

**BATCH INJECTION POTENTIOMETRY ASAM ASPARTAT, ASAM GLUTAMAT
DAN ARGININ MENGGUNAKAN ELEKTRODA TUNGSTEN OKSIDA
(BATCH INJECTION POTENTIOMETRY ASPARTIC ACID, GLUTAMIC ACID
AND ARGININE USING TUNGSTEN OXIDE ELECTRODE)**

Yeni Maulidah Muflihah*, Heny Masruroh, Zulfikar

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Jember
68121 Telp. (0331) 334293

*email: yeni.maulidah@gmail.com

Received 5 September 2013, Accepted 3 February 2014, Published 04 March 2014

ABSTRAK

Penggunaan tungsten oksida sebagai elektroda untuk mendeteksi keberadaan asam aspartat, glutamat dan arginin dalam larutan secara potensiometri dilakukan dalam sistem *batch*. Karakterisasi elektroda tungsten oksida yang digunakan meliputi rentang linier, limit deteksi, sensitivitas dan reproduibilitas. Pengaruh jenis buffer dan konsentrasinya dalam analisis juga dipelajari untuk mengoptimasi hasil pengukuran. Dari hasil penelitian, diperoleh kondisi optimum untuk mendeteksi arginin adalah pada buffer fosfat pH 6,0 dengan konsentrasi $0,5 \times 10^{-3}$ M. Koefisien korelasi diperoleh sebesar 0,9864, limit deteksi $5,24 \times 10^{-6}$ M, sensitivitas 16,1 mV/dekade dengan reproduibilitas 0 – 7 %. Asam glutamat memiliki koefisien korelasi 0,9789, limit deteksi $3,80 \times 10^{-6}$ M, sensitivitas 9,2 mV/dekade dan reproduibilitas 0 – 6 %. Asam aspartat memiliki koefisien korelasi 0,9949, limit deteksi $7,76 \times 10^{-6}$ M, sensitivitas 13,4 mV/dekade dan reproduibilitas 0 – 5 %.

Kata kunci: asam amino, batch, potensiometri, tungsten oksida

ABSTRACT

The presence of aspartic acid, glutamic acid and arginine in solution can be detected by potentiometric method using tungsten oxide electrode in a batch system. Characterization of tungsten oxide electrode used include linear range, limit of detection, sensitivity and reproducibility. Buffer type and concentration effect also studied to optimize the measurement results. Optimum conditions for detecting arginine was at pH 6.0 with a phosphate buffer concentration of 0.5×10^{-3} M. Correlation coefficient was obtained for 0.9864, the detection limit of 5.24×10^{-6} M, sensitivity 16.1 mV/decade with reproducibility 0 – 7 %. Glutamic acid has a correlation coefficient of 0.9789, the detection limit of 3.80×10^{-6} M, the sensitivity of 9.2 mV/decade and reproducibility of 0 – 6 %. Aspartic acid has a correlation coefficient of 0.9949, the detection limit of 7.76×10^{-6} M, sensitivity of 13.4 mV/decade and reproducibility of 0 – 5 %.

Key words: amino acid, batch, potentiometry, tungsten oxide

PENDAHULUAN

Potensiometri merupakan metode pengukuran yang berdasarkan adanya perbedaan muatan, reaksi redoks dan perubahan pH. Teknik potensiometri ini memiliki area aplikasi yang luas dan handal, waktu analisis yang singkat, serta sensitifitas dan selektifitas yang tinggi (Canel *et al.*, 2006; Chen *and* Yu, 1999; Wang *et al.*, 2005).

