

Analisis Asam Aspartat, Asam Glutamat dan Asam Askorbat secara *Flow Injection Potentiometry* Menggunakan Elektroda Platinum

Flow Injection Potentiometric Analysis of Aspartic Acid, Glutamic Acid and Ascorbic Acid using Platinum Electrodes

Yeni Maulidah Muflihah^{*)}, Siswoyo, Tanti Haryati, Kiki Puji Setianingrum
Jurusan Kimia, Fakultas MIPA Universitas Jember
^{*)}Email: yeni.maulidah@gmail.com

ABSTRACT

The presence of weak acids in solution can be detected using potentiometric detector. Platinum was used as a working electrode and Ag/AgCl as a reference electrode. Ascorbic, glutamic and aspartic acid were detected by platinum electrode in flow potentiometric system. The influence of pH, flow rate and concentration of phosphate buffers as carrier were studied and showed an optimum pH of 6.5 for the detection of ascorbic and glutamic acid and pH 7.0 for aspartic acid. Phosphate buffer concentration optimum at 1×10^{-4} M and flow rate of 1.00 mL/min. Linear range for ascorbic and glutamic acid at 2.5×10^{-4} M to 5×10^{-2} M, with a regression coefficient of 0.974 and 0.958, while for aspartic acid 5×10^{-4} M to 5×10^{-2} M with a regression coefficient 0.911. Detection limit for ascorbic and glutamic acids were 5×10^{-4} M and 1×10^{-3} M for aspartic acid. Sensor reproducibility obtained from variation coefficient (Kv). Variation coefficient (Kv) of ascorbic acids 1.32-1.69%, glutamic acids 0.69- 1.57% and aspartic acid 0.54- 1.29%.

Keywords: potentiometry, flow injection analysis, amino acid, platinum electrode

PENDAHULUAN

Asam aspartat, glutamat dan askorbat dalam larutan dapat menghasilkan ion H^+ . Keberadaan ion H^+ ini menimbulkan terjadinya beda potensial yang dapat dideteksi menggunakan metode potensiometri. Deteksi H^+ dari asam amino aspartat dan glutamat secara potensiometri menggunakan elektroda tungsten oksida dalam sistem *batch* telah dilakukan oleh Masruroh (2009). Penggunaan sistem *batch* untuk analisis memakan waktu yang lama karena reaksi berjalan relatif lambat. Chen dan Alexander (1996) telah menganalisis asam karboksilat secara *flow injection potentiometry* (FIP) menggunakan elektroda tungsten oksida. Dewi (2009) juga telah menganalisis keberadaan asam aspartat, glutamat dan arginin menggunakan FIP elektroda tungsten, dan berhasil mendeteksi keberadaan asam amino tersebut berdasarkan potensial listrik yang dihasilkan.

Platinum merupakan salah satu elektroda logam selain Ag, Hg, Pb, Cd, Cu, Zn, yang dapat digunakan untuk pengukuran potensial elektrokimia dari larutan (Kennedy, 1990). Penggunaan elektroda platinum sebagai elektroda kerja dalam potensiometri telah banyak dilakukan, antara lain oleh Ngajito (2009) menggunakan elektroda platinum untuk

menganalisis uranium dengan metode potensiometri. Torowati (2009) juga menggunakan elektroda platinum untuk menganalisis uranium dengan alat titrasi potensiometri metrohm 672. Farhadi *et al.*, (2003) menggunakan elektroda platinum untuk penentuan derivat phenothiazin yang didasarkan pada titrasi antara 2,3-dikloro-5,6-dicyano-1,4-benzokuinon secara potensiometri dan spektrometri. Penggunaan polyanilin yang dilapiskan pada elektroda platinum untuk elektroda sensitif pH dalam pembuatan sensor CO_2 potensiometri juga telah diteliti oleh Cui (1998).

