

Modifikasi Lapisan Difusi dengan Pengikat Silang *N,N'*Metilenbisakrilamida (MBA) pada Sistem DGT Berbasis Gel dengan Adsorben TiO_2 untuk Penentuan Konsentrasi Fosfat di Lingkungan Akuatik

Modification of the Diffusive Layer with *N,N'*Methylenebisacrylamide (MBA) Crosslinker on TiO_2 based DGT System for Determining the Concentration of Phosphate in Aquatic Environment

Asep Saefumillah*, Dhania Dwi Aprianti, Iman Abdullah, Inna Husna

Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia. Jl. Lingkar Kampus, Depok

Received 10th June 2013 / Accepted 13th August 2013

ABSTRAK

Konsentrasi fosfat yang tinggi di lingkungan akuatik dapat menyebabkan terjadinya ledakan alga yang dapat mengakibatkan ketidakseimbangan ekosistem air. Oleh karena itu, penentuan ketersediaanbiologi (bioavailabilitas) fosfat perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasinya dalam air. Salah satu metode efektif yang saat ini digunakan dalam penentuan bioavailabilitas fosfat di lingkungan akuatik adalah menggunakan perangkat *Diffusive Gradient in Thin Films (DGT)* dengan gel berpengikat TiO_2 . Pada penelitian ini dilakukan modifikasi pengikat silang pada gel poliakrilamida yang digunakan sebagai diffusive gel pada sistem DGT untuk meningkatkan selektivitasnya terhadap anion ortofosfat. Pengikat silang yang digunakan untuk modifikasi adalah *N,N'*-Metilenbisakrilamida (MBA). Pengaruh variasi konsentrasi pengikat silang MBA terhadap koefisien difusi menghasilkan nilai koefisien difusi berbanding terbalik dengan konsentrasi pengikat silangnya. Perbandingan selektivitas *diffusive gel* DGT dengan pengikat silang MBA dilakukan melalui perhitungan kadar fosfat total pada kedua sistem tersebut dengan adanya anion pengganggu berupa asam fitat dan asam humat. Perhitungan dilakukan menggunakan sistem *deployment* dalam waktu 24 jam dan variasi konsentrasi pengikat silang MBA (0,05%; 0,2%; dan 0,3%). Melalui perhitungan ini diketahui bahwa gel pendifusi (*diffusive gel*) dengan konsentrasi pengikat silang MBA sebesar 0,3% menunjukkan selektivitas terbaik terhadap anion ortofosfat. Hal ini dibuktikan melalui percobaan dengan suatu gangguan fosfat organik. Konsentrasi asam fitat dan asam humat yang teradsorpsi pada sistem ini cenderung tetap meski konsentrasinya bertambah. Hal ini membuktikan bahwa *diffusive gel* MBA 0,3% memiliki batas tertentu dalam melewatkan kedua asam organik tersebut, yaitu hanya sebesar 28,753 μg untuk asam fitat dan untuk asam humat sebesar 33,177 μg . Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa MBA

*Korespondensi:

email: asep.saefumillah@sci.ui.ac.id

dapat digunakan sebagai pengikat silang pada diffusive gel poliakrilamida dalam sistem DGT. Penggunaan pengikat silang MBA juga dapat menghasilkan pengukuran kadar ketersediaan biologi fosfat yang lebih akurat karena lebih selektif terhadap ortofosfat dan bersifat membatasi jumlah fosfat organik yang terdifusi yang dapat mengganggu analisis kadar ortofosfat.

Kata Kunci: DGT, Ortofosfat, (MBA), Koefisien Difusi, Gel Pendifusi

ABSTRACT

High phosphate concentrations in aquatic environments can cause algal bloom that can result serious problem in aquatic ecosystems. As such, the determination techniques of phosphate which reflect its bioavailability need to be available in order to know the level of phosphate concentration in aquatic ecosystem. One of effective method that is currently used in the determination of phosphate bioavailability in aquatic environments is a *Diffusive Gradient in Thin Films (DGT)* technique with TiO₂ as a binding layer. In this research, the crosslinking modification of polyacrylamide gel was used as a diffusive gels in DGT system to improve the selectivity of the orthophosphate adsorption. The crosslinker that used for modification is N, N'-methylenebisacrylamide (MBA). Diffusion coefficient with concentration of crosslinking degree of variation was found that the diffusion coefficient is inversely proportional to the concentration of cross linker. Test of selectivity DGT diffusive gels with crosslinking MBA done through the calculation of total phosphate levels in both systems with a competing organic phosphorus compound in the form of phytic acid anions and humic acids. The calculation is done using the system deployment within 24 hours and the concentration of crosslinking variation MBA (0,05%, 0,2% and 0.3%). Obtained through these calculations show that the diffusive gel crosslinking MBA with a concentration of 0.3% gave the best selectivity towards orthophosphate anion. This has been proven through experimental research by using organic phosphate as competing species. Concentration of phytic acid and humic acid adsorbed on these systems tend to stagnate despite its concentration increases. This proves that the diffusive gel MBA 0,3% have skipped a certain threshold in both the organic acids ; was only of 28,753µg for phytic acid and 33,177 µg for humic acid. Based on this study it can be concluded that the degree can be used as a crosslinking on diffusive polyacrylamide gels in DGT system. The use of crosslinked diffusive material can also provide phosphate bioavailability concentration measurements that are more accurate because it is more selective towards amount of orthophosphate and limiting organic phosphate diffused as phytic acid and humic acid which can interfere with analysis of the levels of orthophosphate.