Pengembangan elektroda yang digunakan dalam potensiometri merupakan area yang cukup menjanjikan. Keberhasilan penggunaan tungsten oksida sebagai elektroda selektif pH yang dilakukan oleh Fenster *et al.* (2008) menjadi acuan dalam meneliti kemungkinan penggunaan tungsten oksida sebagai elektroda dalam analisis asam amino. Sifat tungsten oksida yang responsif terhadap adanya ion H^+ dalam larutan dapat dikembangkan untuk analisis asam amino. Asam amino merupakan salah satu jenis senyawa yang mampu menghasilkan H^+ dalam larutan, sehingga keberadaannya dapat dideteksi oleh tungsten oksida secara potensiometri.

Penggunaan tungsten sebagai elektroda dalam potensiometri antara lain dilakukan oleh Chen *and* Alexander (1996) mendeteksi asam karboksilat dan berhasil mendeteksi asam karboksilat. Chen *and* Yu (1999) serta Wang *et al.* (2005) menggunakan tungsten untuk menganalisis asam askorbat. Monser (2004) juga menggunakan elektroda tungsten untuk pengukuran trimetil amin dalam sistem alir.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode pendeteksian larutan asam-asam amino terutama asam aspartat, asam glutamat dan arginin dalam sistem batch secara potensiometri menggunakan elektroda tungsten oksida.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi peralatan gelas, neraca analitik, multimeter Sanwa PC500, komputer. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah arginin (MERCK), asam aspartat (MERCK), asam glutamat (MERCK), Na_2HPO_4 (pa), NaH_2PO_4 (pa), asam asetat (pa), sodium asetat (pa), HCl (pa), tris (hidroksi metil) amino metana (pa), aseton (pa), KCl (pa), aquades, aquademin. Bahan untuk elektroda meliputi kawat tungsten dari elemen lampu philips, dan kawat perak.

Pembuatan elektroda tungsten oksida dalam penelitian ini merujuk pada pembuatan elektroda tungsten oksida oleh Chen *and* Alexander (1996) serta Monser (2003). Batang tungsten dicuci dengan menggunakan aseton, dipanaskan dalam oven bersuhu $500\text{ }^\circ\text{C}$ selama satu jam. Setelah pemanasan permukaan tungsten akan berwarna hijau kekuningan.

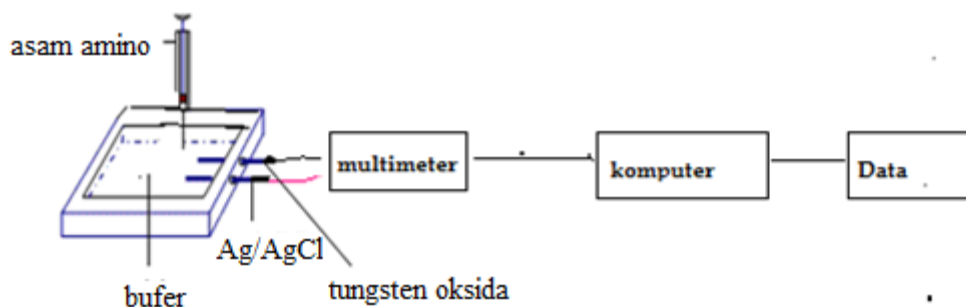
Elektroda selanjutnya dibasahi dengan NaOH 1×10^{-3} M selama 24 jam dan sebelum dipakai dicuci terlebih dahulu dengan akuades.

Pembuatan elektroda Ag/AgCl dilakukan dengan melakukan elektrolisis pada larutan KCl 1,0 M menggunakan kawat perak, baik di katoda maupun di anoda. Elektrolisis dilakukan selama 5-10 menit dengan potensial tetap sebesar 1,5 - 2,0 volt. Elektroda Ag yang terlapisi AgCl akan terbentuk pada anoda. Setelah elektrolisis selesai elektroda disimpan dalam larutan KCl 1 M di dalam botol coklat.