Elektroda Platinum sensitif terhadap keberadaan ion H^+ dalam larutan asam yang telah mengalami ionisasi. Reaksi yang terjadi antara elektroda platinum saat merespon adanya H^+ di dalam larutan diperkirakan merupakan *electrical double layer* yang mengganggu kesetimbangan pada elektroda, akibatnya timbul beda potensial diantara kedua elektroda.

Analisis asam glutamat, aspartat, dan askorbat secara *flow injection potentiometry* merupakan suatu teknik deteksi asam amino dan karboksilat yang menggabungkan metode potensiometri dengan analisis dalam sistem alir. Analisis menggunakan sistem aliran

mempunyai beberapa keuntungan antara lain: operasinya yang mudah dan kecepatan dalam menganalisis, selain itu kontak langsung antara operator dengan reagen dapat diminimalkan, sehingga keakuratan dan ketelitiannya lebih terjamin.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan meliputi: asam L-glutamat (Merck), asam L-aspartat (E-Merck), asam L-askorbat (E-Merck), aquademin, aquades, KCl, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (E-Merck), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (E-Merck).

Alat-alat yang digunakan meliputi alat gelas, pipet mohr, pH meter Hanna HI 98128, elektroda platinum, set alat *Flow Injection Analysis*, elektroda Ag/AgCl yang dihubungkan dengan Sanwa PC 500 yang terhubung komputer.

Pembuatan Elektroda Platinum (Pt)

Kawat platinum dibersihkan menggunakan amplas halus dan direndam dalam aseton.

Pembuatan Elektroda Ag/AgCl

Pembuatan elektroda Ag/AgCl dilakukan dengan metode elektrolisis. Kawat Ag diamplas, selanjutnya kawat Ag dihubungkan dengan kutub anoda sedangkan Pt dihubungkan dengan kutub katoda pada alat Linear Power Supply DT-H1Q. Elektrolisis dilakukan pada larutan KCl 3 M selama ± 5 menit dengan potensial sebesar 3 volt. Elektroda Ag/AgCl yang sudah terbentuk selanjutnya disimpan dalam larutan KCl jenuh dalam botol gelap.

Pengaruh pH terhadap respon elektroda

Carrier yang dipergunakan dalam penelitian adalah buffer fosfat, dengan konsentrasi 5×10^{-4} M. pH buffer dibuat bervariasi yaitu pH 6,5; 7; 7,5 dan 8. Laju alir 1,0 mL/min, volume injeksi 100 μL . Sampel asam konsentrasi 5×10^{-3} M diinjeksikan pada saat potensial *carrier* stabil. Pengulangan dilakukan sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi asam.

Pengaruh konsentrasi buffer terhadap respon elektroda

Buffer fosfat pH optimum dengan konsentrasi 1×10^{-4} M, 3×10^{-4} M, 5×10^{-4} M, 7×10^{-4} M dan 9×10^{-4} M. Laju alir 1,0 mL/min, volume injeksi 100 μL . Sampel asam konsentrasi 5×10^{-3} M diinjeksikan pada saat potensial *carrier* stabil. Pengulangan dilakukan sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi asam.

Pengaruh laju alir terhadap respon elektroda

Laju alir dibuat variasi yaitu 0,5; 1; 1,5; 2 dan 2,5 mL/min. Konsentrasi dan pH buffer fosfat optimum dengan volume injeksi sampel sebesar 100 μL . Sampel asam konsentrasi 5×10^{-3} M diinjeksikan pada saat potensial *carrier* stabil. Pengulangan dilakukan sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi asam.

Linear Range

Larutan standart dengan konsentrasi 5×10^{-2} M, 1×10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 1×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, $2,5 \times 10^{-4}$ M, dan 1×10^{-4} M untuk masing-masing larutan asam, dan diukur potensial masing-masing larutan pada FIP dengan kondisi optimum. Data yang diperoleh diplotkan pada kurva konsentrasi versus beda potensial untuk mencari daerah yang linear.