Keywords: DGT, Orthophosphate, (MBA), Diffusion Coefficient, Diffusive Gel

PENDAHULUAN

Fosfor (P) merupakan nutrisi pembatas pada produktivitas biologis dalam ekosistem akuatik. Fosfor berada di perairan dalam bentuk spesi ortofosfat (H₂PO₄⁻) yang dianggap sebagai bentuk

yang paling sederhana yang mampu diserap secara biologis oleh biota akuatik (Teasdale, 2011). Tingginya konsentrasi fosfat pada sistem akuatik dapat mengakibatkan eutrofikasi atau pengayaan nutrisi yang berdampak pada ledakan pertumbuhan alga di lingkungan perairan.

Eutrofikasi dapat menurunkan kadar oksigen terlarut dalam air yang menyebabkan kematian pada biota akuatik (Manahan, 2000). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode pengukuran kadar fosfat di lingkungan.

Berbagai riset telah dilakukan untuk mengukur kadar fosfat dalam sampel akuatik. Metode yang dapat dilakukan untuk mengukur kadar fosfat, salah satunya adalah dengan metode DGT (*Diffusive Gradient in Thin Film*). Metode DGT ini merupakan metode in situ yang sangat baik dan mudah untuk mengukur spesi labil di lingkungan akuatik. Prinsip dasar dari metode ini pengikatan spesi analit pada suatu *binding gel* atau adsorben setelah berdifusi melalui suatu hidrogel kemudian dielusikan dengan suatu asam untuk mengetahui konsentrasinya. Pada teknik DGT, konsentrasi rata-rata solut yang terukur selama waktu tertentu dapat diketahui, kontaminasi sampel dapat dikurangi, dan memungkinkan melakukan prekonsentrasi tanpa merusak sampel. Konsentrasi spesi analit yang diikat oleh *binding gel* pada DGT dapat dianggap sama dengan konsentrasi yang mungkin berdifusi dari air ke biota akuatik sehingga metode ini dapat digunakan untuk memprediksi bioavailabilitas suatu logam labil, sulfat, dan fosfat (Zhang dan Davidson, 1995). TiO_2 digunakan sebagai *binding gel* pada sistem DGT karena telah diketahui memiliki kapasitas interaksi yang lebih baik terhadap fosfat dibandingkan ferrihidrit. (Teasdale dkk., 2010).

Pada penelitian ini, digunakan perangkat DGT untuk pengukuran spesi fosfat dengan TiO_2 sebagai gel pengikat. Pengikat silang (DGT Crosslinker) (2%) komersial hanya digunakan pada bagian

pembuatan gel berpengikat TiO_2 , sedangkan pada pembuatan lapisan *gel pendifusinya* digunakan pengikat silang N,N' -metilenbisakrilamida. Pada penelitian ini akan diuji apakah N,N' -*methylenebisacrylamide* dapat digunakan sebagai pengikat silang *diffusive gel* poliakrilamida pada metode DGT dan pengaruh koefisien difusinya pada spesi analit fosfat.

METODE

Analisis Sampel. Pengukuran konsentrasi spesi ortofosfat sebagai P (P-PO_4) menggunakan Spektrofotometer UV-Visible pada $\lambda = 720$ nm memakai asam askorbat sebagai pereduksi. Nilai absorbansi diamati berdasarkan terbentuknya kompleks biru fosfomolibdenum. *Diffusive gel* dan *binding gel* dikarakterisasi menggunakan FTIR Prestige-21SHIMADZU.

Preparasi N,N' -methylenebisacrylamide. Untuk membuat larutan sebanyak 100 mL N,N' -*methylenebisacrylamide* 2%, 2 g massa N,N' -*methylenebisacrylamide* dilarutkan ke dalam 100 mL metanol: air (1:9) pada labu ukur. Kemudian campuran disonikasi selama kurang lebih 30 menit sampai homogen.