Optimasi kondisi pengukuran yang dilakukan meliputi jenis buffer, konsentrasi buffer, dan pH buffer. Pengukuran beda potensial dilakukan dalam sistem batch menggunakan multimeter Sanwa PC 500 yang terhubung dengan komputer. Bagan sistem pengukuran ditunjukkan Gambar 1. Penggunaan multimeter ini sebagai pengukur beda potensial dengan pertimbangan respon yang cepat, daerah pengukuran pada satuan mili volt, terhubung dengan komputer dan memiliki nilai impedansi yang tinggi. Elektroda tungsten oksida dipergunakan sebagai elektroda kerja dan Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding. Respon yang diperoleh merupakan respon total. Pembacaan respon asam amino merupakan selisih antara respon yang dihasilkan oleh larutan campuran buffer dan asam amino dikurangi dengan respon yang dihasilkan oleh buffer. Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan.

Optimasi jenis bufer dilakukan dengan cara larutan bufer jenis tertentu (tris-HCl, fosfat dan asetat) sebanyak 10 mL dengan konsentrasi 5×10^{-4} pada pH 7 diukur potensialnya, kemudian disuntikkan sebanyak 20 μ L asam amino 1×10^{-3} M dan potensialnya diukur kembali. Sedangkan optimasi pH buffer dilakukan dengan cara 10 mL buffer pH dengan konsentrasi 5×10^{-4} M divariasikan pHnya pada 5,5; 6,0; 6,5; 7,0 dan 7,5. Asam amino sebanyak 20 μ L dengan konsentrasi 1×10^{-3} M diinjeksikan dan potensial diukur kembali.

Optimasi konsentrasi komponen bufer dilakukan dengan cara buffer dengan jenis dan pH optimal dengan konsentrasi $0,5 \times 10^{-3}$ M; $2,0 \times 10^{-3}$ M; $4,0 \times 10^{-3}$ M; $6,0 \times 10^{-3}$ M; dan $8,0 \times 10^{-3}$ M dan diukur potensialnya dengan menginjeksikan 20 μ L asam amino 1×10^{-3} M.



Gambar 1. Pengukuran dalam Sistem *Batch*

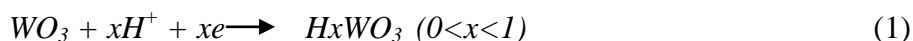
Karakteristik sensor

Rentang linier diperoleh dari pembuatan kurva kalibrasi asam amino yang dilakukan dengan menginjeksikan sebanyak 20 μL asam amino konsentrasi 10^{-1} M, 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, dan 10^{-6} M ke dalam 10 mL larutan buffer pada kondisi optimum, suhu ruang (± 27 °C). Limit deteksi diperoleh dengan mengukur respon blanko (larutan buffer) tanpa sampel asam amino sebanyak 10 kali. Reprodusibilitas atau kebolehulangan atau kepresisian hasil pengukuran dilakukan dengan menginjeksikan sampel asam amino konsentrasi tertentu sebanyak 6 kali dan dihitung simpangannya.

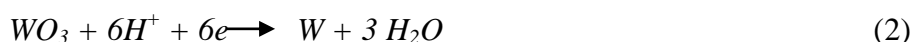
PEMBAHASAN

Asam amino akan mengalami disosiasi didalam larutan dan menghasilkan ion H^+ pada gugus karboksilnya. Tungsten yang terlapis dengan oksidanya dibagian luar akan sangat sensitif dengan perubahan konsentrasi ion H^+ dalam larutan. Perbedaan pH ini akan mengakibatkan perbedaan respon yang terjadi sebagai akibat adanya reaksi di lapisan oksida tungsten, yang diikuti oleh perubahan tingkat oksidasi tungsten.