Reproduksibilitas

Asam askorbat, glutamat dan aspartat masing-masing dengan konsentrasi 5×10^{-3} M diinjeksikan kedalam FIP, diulang untuk 6 kali pengukuran masing-masing asam dan dicari simpangannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asam askorbat, glutamat, dan aspartat merupakan asam-asam lemah yang dapat mengurai menjadi ion H^+ dan ion A^- di dalam larutan. Pengionan ini akan menyebabkan perubahan pH yang dapat dideteksi oleh elektroda Pt.



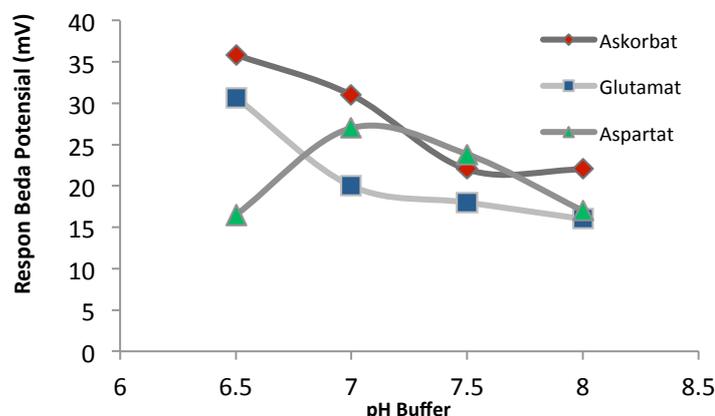
Reaksi yang terjadi pada elektroda platinum ketika larutan asam diinjeksikan ke dalam sistem *Flow Injection Potentiometry* adalah:



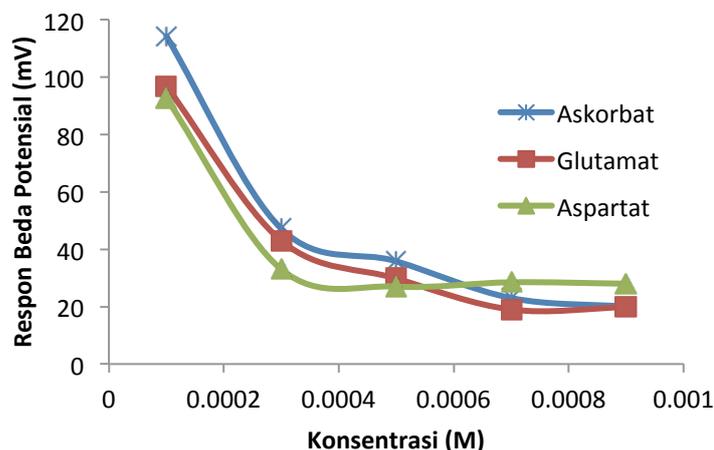
$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{RT}{F} \ln \frac{H^+ \text{ solute}}{H^+ \text{ carrier}} \dots \dots \dots (3)$$

E_2 merupakan potensial puncak dari *solute* (asam). E_1 adalah potensial puncak dari *carrier*, $\text{H}^+ \text{ carrier}$ adalah konsentrasi H^+ dari *carrier* dan $\text{H}^+ \text{ solute}$ adalah konsentrasi H^+ dari asam yang diinjeksikan. Platinum yang berikatan dengan PtO bukanlah oksida dengan ikatan kimia, melainkan hanya interaksi kesetimbangan dari muatan listrik. Oksigen yang menempel pada platinum adalah inner layer yang berasal dari PO_4^{2-} , PO_4^{4-} dan OH^- yang berasal dari buffer fosfat dan aquademin. Saat H^+ diinjeksikan, terjadi interaksi elektrik double layer pada elektroda platinum, di mana terbentuk *outer layer*. Adanya gangguan kesetimbangan pada lapisan listrik permukaan inilah yang akan menyebabkan perbedaan potensial di dalam elektroda yang dapat terukur sebagai sinyal.

