan dalam penentuan mannitol antara lain elektroforesis kapiler [2], dan kromatografi cair kinerja tinggi [14]. Akan

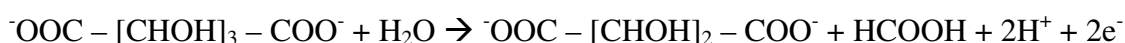
tetapi, kedua metode tersebut menggunakan teknik pemisahan sehingga akan membutuhkan waktu yang lebih lama. Sebagai senyawa elektroaktif, mannitol dapat dioksidasi menjadi asam karboksilat pada potensial spesifik tergantung pada elektrolit yang terkandung dalam larutan mannitol tersebut, sehingga secara elektrokimia dapat ditentukan tanpa proses pemisahan [11]. Metoda elektrokimia yang paling mungkin dapat digunakan untuk penentuan mannitol secara langsung adalah amperometri. Metoda amperometri adalah suatu metoda elektrokimia potensial terkontrol yang mana akan menghasilkan arus yang sebanding dengan konsentrasi.

Metode amperometri yang digunakan pada penelitian ini, adalah amperometri potensial bertahap, yaitu *Pulse Amperometry Detection* (PAD). Elektroda emas digunakan sebagai elektroda kerja, larutan NaOH 0,1 M sebagai elektrolit pendukung, dan sistem alir (FIA) sebagai sistem pengukuran. Menurut ESA [4], elektroda kerja emas cocok digunakan untuk penentuan senyawa tiol, disulfida, monosakarida, disakarida, oligosakarida, amina alifatik, amina alkohol, gula amina, dan senyawa aromatik nitrogen dengan kisaran potensial elektroda -0,8 V sampai 0,45 V. Elektroda emas memiliki arus latar belakang yang rendah, inert, dan tidak memperlihatkan adsorpsi/desorpsi hidrogen pada voltametri siklis [5,12].

Mannitol dapat dioksidasi secara elektrokimia menjadi senyawa asam karboksilat. Pertama, mannitol dioksidasi menjadi dengan pemutusan ikatan C1 – C2 secara cepat.



Kemudian pemutusan ikatan C5 – C6 secara lambat



METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan adalah elektroda emas berdiameter 1,6 mm, elektroda *counter* platinum, elektroda pembanding Ag/AgCl. Pompa peristaltik (Masterflex, Cole Paemer) injektor manual (9725(i), Rheodyne), potensiostat (Autolab PGSTAT 12, Eco Chemie).

Bahan yang digunakan adalah padatan NaOH (BDH), D-mannitol (Sigma-Aldrich), dan air deionisasi.

Prosedur Kerja

Elektroda kerja Au dan *counter electrode* Pt dipoleskan dengan padatan alumina berdiameter 0,3 μm dan disonikasi dengan air deionisasi. Kemudian elektroda ditempatkan dalam sel lapis tipis dalam sistem alir. Larutan NaOH 0,1 M dialirkan dalam sistem alir

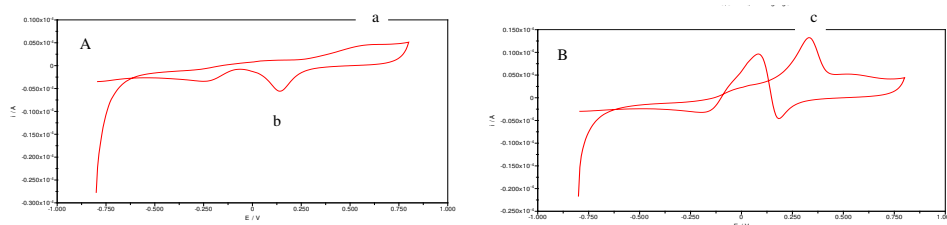
menggunakan pompa peristaltik. Larutan sampel sebanyak 60 μL ditambahkan ke dalam sel elektrokimia sistem alir menggunakan injektor sampel manual. Tahap pertama yang dilakukan dalam pengkondisian pengukuran adalah penentuan kisaran potensial kerja mannitol dengan voltametri siklik. Larutan NaOH 0,1 M dan larutan mannitol 2,5 mM diukur pada kisaran -0,8 V sampai 0,8 V dengan kecepatan pemindaian 0,05 V/s. Kemudian kisaran potensial kerja mannitol dioptimasi dengan *multiple pulse amperometry* menggunakan larutan mannitol 0,5 mM. Tahap kedua penentuan waktu pengukuran dengan *chronoamperometry*. Masing-masing potensial pada larutan NaOH 0,1 M dan larutan mannitol 2 mM diukur selama 3 detik dengan pembacaan sinyal setiap 0,01 detik.