Preparasi TiO_2 melalui Metode Sol-Gel. Preparasi TiO_2 dengan metode sol-gel dapat dilakukan dengan mencampurkan 35 mL etanol absolut dengan 2,4 mL DEA (dietanol amin) kemudian diaduk dengan pengaduk magnet. Selanjutnya ditambahkan 7,5 mL TTIP (titanium tetraisopropoksida) dan diaduk dengan pengaduk magnet selama dua jam. Setelah dua jam, ditambahkan campuran etanol: air (4,5 mL : 0,1 mL) dan PEG (polietilen

glikol) sebanyak 2 g kemudian diaduk lagi selama dua jam. Kemudian didiamkan selama seminggu lalu dikalsinasi selama 4-7 jam pada suhu 450°C.

Pembuatan Gel Pendifusi atau Diffusive gel dengan Pengikat Silang *N,N'*-Methylenebisacrylamide. Pembuatan gel pendifusi berdasarkan pada prosedur yang dikembangkan oleh Hao Zhang (1999). ini merupakan larutan 15% akrilamida (Sigma) dan pengikat silang *N,N'*-Methylenebisacrylamide 2% (Sigma) yang divariasikan konsentrasinya 0,05%; 0,2%; dan 0,3%. Selanjutnya ditambahkan dengan 35 µL *ammonium persulphate* dan 10 µL TEMED dalam wadah, dan diaduk sampai homogen (lebih kurang 15-20 detik). Dengan segera larutan dipipet ke dalam cetakan kaca yang telah dibersihkan dengan HNO₃. Larutan yang telah dimasukkan dalam cetakan kemudian didiamkan pada suhu ruang selama satu jam. Gel yang telah terbentuk dicuci dengan aquademineralisasi kemudian direndam selama 24 jam untuk hidrasi dan diganti airnya 3-4 kali. Gel kemudian disimpan dalam NaNO₃ 0,01-0,1M hingga akan digunakan.

Preparasi Gel-Oksida TiO₂. *Binding gel* dibuat berdasarkan prosedur Hao Zhang (Zhang, 2005). Larutan gel merupakan larutan 15% *acrylamide* (Sigma) dan 0,3% *cross-linker* (*DGT research*). Pada percobaan ini pembuatan larutan gel dilakukan sebanyak 5 mL untuk langsung digunakan dalam pembuatan *binding gel*. Pembuatan larutan gel sebanyak 5 mL dilakukan dengan mencampurkan sejumlah tertentu *DGT cross-linker*, *acrylamide*, dan aquademineralisasi yang kemudian ditambahkan padatan TiO₂ (50% air) lalu diaduk. Ke dalam campuran ditambahkan

sejumlah tertentu *ammonium persulphate* dan TEMED lalu diaduk sampai tercampur ($\pm 15-20$ detik) kemudian segera dipipet ke dalam cetakan yang telah dibersihkan dengan HNO₃ dan dipanaskan dalam oven pada suhu 42 – 46 °C selama satu jam. Gel-oksida direndam dalam aquademineralisasi selama 24 jam untuk hidrasi dan diganti airnya 3-4 kali. Setelah itu gel direndam dalam aquademineralisasi hingga akan digunakan.

Pemasangan Komponen DGT dan Pengujian dalam Larutan Fosfat. Untuk penggunaan perangkat DGT, lembaran gel (*diffusive* dan *binding gel*) terlebih dahulu dipotong dengan diameter 25 mm (menggunakan *DGT cutter*) dan membran filter direndam dalam aquademineralisasi terlebih dahulu. Perangkat DGT dicuci dan dibilas dengan aquademineralisasi. Potongan *binding gel* diletakkan terlebih dahulu pada *moulding* DGT dengan *binding* menghadap ke atas, kemudian diikuti dengan meletakkan *diffusive gel* dan *membran filter*. DGT ditutup dengan benar sampai rapat.

Uji Nilai Faktor Elusi. Untuk mengukur nilai faktor elusi digunakan larutan P (fosfor) 3 ppm sebanyak 100 mL dalam *beaker glass* 250 mL. *Binding gel* dipotong dengan ukuran 20 mm (menggunakan *DGT cutter*) kemudian *binding gel*-nya saja direndam ke dalam larutan uji tersebut. Sampel awal dan akhir dari larutan uji diambil untuk ditentukan berapa banyak massa larutan yang teradsorpsi ke dalam *binding gel*.

Uji Nilai Koefisien Difusi Gel dengan Pengikat Silang *N,N'*-Methylenebisacrylamide. Uji nilai koefisien dilakukan dengan menghubungkan antara waktu dengan

massa fosfat yang terikat. Larutan yang digunakan adalah larutan fosfat 3 ppm sebanyak 800 mL. Perangkat DGT yang telah disusun sesuai urutannya, dimasukkan pada larutan yang akan diuji. Posisi DGT diatur agar terletak di tengah dan pada posisi melayang atau tidak terapung (kurang lebih $\frac{3}{4}$ tinggi larutan), dan diikat dengan tali. Larutan diaduk dengan pengaduk magnet pada variasi waktu tertentu yaitu pada waktu 4, 8, 12, 18, dan 24 jam.