Menurut Fenster *et al.*, 2008, reaksi ketergantungan terhadap konsenrasi H^+ dalam elektroda tungsten oksida adalah:



Perbedaan potensial (ΔE) yang diperoleh ketika asam amino diinjeksikan didasarkan pada reaksi sebagai berikut (Chen *et al.*, 1996) :



$$\Delta E = E_2 - E_1 = \text{const.} + \frac{RT}{F} \log \left(\frac{\text{H}^+_{\text{solute}}}{\text{H}^+_{\text{buffer}}} \right) \quad (3)$$

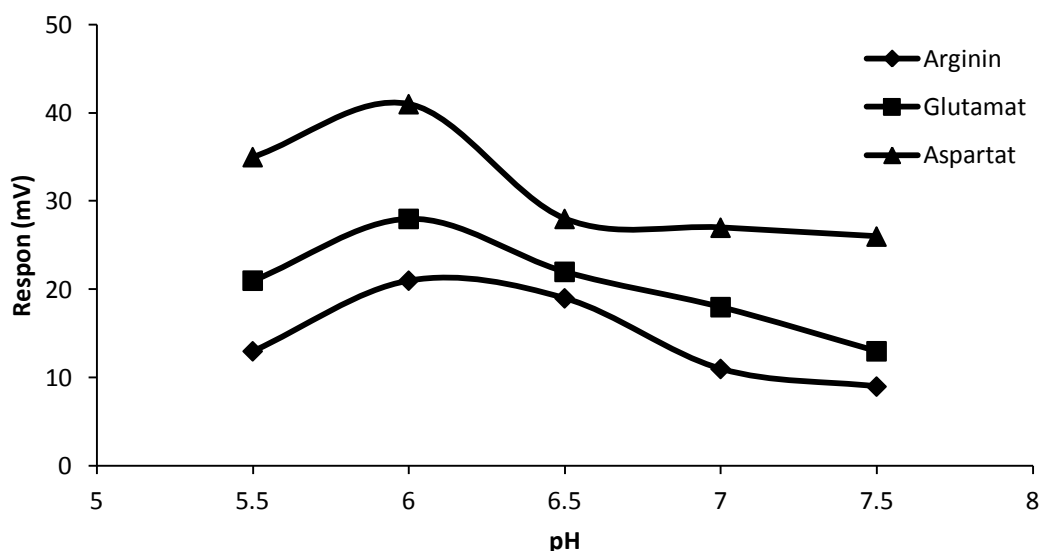
Dimana E_2 merupakan potensial dari *solute* (asam amino), E_1 adalah potensial bufer (buffer fosfat), H^+_{buffer} adalah konsentrasi H^+ dari bufer (buffer fosfat) dan H^+_{solute} adalah konsentrasi H^+ dari asam amino yang diinjeksikan, R adalah konstanta gas, T adalah temperatur dan F adalah tetapan faraday. Pada pH dan komposisi buffer yang konstan, persamaan 4 dapat disederhanakan menjadi

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \text{const} + 0,059 \log \left(\frac{H^+_{\text{solute}}}{H^+_{\text{buffer}}} \right) \quad (4)$$

Berdasarkan persamaan 4, elektroda tungsten oksida dengan elektroda pembanding Ag/AgCl memberikan perubahan beda potensial yang linier terhadap perubahan konsentrasi asam amino melalui perubahan konsentrasi H^+ . Hubungan ini mengikuti pola sub nernstian, yaitu ketika nilai slope lebih kecil dari $59,1/n$ mV per dekade pada asam amino arginin dan asam aspartat dengan persamaan $y = 13,4x + 72,4$ untuk asam aspartat dan $y = 16,1x + 86,033$ untuk arginin. Sedangkan untuk asam glutamat mengikuti persamaan $y = 9,1667x + 58,7$.