Larutan mannitol dengan kisaran konsentrasi 1×10^{-4} M sampai 1 M diukur menggunakan teknik PAD pada 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. Kemudian dibuat kurva hubungan antara arus difusi terhadap konsentrasi untuk menentukan parameter analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

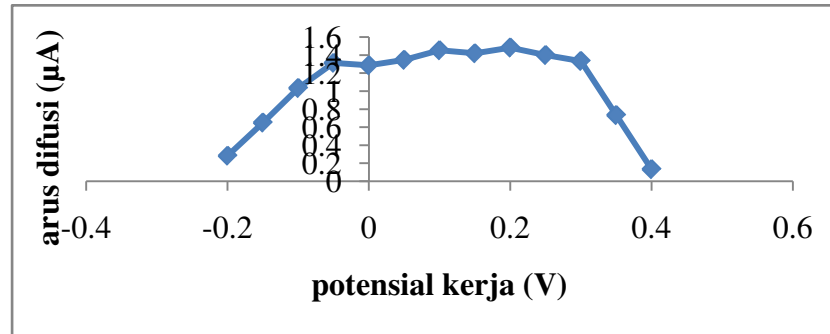
Pengkondisian pengukuran

Hal pertama yang dilakukan saat pengkondisian pengukuran adalah penentuan potensial kerja dengan voltametri siklik. Pada gambar 1 menunjukkan voltamogram siklik dari larutan NaOH 0,1 M (A) dan larutan NaOH 0,1 M mannitol 2,5 mM (B). Pemindaian terjadi dari potensial negatif menuju potensial positif. Grafik A di titik a (sekitar 0,6 V) terbentuk lapisan oksida AuO yang ditandai dengan arus difusi yang dihasilkan bernilai sangat positif. Potensial ini dapat menghalangi proses oksidasi mannitol. Pada titik b (sekitar 0,14 V) terjadi reduksi AuO menjadi logam Au yang ditandai dengan arus difusi yang dihasilkan bernilai sangat negatif. Grafik B di titik c (sekitar 0,33V) larutan mannitol dioksidasi menjadi asam karboksilat. Setelah melalui titik c, grafik menurun dengan cepat karena pembentukan lapisan oksida yang ditunjukkan pada kurva A yang dapat menghalangi proses oksidasi .



Gambar 1. Voltamogram siklik pada elektroda kerja emas dalam larutan NaOH 0,1M (A) dan dalam larutan NaOH 0,1 M + larutan mannitol 2,5 mM (B)

Dari grafik di atas diketahui bahwa mannitol dapat dioksidasi pada kisaran potensial -0,2 V sampai 0,40 V. Bila dibuat kurva hubungan antara kisaran potensial kerja terhadap arus maka akan diperoleh potensial kerja mannitol (0,2 V) dengan arus yang paling tinggi, seperti pada gambar 2. Pemilihan potensial dapat mempengaruhi arus difusi yang dihasilkan. Ketergantungan arus terhadap potensial dapat ditunjukkan pada persamaan 1 dan 2 [10] :



Gambar 2. Kurva hubungan antara potensial dengan arus difusi

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

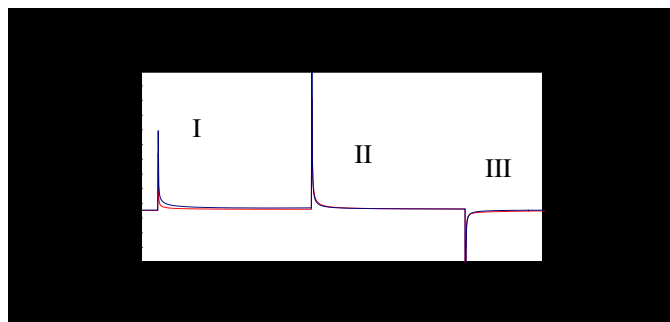
$$E_{1/2} = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{D_R^{1/2}}{D_O^{1/2}} \quad (2)$$