Keberadaan ion H^+ dalam larutan yang dihasilkan oleh asam aspartat, glutamat dan askorbat yang dideteksi secara potensiometri menggunakan elektroda kerja platinum dan elektroda pembanding Ag/AgCl, respon elektrodanya dipengaruhi oleh pH, konsentrasi buffer dan laju alir.



Gambar 1. Kurva respon elektroda terhadap perubahan pH buffer untuk analisis asam lemah (Konsentrasi buffer fosfat $5 \times 10^{-4} \text{M}$; laju alir 1 mL/menit; konsentrasi asam lemah $5 \times 10^{-3} \text{M}$; volume injeksi 100 μL).



Gambar 2. Kurva respon elektroda terhadap perubahan pH buffer untuk analisis asam lemah (Konsentrasi buffer fosfat $5 \times 10^{-4} \text{M}$; laju alir 1 mL/menit; konsentrasi asam lemah $5 \times 10^{-3} \text{M}$; volume injeksi 100 μL).

Pengaruh pH dalam pengukuran dipelajari dengan membuat variasi pH buffer fosfat yang dipergunakan dan menunjukkan pH optimum untuk asam askorbat dan glutamat pada pH 6,5, sedangkan asam aspartat pada pH 7 seperti terlihat pada gambar 1. Perbedaan pH optimum ini disebabkan oleh perbedaan nilai pKa yang dimiliki oleh masing-masing asam, di mana pKa yang dimiliki oleh asam aspartat lebih kecil, yaitu 3,86, sedangkan asam askorbat dan glutamat masing-masing 4,17 dan 4,25. Saat nilai pKa yang semakin kecil, asam semakin kuat dan semakin mudah untuk memprotonasi H^+ .

Carrier atau larutan pembawa berpengaruh terhadap respon elektroda yang dihasilkan. Konsentrasi buffer dalam carrier dipelajari

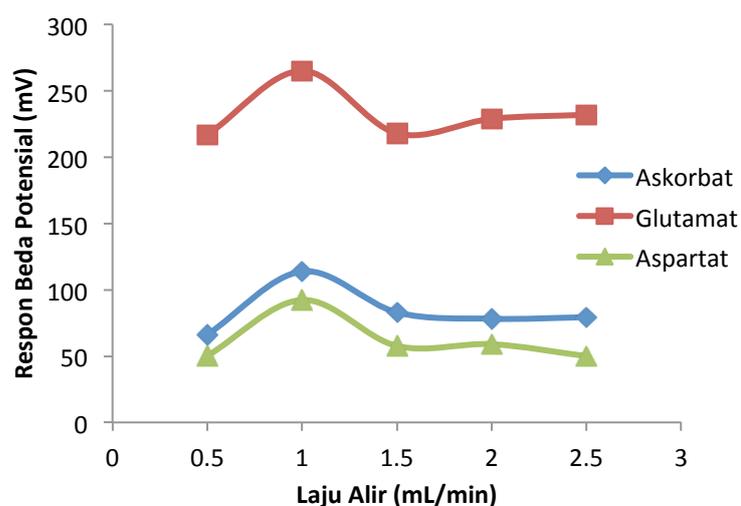
pengaruhnya dan diperoleh respon elektroda menurun drastis ketika konsentrasi buffer dinaikkan dari $1 \times 10^{-4} \text{M}$ menjadi $3 \times 10^{-4} \text{M}$. berdasarkan gambar 2 dapat dilihat bahwa penurunan respon terus terjadi seiring dengan kenaikan konsentrasi dari buffer. Konsentrasi buffer yang semakin tinggi, semakin tinggi pula kapasitas buffer itu untuk mempertahankan pH lingkungannya dari pengaruh penambahan ion H^+ (asam) atau ion OH^- (basa) sampel. Sensitifitas tinggi untuk mendeteksi asam askorbat, glutamat, dan aspartat diperoleh pada konsentrasi buffer yang paling rendah yaitu $1 \times 10^{-4} \text{M}$. Konsentrasi buffer yang rendah menyebabkan keberadaan ion H^+ dari asam dapat dideteksi oleh elektroda.