Pengaruh jenis buffer dipelajari untuk mengetahui buffer yang bisa menghasilkan respon asam amino yang paling baik. Jenis buffer yang digunakan untuk melakukan optimasi adalah buffer asetat, buffer fosfat dan buffer tris-HCl. Ketiga jenis bufer memberikan respon terhadap pengukuran ketiga asam amino, namun respon terbaik untuk ketiga jenis asam amino didapatkan pada bufer fosfat. Pemilihan bufer fosfat sebagai bufer optimum pada pengukuran asam amino selain didasarkan pada nilai respon yang paling tinggi, juga didasarkan pada tidak adanya perbedaan yang signifikan untuk ketiga pengulangan pada pengukuran. Dari pengukuran didapatkan potensial dari penggunaan buffer asetat, buffer fosfat dan tris-HCl berturut-turut adalah: 18 mV, 36 mV dan 31 mV. Potensial yang diperoleh ini merupakan selisih potensial antara potensial setelah diinjeksikan asam amino dengan potensial buffer sebelum diinjeksi dengan asam amino.

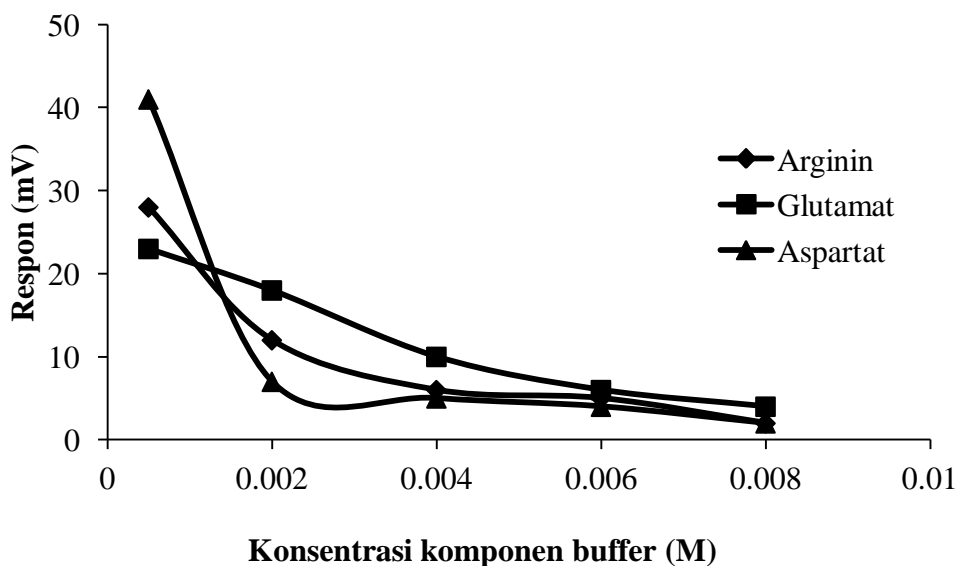
Hasil pengukuran pada ketiga asam amino (asam aspartat, asam glutamat dan arginin) dengan variasi buffer fosfat pH 5,5 - 8 pada Gambar 2 didapatkan bahwa respon asam amino naik pada pH 6,0 dan selanjutnya menurun pada pH lebih tinggi. Hal ini karena pada pH lebih besar dari 6,0 tungsten oksida cenderung kurang stabil, yang dapat dilihat pada diagram pourbaix tungsten, yang menunjukkan adanya transisi tungsten dari bentuk WO_3 padat menjadi bentuk ion WO_4^- pada daerah potensial yang luas dan pH tinggi.



Gambar 2. Grafik optimasi pH bufer untuk arginin, asam glutamat dan asam aspartat

Asam amino di dalam larutan asam akan terprotonasi dan molekulnya bermuatan lebih positif. Dalam larutan basa molekul asam amino kehilangan proton dan bermuatan lebih negatif. Pada pH 5,5 – 6,0 (pH rendah) asam amino arginin, asam aspartat dan asam glutamat bermuatan lebih positif, sehingga konsentrasi H^+ dalam larutan besar dan respon yang dihasilkan tinggi. Pada pH 6,5 – 7,5 asam amino arginin, asam aspartat dan asam glutamat bermuatan lebih negatif sehingga konsentrasi H^+ dalam larutan rendah dan respon yang dihasilkan kecil. Dari hasil penelitian ini didapatkan pada pH 6,0 respon elektroda terhadap asam amino paling tinggi.