Uji Nilai Swelling. Nilai *swelling* ditentukan dengan cara mengeringkan hidrogel dari lapisan gel pendifusi. Kemudian massa *diffusive gel* yang telah dikeringkan tersebut ditimbang lalu direndam dalam akuademineralisasi 5 mL selama 24 jam. Setelah proses perendaman, gel pendifusi diangkat dan ditimbang kembali massanya tanpa dikeringkan.

Uji DGT Tanpa Gangguan Fosfat Organik sebagai Kontrol. Larutan yang digunakan adalah larutan fosfat sebagai $P-PO_4$ 3 ppm sebanyak 800 mL. Perangkat DGT yang telah disusun sesuai urutannya, dimasukkan pada larutan yang akan diuji. Posisi DGT diatur agar terletak di tengah dan pada posisi melayang (kurang lebih $\frac{3}{4}$ tinggi larutan). Larutan diaduk dengan *stirrer* selama 24 jam.

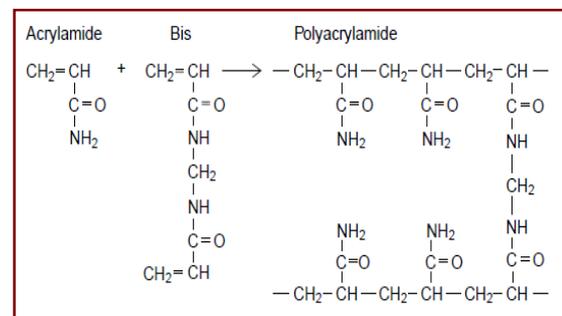
Uji Pengaruh Fosfat Organik dan Pengikat Alamiah terhadap Pengikatan Fosfat oleh Perangkat DGT. Pengaruh fosfat organik dan pengikat alamiah di lingkungan akuatik (asam fitat dan asam humat) terhadap pengikatan fosfat pada *binding gel* ditentukan dengan menggunakan perangkat DGT-TiO₂. Masing-masing larutan memiliki konsentrasi $P-PO_4$ dari ortofosfat yang hampir sama besarnya yaitu 3 mg/L dan

mengandung berbagai variasi konsentrasi dari asam fitat (1-4 mg/L) dengan waktu perendaman selama 24 jam. Untuk pengaruh gangguan asam humat dilakukan percobaan yang sama dengan asam fitat, namun dengan variasi konsentrasi yang berbeda (25, 50, 75, dan 100 mg/L).

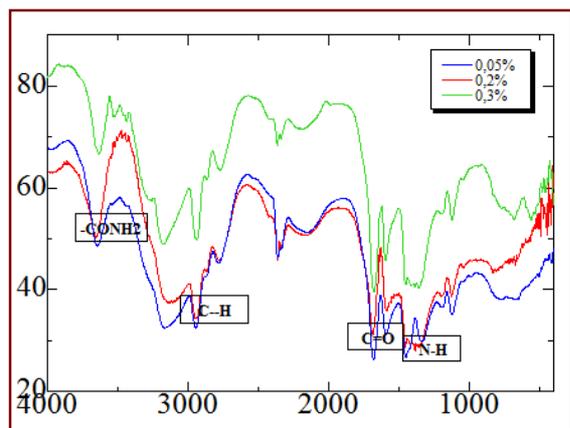
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan *Diffusive Gel* dengan Pengikat Silang *N,N'-Methylenebisacrylamide*.

Pembuatan *diffusive gel* poliakrilamida dengan pengikat silang *N,N'-Methylenebisacrylamide* (MBA) didasarkan pada reaksi adisi polimerisasi radikal bebas (Chrambach, 1985). Pada pembuatan *diffusive gel* dengan menggunakan MBA digunakan inisiator ammonium persulfat dan TEMED (*N,N,N',N'*-Tetraetilendiamin) sebagai katalisnya. Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi pengikat silang 0,05%; 0,2%; dan 0,3%. Konsentrasi maksimal MBA yang dapat digunakan adalah sebesar 0,3% jika digunakan konsentrasi yang lebih tinggi akan didapatkan gel yang sangat rapuh dan mudah pecah. Reaksi sintesis pembentukan poliakrilamida dengan pengikat silang MBA ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi sintesis poliakrilamida dengan MBA



Gambar 2. Spektrum FTIR diffusive gel pada berbagai variasi konsentrasi

Terhadap gel poliakrilamida yang diikat silang dengan MBA pada berbagai variasi konsentrasi maka dilakukan karakterisasi dengan FTIR seperti ditunjukkan pada Gambar 2 berikut ini. Keberadaan gugus-gugus fungsi yang khas dari kerangka poliakrilamida terlihat dengan jelas pada puncak-puncak absorpsi infra merah tersebut.