Pengaruh laju alir dipelajari menggunakan pH dan konsentrasi buffer optimum serta laju alir yang divariasikan dari 0,5 mL/menit; 1 mL/menit; 1,5 mL/menit; 2 mL/menit; dan 2,5 mL/menit.

Kenaikan laju alir meningkatkan respon elektroda terhadap sampel asam hingga batas tertentu. Gambar 3 terlihat laju alir optimum untuk ketiga sampel dalam sistem Flow Injection Potensiometri adalah sebesar 1 mL/menit dengan perubahan potensial sebesar 113,83 mV untuk asam askorbat; 97,17 mV untuk asam glutamat; dan 92,33 mV untuk asam aspartat. Pada laju alir 0,5 mL/menit terjadi proses dispersi yang lebih lamasehingga semakin banyak ion H^+ yang terdeteksi oleh elektroda. Bentuk sampel akan semakin kabur dan tidak ada batas yang jelas antara sampel dengan carrier (buffer fosfat). Puncak yang lebar dan pendek dari pendeteksian H^+ oleh elektroda juga menyebabkan waktu elusi untuk kembali ke baseline semakin lama. Respon elektroda menurun ketika laju alir dinaikkan lebih dari 1 mL/menit. Signal yang ditimbulkan dari laju alir yang terlalu cepat ini adalah kecil dan runcing, hal ini disebabkan karena jumlah ion H^+ yang terdeteksi oleh elektroda juga semakin sedikit, waktu yang dibutuhkan untuk kembali ke posisi baseline juga relatif cepat. Laju alir yang lebih dari 1 mL/menit terlalu cepat sehingga menyebabkan zona sampel untuk mengalir melalui elektroda terlalu singkat, akibatnya kesetimbangan potensial di elektroda tidak optimal. Hal ini disebabkan

respon elektroda dikendalikan oleh kecepatan reaksi di permukaan elektroda platinum.

Daerah linier asam askorbat terjadi pada range konsentrasi $2,5 \times 10^{-4} M$ hingga $5 \times 10^{-2} M$. Pada konsentrasi $5 \times 10^{-2} M$ dan $1 \times 10^{-1} M$ tidak menimbulkan perubahan signal yang signifikan. Konsentrasi yang lebih tinggi dari $5 \times 10^{-2} M$ merupakan kondisi larutan yang mendekati jenuh, akibatnya respon sinyal yang diberikan oleh elektroda platinum dan Ag/AgCl tidak linear. Konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi oleh elektroda yaitu $2,5 \times 10^{-4} M$ dengan perubahan beda potensial sebesar 4,83 mV karena hanya sedikit ion H^+ yang dapat dideteksi oleh elektroda. Respon elektroda pada konsentrasi $1 \times 10^{-4} M$ sebesar -15,33 mV dengan puncak yang menurun. Puncak yang dihasilkan oleh aquademin juga menurun dengan perubahan beda potensial sebesar -9 mV, sehingga konsentrasi $1 \times 10^{-4} M$ tidak dipilih sebagai variasi konsentrasi untuk kurva kalibrasi asam ditimbulkan tidak lagi sensitif dan hampir sama dengan puncak yang dihasilkan oleh aquademin. Berdasarkan nilai regresi linear yang digambarkan oleh kurva, range konsentrasi ion H^+ $5 \times 10^{-4} M$ hingga $5 \times 10^{-2} M$ dipilih sebagai daerah linear dan akan dipergunakan untuk karakterisasi selanjutnya. Daerah linear dinyatakan dengan koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh dari kurva kalibrasi elektroda platinum dan Ag/AgCl. Harga koefisien korelasi (R^2) untuk elektroda platinum dan Ag/AgCl sebesar 0,929 dan 0,974.