Pengaruh konsentrasi komponen buffer terhadap respon elektroda tungsten oksida dipelajari dengan menggunakan buffer fosfat pH 6,0 pada beberapa konsentrasi. Pengukuran ketiga asam amino mendapatkan bahwa respon elektroda turun seiring dengan meningkatnya konsentrasi komponen buffer. Peningkatan konsentrasi buffer akan meningkatkan kapasitas buffer dan menurunkan besarnya perubahan ion H^+ pada penambahan asam amino yang akan dideteksi oleh elektroda. Sehingga, sensitivitas elektroda yang tertinggi yang bisa mendeteksi asam amino diperoleh pada saat konsentrasi buffer paling rendah, dan akan menurun sensitivitasnya dengan kenaikan konsentrasi. Pada penelitian ini, respon tertinggi didapatkan pada konsentrasi komponen buffer $0,5 \times 10^{-3}$ M. Pada konsentrasi di atas $0,5 \times 10^{-3}$ M, kapasitas buffer semakin besar, dan buffer semakin tidak mudah terganggu oleh penambahan ion H^+ dari asam amino sehingga respon yang dihasilkan lebih rendah.

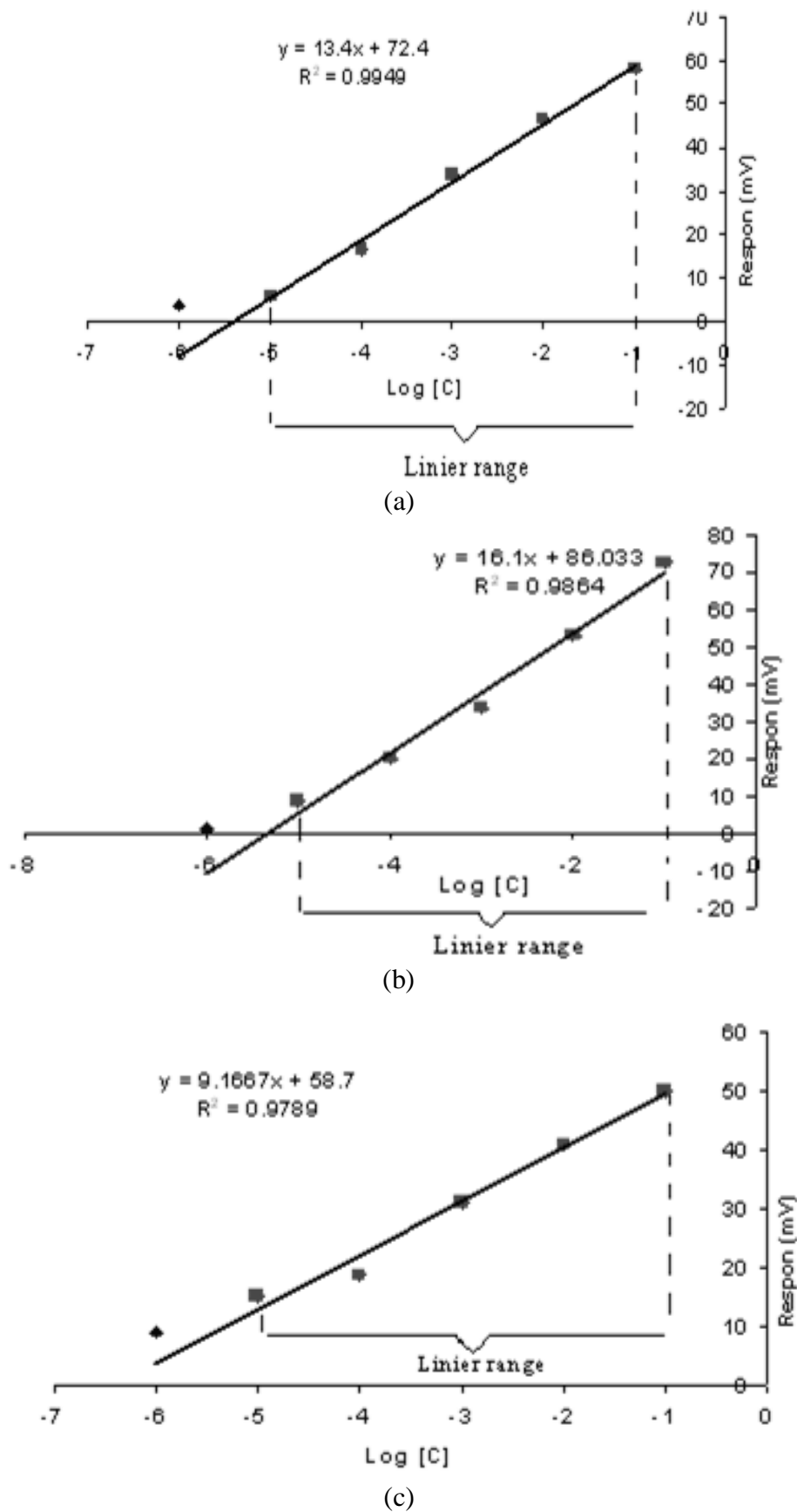


Gambar 3. Pengaruh konsentrasi komponen buffer terhadap respon elektroda

Karakteristik elektroda yang dipergunakan pada penelitian ini meliputi rentang linier, limit deteksi, sensitivitas dan reproduibilitas. Karakterisasi sensor dikerjakan pada kondisi buffer optimum yaitu pada buffer fosfat pH 6,0 dengan konsentrasi komponen buffer $0,5 \times 10^{-3}$ M.

Hubungan antara log konsentrasi asam amino yang diinjeksikan dan perubahan potensial memberikan respon yang linier dengan slope 13,4 mV per dekade untuk asam aspartat. Slope arginin sebesar 16,1 mV per dekade dan slope asam glutamat sebesar 9,2 mV per dekade. Dari harga slope yang diperoleh pada