Pengujian Nilai Faktor Elusi. Pengujian nilai faktor elusi dilakukan untuk menentukan jumlah massa fosfat yang mampu diadsorpsi oleh *binding gel* TiO₂. Larutan NaOH 1 M digunakan untuk mengelusi fosfat pada DGT-TiO₂ karena diketahui memiliki nilai efisiensi elusi yang paling tinggi yaitu mencapai yaitu mencapai 92 ± 5% jika dibandingkan dengan menggunakan asam seperti HCl (80 ± 6%) dan H₂SO₄ (71 ± 9%) (Zhang dkk., 1998). Pengujian dilakukan dengan merendam *binding gel* TiO₂ saja dalam larutan fosfat 3 ppm selama 24 jam lalu dipindahkan ke dalam lautan NaOH 1 M dan didiamkan selama 24 jam. Dari hasil percobaan diperoleh nilai faktor elusi sebesar 0,9263 ± 0,0182. Hal ini

menunjukkan bahwa hanya sebagian kecil fosfat yang tidak ikut terelusi.

Pengujian Nilai Koefisien Difusi.

Penentuan nilai koefisien difusi bertujuan untuk menentukan seberapa cepat fosfat mampu melewati lapisan *diffusive gel*. Penentuan nilai koefisien difusi dapat dihitung dengan beberapa macam cara (Westrin dkk, 1994). Pada penelitian ini digunakan metode hubungan antara waktu dengan massa yang terserap (Bennett dkk., 2010). Pengukuran nilai koefisien difusi didasarkan pada persamaan sebagai berikut:

$$D = \frac{\alpha \Delta g}{AC} \quad (1)$$

Koefisien difusi (D , cm²/s) dihitung dengan menggunakan $slope(\alpha)$ dari regresi linier massa analit (ng) terakumulasi dalam *binding gel* dari waktu ke waktu (s), dengan ketebalan lapisan difusi (*diffusive gel* dan membran filter) (Δg , cm), area kontak (A , cm²), dan konsentrasi larutan (C , ng/mL). Hasil ujini nilai koefisien ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai koefisien difusi ortofosfat dengan pengikat silang MBA pada beberapa variasi konsentrasi

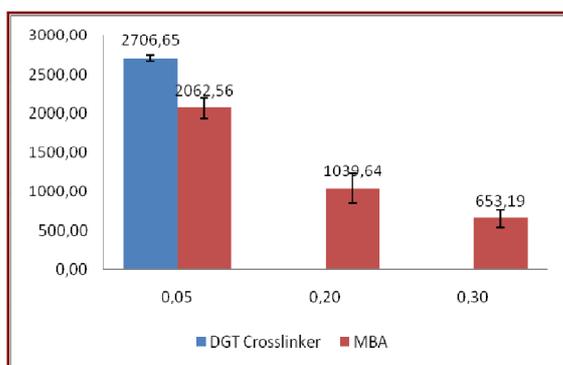
% MBA	Koefisien Difusi (x10 ⁻⁶ cm ² /s)
0,05	3,81
0,20	3,55
0,30	3,45

Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi pengikat silang MBA yang digunakan maka akan semakin kecil nilai koefisien difusinya. Hal ini menunjukkan bahwa pori yang dibentuk dari poliakrilamida semakin kecil sehingga fosfat semakin sulit untuk melewatinya. Jika

dibandingkan dengan menggunakan pengikat silang *DGT Crosslinker* (Lancaster) yang dibeli secara komersial yaitu sebesar $6,55 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, pengikat silang MBA pada berbagai variasi konsentrasi memberikan nilai yang setengah kali lebih kecil. Hal ini disebabkan pengikat silang *DGT Crosslinker* memiliki struktur yang terbuka sehingga memudahkan analit untuk bebas berdifusi melewatinya (Zhang dan Davidson, 1999).

Pengujian Faktor *Swelling*.

Pengujian faktor *swelling* dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak fosfat mampu melewati lapisan *diffusive gel*. *DGT Crosslinker* komersial memiliki nilai *swelling* yang paling besar dibandingkan MBA pada berbagai konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa gel dengan *DGT Crosslinker* mampu mengikat air paling banyak yang merupakan media pendifusi bagi fosfat.



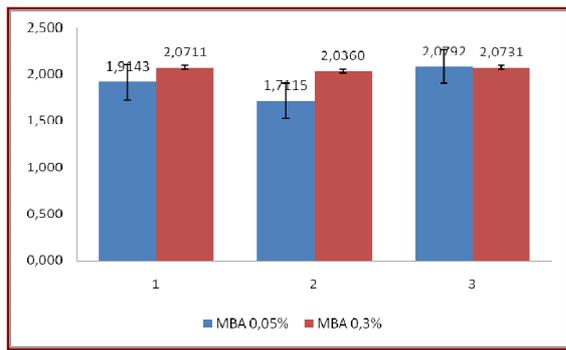
Gambar 3. Hasil Pengujian Gel Pendifusi pada berbagai konsentrasi MBA (%) terhadap % *Swelling*

Nilai *swelling* pada pengikat silang MBA menurun seiring dengan meningkatnya nilai konsentrasi yang menunjukkan bahwa fosfat semakin sulit berdifusi karena pori yang dihasilkan

semakin kecil. Grafik hasil uji nilai *swelling* ditunjukkan pada Gambar 3.