Penentuan waktu penerapan potensial

Penentuan waktu penerapan potensial digunakan *chronoamperometry* karena pada *chronoamperometry* arus diamati sebagai fungsi terhadap waktu. Ketergantungan arus terhadap waktu dapat dilihat dari persamaan berikut [13]:

$$i(t) = \frac{nFAD_o^{1/2}C_o(b)}{(\pi t)^{1/2}} \quad (3)$$

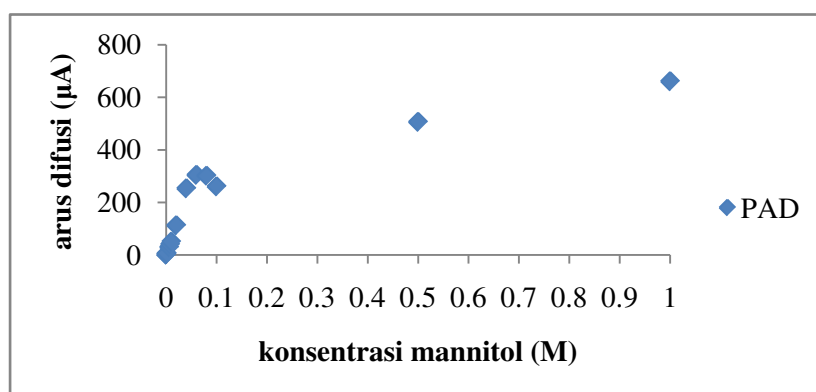
Dari chronoamperogram diketahui bahwa waktu penerapan potensial kerja selama 0,7 detik, waktu penerapan potensial pembersih 0,8 V selama 0,6 detik sedangkan waktu potensial pembersih -0,8 V selama 2,4 detik. Hasil ini didapat saat arus tidak berubah kembali. Pada gambar 3 dapat diketahui I merupakan pengukuran potensial kerja mannitol, II merupakan pengukuran potensial pembersih elektroda 0,8 V, dan III merupakan pengukuran potensial pembersih elektroda -0,8 V. Bila kurva tersebut di perbesar maka akan didapat waktu saat arus mulai stabil. Arus tersebut menunjukkan arus Faraday.



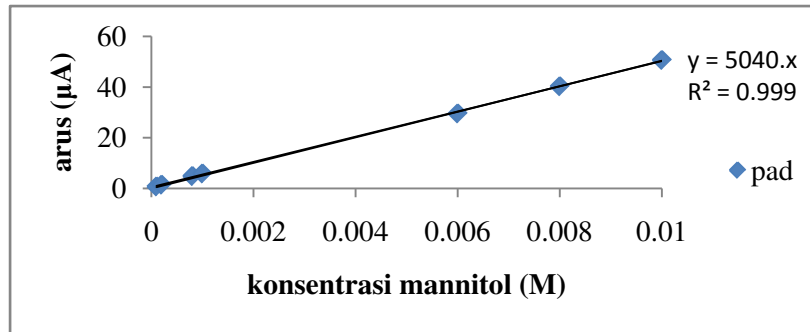
Gambar 3. Chronoamperogram larutan mannitol. Titik I merupakan pengukuran potensial kerja, titik II merupakan pengukuran potensial pembersih 0,8 V, dan titik III merupakan pengukuran potensial pembersih -0,8 V