Gambar 3. Kurva respon elektroda terhadap laju alir untuk analisis asam (Konsentrasi buffer fosfat $1 \times 10^{-4} M$, pH buffer untuk asam askorbat dan glutamat 6,5, dan untuk asam aspartat 7; konsentrasi asam lemah $5 \times 10^{-3} M$; volume injeksi 100 μL).

Kurva linear asam glutamate didapatkan respon linear asam glutamat terjadi pada *range* konsentrasi $2,5 \times 10^{-4} \text{M}$ hingga $5 \times 10^{-2} \text{M}$. Konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi oleh elektroda yaitu $2,5 \times 10^{-4} \text{M}$ dengan perubahan beda potensial sebesar 11,67 mV karena hanya sedikit ion H^+ yang dapat dideteksi oleh elektroda. Respon elektroda pada konsentrasi $1 \times 10^{-4} \text{M}$ sebesar - 7,83 mV dengan puncak yang menurun. Daerah linear dinyatakan dengan koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh dari kurva kalibrasi elektroda platinum dan Ag/AgCl. Harga koefisien korelasi (R^2) untuk elektroda platinum dan Ag/AgCl sebesar 0,705 dan 0,958.

Daerah linear asam aspartat terjadi pada *range* konsentrasi $5 \times 10^{-4} \text{M}$ hingga $5 \times 10^{-2} \text{M}$. Konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi oleh elektroda yaitu $5 \times 10^{-4} \text{M}$ dengan perubahan beda potensial sebesar 28,33 mV karena hanya sedikit ion H^+ yang dapat dideteksi oleh elektroda. Respon elektroda pada konsentrasi $1 \times 10^{-4} \text{M}$ sebesar - 16 mV dengan puncak yang menurun. Daerah *linear* dinyatakan dengan koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh dari kurva kalibrasi elektroda platinum dan Ag/AgCl. Harga koefisien korelasi (R^2) untuk elektroda platinum dan Ag/AgCl sebesar 0,657 dan 0,911.

Sensitifitas dinyatakan sebagai slope dari kurva yang diperoleh dengan *range* tertentu (Miller dan Miller, 1991) dan menyatakan sensitifitas dari elektroda platinum dalam mendeteksi asam secara *flow injection potentiometry*. Nilai slope sebesar 59,67 mV/dekade diperoleh dari kurva kalibrasi untuk askorbat, nilai ini hampir mendekati konstanta dari persamaan Nerst yaitu sebesar 59,20 mV/dekade sehingga dapat dinyatakan bahwa ada satu elektron yang terlibat dalam reaksi. Nilai slope sebesar 31,18 mV/dekade untuk glutamat, nilai slope yang diperoleh setengah nilai persamaan Nerst sehingga dapat dinyatakan bahwa ada dua elektron yang terlibat dalam reaksi tersebut. Nilai slope sebesar 17,60 mV/dekade untuk aspartat atau sekitar sepertiga kali dari persamaan Nerst sehingga dapat dinyatakan bahwa ada sekitar tiga elektron yang terlibat dalam reaksi tersebut. Nilai sensitifitas yang tinggi berarti bahwa perubahan konsentrasi yang kecil dari analit dapat memberikan respon yang berarti. Nilai sensitifitas memberikan arti bahwa perubahan dari tiap satu satuan.

Limit deteksi merupakan kuantitas (konsentrasi) terkecil dari suatu analit yaitu asam lemah yang masih dapat ditentukan atau dideteksi, semakin kecil asam yang dapat dideteksi maka kinerja dari elektroda platinum dalam sistem *flow injection potentiometry* ini semakin baik. Limit deteksi sebesar $5 \times 10^{-4} \text{M}$ untuk asam askorbat; $5 \times 10^{-4} \text{M}$ untuk glutamat dan $1 \times 10^{-3} \text{M}$ untuk aspartat, hal ini berarti bahwa batas konsentrasi yang dapat dideteksi oleh elektroda sebesar $5 \times 10^{-4} \text{M}$ untuk askorbat; $5 \times 10^{-4} \text{M}$ untuk glutamat dan $1 \times 10^{-3} \text{M}$ untuk aspartat, sehingga apabila konsentrasi analit lebih rendah dari batas tersebut elektroda tidak dapat menghasilkan respon yang signifikan.