Pengujian DGT-TiO₂ dengan Pengikat Silang MBA Tanpa Gangguan Fosfat Organik (Kontrol). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan DGT-TiO₂ dalam menyerap fosfat secara homogen dan juga untuk mengetahui apakah *diffusive gel* mampu dilewati oleh fosfat. Pengujian dilakukan dengan menggunakan larutan fosfat 3ppm dan *diffusive gel* MBA pada konsentrasi 0,05% dan 0,3%. Dari hasil percobaan didapatkan nilai persentase C_{DGT} pada kedua konsentrasi *diffusive gel* MBA yang hampir sama yaitu ~68%, maka dapat disimpulkan kedua konsentrasi MBA tersebut mampu dilewati fosfat dan *binding gel* TiO₂ sendiri telah cukup homogen.

Uji DGT-TiO₂ dengan Pengikat Silang MBA dengan Gangguan Asam Fitat (PA). Penelitian penyerapan asam fitat ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari asam fitat (PA) terhadap C_{DGT} fosfat yang terukur. Asam fitat merupakan bentuk penyimpanan fosfor utama dalam tumbuhan terutama pada padi dan kacang-kacangan. Asam fitat merupakan fosfat organik yang mampu mengkelat logam multivalen contohnya oksida logam membentuk kompleks logam-PA (Erdman dan Zhou, 1995). Pengujian dilakukan dengan perendaman perangkat DGT dalam empat larutan berbeda, masing-masing mengandung 3 ppm ortofosfat dan asam fitat (Sigma) dengan konsentrasi berbeda 1-4 ppm pada *diffusive gel* MBA 0,05% dan 0,3%. Kemudian akan dilihat masing-masing konsentrasi fosfat yang terserap pada *binding gel*.



Gambar 4. Hasil uji pengulangan pemakaian DGT-TiO₂ tanpa gangguan fosfat organik dengan persen pengikat silang MBA yang berbeda terhadap nilai C_{DGT} (µg/mL)

Metode analisis fosfat untuk pengujian ini dibagi dua, yaitu tanpa destruksi dan dengan destruksi. Analisis tanpa destruksi dilakukan untuk mengukur fosfat dari ortofosfat saja. Analisis dengan destruksi adalah untuk pengukuran konsentrasi P dari fosfat total (ortofosfat dan asam fitat). Proses destruksi akan menghidrolisis organofosfat menjadi fosfat inorganik dan dapat ditentukan konsentrasinya sebagai fosfat total dengan metode pembentukan fosfomolibdenum biru. Berikut adalah data hasil pengukuran ortofosfat dengan gangguan asam fitat pada MBA 0,05% dan MBA 0,3%

Tabel 2. Uji pengaruh asam fitat dengan pengikat silang MBA 0,05%

Konsentrasi PA (mg/L)	C Awal (mg/L)	Massa ortofosfat (µg)	C DGT : C Awal (%)
1	2,310	26,825	138,17
2	2,793	24,976	106,41
3	2,966	12,210	48,99
4	2,586	7,850	36,12

Tabel 3. Uji pengaruh asam fitat dengan pengikat silang MBA 0,3%

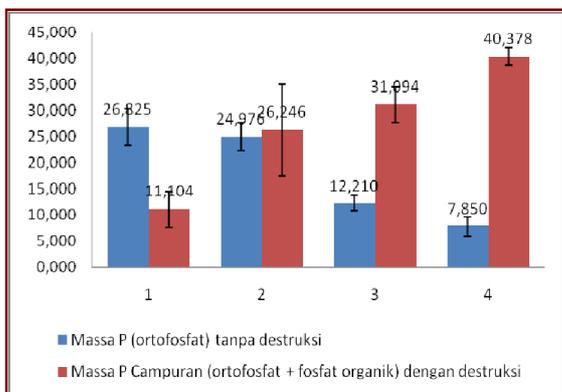
Konsentrasi PA (mg/L)	C Awal (mg/L)	Massa ortofosfat (µg)	C DGT : C Awal (%)
1	2,621	43,984	221,84
2	3,774	30,551	106,99
3	2,452	16,584	89,42
4	3,276	15,075	60,83

Data hasil perbandingan C_{DGT} pada pengukuran ortofosfat baik pada *diffusive gel* dengan pengikat MBA pada konsentrasi 0,05% atau 0,3% menunjukkan hasil yang relatif sama yaitu mengalami penurunan. Hal ini mungkin disebabkan konsentrasi fosfat awal yang terukur pada larutan awal dan elutan pada sampel campuran (ortofosfat dan asam fitat) merupakan fosfat yang berasal dari ortofosfat dan asam fitat yang ditambahkan dan telah mengalami perubahan selama masa *deployment time* 24 jam. Hal ini juga dapat disebabkan adanya reaksi hidrolisis yang terjadi saat pengukuran dengan pereaksi kombinasi yang mengandung H₂SO₄ 5 N.