ketiga asam amino, didapatkan harga slope yang kurang dari nernstian slope, yaitu sebesar 59,1 mV/dekade. Sub nernstian slope ini kemungkinan sebagai akibat dari adanya perbedaan laju perubahan potensial dengan perubahan konsentrasi asam amino yang diinjeksikan.

Rentang linier merupakan daerah dimana kurva respon linier terhadap slope yang diperoleh. Pengaruh logaritma konsentrasi terhadap potensial yang terukur diamati pada range konsentrasi 10^{-6} M– 10^{-1} M. Grafik potensial terhadap log konsentrasi ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva kalibrasi asam amino: (a) asam aspartat, (b) arginin, (c) asam glutamat.

Gambar 4 menunjukkan bahwa respon meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi asam amino. Hubungan yang linier ini menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan potensial yang dihasilkan pada range 10^{-6} M – 10^{-1} M. Persamaan dan koefisien korelasi diperoleh dari hubungan antara log konsentrasi asam amino dengan potensial, dimana konsentrasi asam amino yang digunakan adalah 10^{-5} M – 10^{-1} M. Koefisien korelasi yang diperoleh sebesar 99 % untuk arginin dan asam aspartat, koefisien korelasi untuk asam glutamat adalah sebesar 98 %. Hasil pengukuran pada penelitian ini menunjukkan bahwa tungsten yang dipergunakan dalam sistem mampu bekerja pada daerah konsentrasi yang cukup luas.

Nilai limit deteksi yang didapatkan untuk asam amino arginin adalah $6,02 \times 10^{-6}$ M, untuk asam glutamat adalah $5,13 \times 10^{-7}$ M dan untuk asam aspartat adalah $4,79 \times 10^{-6}$ M. Nilai ini menunjukkan bahwa elektroda mampu mendeteksi asam amino pada konsentrasi yang cukup rendah.