Penentuan parameter analisis

Parameter analisis pengukuran seperti kisaran konsentrasi linier, batas deteksi, kepekaan, dan ketelitian diperoleh dari pengukuran larutan mannitol dengan kisaran konsentrasi 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M. Dari pengukuran tersebut dibuat kurva hubungan arus difusi terhadap konsentrasi yang akan menghasilkan persamaan regresi linier. Nilai a (slope) dan R^2 menunjukkan kepekaan dan ketelitian pengukuran. Gambar 4 menunjukkan hasil pengukuran larutan mannitol dengan konsentrasi 1×10^{-4} M sampai 1 M dengan teknik PAD dalam sistem alir (FIA). Dari gambar tersebut diperoleh kisaran konsentrasi linier yaitu 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M. Berdasarkan gambar 4 dibuat kurva hubungan kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M terhadap arus seperti gambar 5. Dari gambar 5 diperoleh dengan kepekaan $5040 \text{ M}/\mu\text{A}$ dan ketelitian 0,999. Kepekaan pengukuran larutan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem alir lebih besar dibanding pengerjaan pada elektroda kerja tembaga [2]



Gambar 4. Pengukuran larutan mannitol konsentrasi 1×10^{-4} M sampai 1 M dengan teknik PAD dalam sistem alir (FIA)



Gambar 5. Kurva konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M

Batas deteksi ($S/N=3$) pengukuran mannitol dengan teknik PAD dalam sistem alir (FIA) sebesar $10 \mu\text{M}$. Parameter analisis hasil pengukuran mannitol dalam sistem alir berbeda dengan hasil pengukuran mannitol dalam sistem ruah. Pada sistem ruah batas deteksi yang dihasilkan lebih besar, yaitu $28 \mu\text{M}$. Perbedaan ini dikarenakan *noise* (gangguan) pada sistem ruah. *Noise* ini dapat disebabkan oleh kecepatan pengadukan yang tidak stabil dan terlalu cepat [10]

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengukuran larutan mannitol dengan teknik PAD dalam sistem alir (FIA) memiliki kisaran konsentrasi linier 1×10^{-4} M sampai 1×10^{-2} M dengan batas deteksi $10 \mu\text{M}$ dan kepekaan $5040 \text{ M}/\mu\text{A}$. Penggunaan metode elektrokimia dalam pengukuran mannitol tidak membutuhkan proses pemisahan pada pengerjaannya sehingga dapat disimpulkan bahwa pengukuran mannitol dengan teknik PAD lebih sederhana dan lebih cepat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Sirimarn Ngamchana sebagai pembimbing penelitian di Biochemical Engineering and Pilot Plant Research and Development Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand

DAFTAR PUSTAKA

1. 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. Jakarta: Badan Pengawan Obat dan Makanan

2. Chen, G., 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*, volume 530, halaman 15-21
3. Eggleston, G., William Harper. 2006. Determination of Sugarcane Deterioration at the Factory: Development of a Rapid, Easy and Inexpensive Enzymatic Method to Measure Mannitol, *Food Chemistry*, volume 98, halaman 366–372.
4. . ESA. Technical Note : The Working Electrode-2. <http://www.esainc.com> diakses tanggal 1 Oktober 2013, jam 13.00 WIB
5. Koryta,J., Jiri.D., and Ladislav,K. 1993. *Principles of Electrochemistry* Second Edition, England : John Wiley & Sons Ltd.
6. Mursito,B, Patrick, 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*, volume 7, No.2, halaman 79-83
7. Priyadi,Y.S. 2012. Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel, Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Jakarta.
8. Rowe et.al. 2012. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 7th edn. London: Pharmaceutical Press
9. Saha, B.C., Michael Rachine. 201. *Biotechnological Production of Mannitol And Its Applications*, *Appl microbial biotechnol*, volume 89, halaman 879-891
10. Somasundrum,M., and Werasak,S., 2012, *Food and Nutritional Components*, The Royal Society of Chemistry, Thailand
11. Steinbach,A., and Andrea Wille. 2010. Determining Carbohydrates in Essential and Non-Essential Foodstuff Using Ion Chromatography, *Separation Science*, volume 13, issue 4.
12. Stradiotto, N.R., Hideko,Y., Maria,V. 2003. Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. *J. Braz.Chem. Soc*, volume 14, halaman 159-173
13. Wang, Joseph. 2006. *Analytical Electrochemistry* Third Edition. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc
14. Wring,S.E., 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*, volume 16, halaman 1213–1224