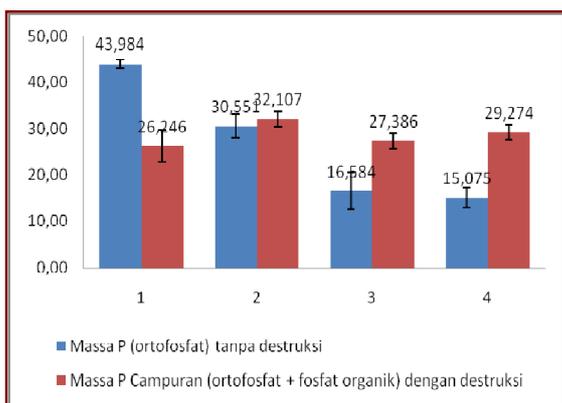
Untuk membuktikan bahwa fosfat organik yang disumbangkan dari asam fitat juga terikat di dalam *binding gel*-nya maka dilakukan perbandingan massa dari ortofosfat dan massa campuran (ortofosfat dan fosfat organik dari asam fitat) dari larutan elusi pada kedua konsentrasi pengikat silang. Hasil pengukuran ditunjukkan pada Gambar 5.

Data hasil perbandingan massa spesi P ortofosfat dengan P total pada pengukuran ortofosfat baik pada *diffusive gel* dengan pengikat MBA pada konsentrasi 0,05% atau 0,3% menunjukkan hasil yang relatif sama yaitu mengalami penurunan. Hal ini disebabkan kehadiran asam fitat dengan

konsentrasi yang sama atau lebih tinggi dari ortofosfatnya berkompetisi dengan ortofosfat untuk berikatan dengan TiO_2 .



Gambar 5. Perbandingan massa spesi P terserap (μg) pada variasi konsentrasi asam fitat (1, 2, 3 dan 4 mg/L) dengan dan tanpa destruksi pada variasi MBA 0,05%



Gambar 6. Perbandingan massa spesi P terserap (μg) pada variasi konsentrasi asam fitat (1, 2, 3 dan 4 mg/L) dengan dan tanpa destruksi pada variasi MBA 0,3%

Asam fitat yang merupakan agen pengkelat logam lebih disukai oleh Ti^{4+} membentuk ikatan kovalen koordinasi dibandingkan dengan ortofosfat. Namun, dengan menggunakan MBA 0,3% yang memiliki nilai koefisien difusi yang lebih kecil maka kemampuan asam fitat untuk

berdifusi sudah melewati kapasitas maksimum sehingga berapa pun konsentrasi asam fitat yang ditambahkan, massa yang terserap di dalam *binding gel* relatif sama yaitu sebesar 28,753 μg . Jadi, dapat disimpulkan bahwa dengan menggunakan MBA 0,3%, difusi dari asam fitat dapat dibatasi.

Uji DGT- TiO_2 dengan Pengikat Silang MBA dengan Gangguan Asam Humat (HA). Penelitian penyerapan asam humat bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan asam humat terhadap C_{DGT} fosfat yang terukur. Asam humat berperan penting terhadap pertumbuhan tanaman. Asam humat juga mampu berinteraksi dengan ion logam, oksida, hidroksida, mineral, dan organik, termasuk zat pencemar beracun lainnya (Schnitzer,1978). Kemampuannya ini dapat membuat ion fosfat bebas (ortofosfat) yang berada dalam air terikat dengan asam humat dan memiliki berat molekul yang besar. Pengujian dilakukan dengan perendaman perangkat DGT dalam empat larutan berbeda, masing-masing mengandung 3 ppm ortofosfat dan asam humat dengan variasi konsentrasi (25, 40, 75, 100 ppm) pada *diffusive gel* MBA 0,05% dan 0,3%. Hasil pengukuran kedua variasi tersebut ditunjukkan pada Tabel 4 dan 5.