Sensitivitas sensor pada penelitian ini diperoleh berdasarkan slope kurva kalibrasi dengan range 10^{-5} M – 10^{-1} M (Gambar 4). Dari Gambar 4 diperoleh nilai sensitivitas 16,1 mV/ dekade untuk asam amino arginin, 9,1667 mV/ dekade untuk asam glutamat, dan 13,4 mV/ dekade untuk asam aspartat.

Reproduktibilitas merupakan suatu metode pengulangan yang dilakukan agar dihasilkan limit antar pengukuran sekecil mungkin atau data yang dihasilkan harus presisi. Reprodusibilitas dinyatakan dengan Kv (koefisien variasi) pada Tabel 1 yang menunjukkan tingkat kesalahan pengukuran akibat pengulangan.

Tabel 1. nilai Kv asam amino arginin, asam glutamat dan asam aspartat

| Konsentrasi asam amino (M) | Arginin | Asam glutamat | Asam aspartat |
|----------------------------|---------|---------------|---------------|
| 10^{-6} | 0,00 | 0,06 | 0,00 |
| 10^{-5} | 0,07 | 0,04 | 0,00 |
| 10^{-4} | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| 10^{-3} | 0,02 | 0,00 | 0,02 |
| 10^{-2} | 0,01 | 0,00 | 0,01 |
| 10^{-1} | 0,01 | 0,00 | 0,00 |

KESIMPULAN

Keberadaan asam amino, terutama asam glutamat, asam aspartat dan arginin didalam larutan dapat dideteksi secara potensiometri menggunakan elektroda tungsten oksida. Respon elektroda tungsten oksida sangat dipengaruhi oleh jenis, pH dan

konsentrasi buffer yang digunakan. Jenis buffer yang bisa menghasilkan respon yang tinggi antara lain adalah buffer fosfat. Semakin tinggi konsentrasi buffer akan menurunkan sensitivitas respon elektroda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada PHK A2 yang telah mendanai penelitian ini, segenap rekan kerja dan mahasiswa yang memberikan bantuan baik pemikiran maupun tenaga untuk kelancaran penelitian yang kami lakukan

DAFTAR PUSTAKA

- Canel, E., Guitope, A., Doyan, A., and Killick, E. 2006, The Determination Of Protonation Constants Of Some Amino Acids And Their Ester By Potentiometry In Different Media, *Journal of Solution Chemistry*, vol. 35.
- Chen, Z., and Alexander, P.W., 1996, Potentiometric Detection Of Carboxylic Acids By Flow Injection Analysis Using A Tungsten Electrode, *Analytica Chimica Acta*, vol. 332, pp. 187-192.
- Chen, Z., and Xu, J.C., 1999, Potentiometric Detection Of Ascorbate Using A Graphite Carbon Electrode, *Talanta*, vol. 49, pp. 661-665.
- Fenster, C., Smith, A.J.S., Abts, A., Milenkovich, S., and Hassel, A.W., 2008, Single Tungsten Nanowires as pH Sensitive Electrodes, *Electrochemistry Communication*, vol. 10, pp.1125-1128.
- Miller, J.C., and Miller, J.N., 1993, *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd ed, Ellis Horwood Ltd., England.
- Monser, L., Adhoum, N., and Sadok, S., 2004, Gas Diffusion Flow Injection Determination Of Total Inorganic Carbon In Water Using Tungsten Oxide Electrode, *Talanta*, vol. 62, pp. 389-394.
- Wang, K., Xu, J., Tang, K., and Chen, H., 2005, Solid Contact Potentiometric Sensors For Ascorbic Acids Based On Cobalt Phthalocyanine Nanoparticles As Ionosphere, *Talanta*, vol. 67, pp. 798-805.