Reprodusibilitas merupakan suatu kemampuan elektroda dalam memberikan nilai output yang sama ketika diberikan input yang tetap setelah sistem *direset* ulang. Nilai setiap pendekatan untuk satu kali pengulangan atau lebih yang berbeda adalah 95% (Calculutt, 1995). Reprodusibilitas dapat dinyatakan sebagai koefisien variasi (Kv) dari simpangan induk. Reprodusibilitas sensor dalam memberikan respon dikatakan baik apabila harga koefisien variasi (Kv) kurang dari 5%. Nilai koefisien variasi (Kv) dari pengukuran reprodusibilitas asam askorbat 1,32% hingga 1,69%. Nilai Kv pada asam glutamat sebesar 0,01% hingga 0,75% dan aspartat sebesar 0,54% hingga 1,29%. Berdasarkan perhitungan yang diperoleh berarti data reprodusibilitas terhadap asam askorbat, glutamat, dan aspartat sudah cukup baik karena nilai setiap pendekatan untuk satu kali pengulangan atau lebih kurang dari 5%.

KESIMPULAN

Elektroda platinum merupakan elektroda yang sensitif terhadap perubahan pH sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan asam aspartat, asam glutamat dan asam askorbat. Hal ini dapat dilihat dari nilai reprodusibilitasnya serta karakteristik elektroda yang meliputi daerah linier, sensitivitas, dan limit deteksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, Z., & Alexander, P., 1996. Potentiometric Detection of Carboxylic Acids by Flow Injection Analysis using a Tungsten Oxide Electrode. *Analytica Chimica Acta*, 332(2-3):187-192

- Cui G., Lee, S., Kim., Jin., Sang., Nam, H., Cha., Sig., Geun., & Kim, D. 1998. Potentiometric pCO₂ sensor using polyaniline-coated pH-sensitive electrodes. *Analyst*, issue 9: 1855–1859.
- Farhadi, K. & Shamsipur, M. 2003. Potentiometric and Spectrophotometric Determination of Phenothiazine Derivatives Based on Their Titration with 2,3-dichoro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone. *Journal of Acta Chim. Slov* : 395 - 407.
- Kennedy, J. 1990. *Analytical Chemistry: Principles*, Second edition. Saunders College Publishing, USA.
- Miller & Miller. 1991. *Statistika Untuk Kimia Analitik* alih bahasa oleh Suroso. edisi kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Ngajito & Pranjono. 2009. Uji Fungsi *Combined Pt-Ring Electrode Metrohm6.0451.100*. *Jurnal Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir, Batan*. ISSN 1979-2409.
- Read, J. 1994. *A Text-book of Organic Chemistry Historical, Struktur and Economic*. London: G. Bell and Sons, LTD.
- Rieger, P. 1994. *Electrochemistry*. Second Edition. New York: Chapman & Hall, Inc.
- Robert, J. & Caserio, M. 1977. *Basic Principles Of Organic Chemistry*, Second Edition. California: W.A. Benjamin. Inc.
- Torowati. 2009. *Uji Kualifikasi Alat Titration Potensimetri Metrohm 672 untuk Penentuan Kandungan Uranium* Prosiding Seminar Pengelolaan Nuklir ISSN 1978-9858
- Wang, J. 1994. *Analytical Electrochemistry*. Canada: Wiley VCH
- We Pan, Chuan., Jung., Ping., Tai., & Kan. 2004. Development of the tin oxide pH electrode by the sputtering method. *Sensor and Actuators B*, vol 108(1-2): 863–869.