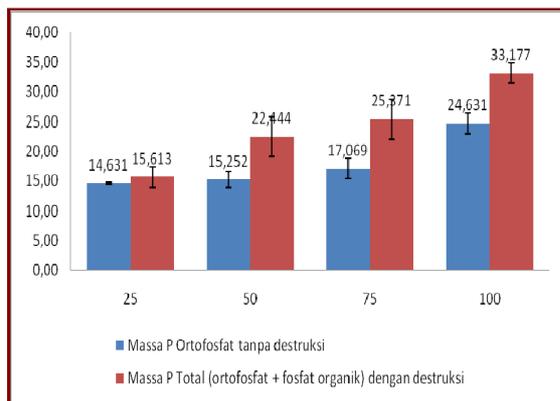
Tabel 4. Pengaruh asam humat dengan pengikat silang MBA 0,05%

Konsentrasi HA (mg/L)	C Awal (mg/L)	M ortofosfat (μg)	C DGT : C Awal (%)
25	2,467	14,631	70,58
50	2,500	15,252	72,59
75	2,600	17,069	78,12
100	2,600	24,631	112,73

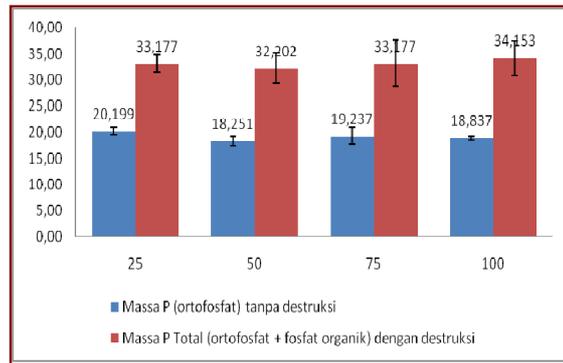
Tabel 5. Pengaruh asam humat dengan pengikat silang MBA 0,3%

Konsentrasi HA (mg/L)	C Awal (mg/L)	M ortofosfat (μg)	C DGT : C Awal (%)
25	2,667	20,199	100,12
50	2,600	18,251	92,79
75	2,500	19,237	101,71
100	2,533	18,837	98,29

Dari kedua data tersebut dapat dilihat bahwa dengan menggunakan pengikat silang MBA 0,05% dapat dilihat adanya peningkatan nilai C_{DGT} sedangkan dengan menggunakan MBA 0,3% nilai C_{DGT} -nya relatif sama atau tidak terganggu serapannya. Untuk membuktikan bahwa fosfat organik yang disumbangkan dari asam humat juga mampu berdifusi melewati *diffusive gel* dan maka dilakukan perbandingan massa dari ortofosfat dan massa campuran (ortofosfat dan fosfat organik dari asam humat) dari larutan elusi. Hasil pengukuran terdapat pada Gambar 7 dan 8 berikut ini.



Gambar 7. Perbandingan massa P terserap (μg) pada berbagai konsentrasi asam humat (25, 50, 75 dan 100 mg/L) dengan dan tanpa destruksi pada MBA 0,05%



Gambar 8. Perbandingan massa P terserap (μg) pada berbagai konsentrasi asam humat (25, 50, 75 dan 100 mg/L) dengan dan tanpa destruksi pada MBA 0,3%

Berdasarkan data hasil perbandingan massa spesi P ortofosfat dengan P total pada pengukuran ortofosfat dengan *diffusive gel* memakai pengikat silang MBA 0,05% menunjukkan peningkatan yang proporsional dengan bertambahnya konsentrasi asam humat yang ditambahkan., sedangkan pada pemakaian pengikat silang MBA 0,3% relatif sama atau tidak berpengaruh. Overestimasi ini mungkin disebabkan dari reaksi hidrolisis saat pengukuran menggunakan pereaksi kombinasi yang mengandung 5 N H_2SO_4 . Hal ini disebabkan juga kemampuan dari asam humat yang mampu mengompleks ortofosfat secara langsung jika struktur asam humat mengandung unsur Fe atau Al di dalamnya (Sinha, 1971). Asam humat sebelum mengikat fosfat, terlebih dahulu atau secara alamiahnya mengompleks Fe lalu kemudian HA-Fe mengikat ortofosfat (Weir dan Soper, 1963). Fe berperan sebagai jembatan yang dapat mengikat asam humat dan ortofosfat. Pada penelitian ini digunakan asam humat teknis (Humika) yang mengandung Fe sebesar 0,50%, maka

dapat disimpulkan bahwa asam humat dapat mengompleks ortofosfat dengan baik.

Namun, dengan menggunakan pengikat silang MBA 0,3% keberadaan asam humat relatif tidak mempengaruhi serapan ortofosfat pada *binding gel*-nya. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ortofosfat yang terkompleks asam humat dapat melewati *diffusive gel*-nya tetapi spesinya dapat terbatas yaitu sebesar 33,177 μg sehingga berapa pun konsentrasi asam humat yang ditambahkan, massa yang terserap akan relatif sama. Jadi, dapat disimpulkan dengan menggunakan pengikat silang MBA 0,3% keberadaan asam humat dapat dibatasi serapannya.

Berdasarkan serangkaian percobaan dan pengujian di atas maka pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa MBA dapat digunakan sebagai pengikat silang pada pembuatan *diffusive gel* poliakrilamida dalam sistem DGT. Disimpulkan juga bahwa jika konsentrasi MBA 0,3% yang digunakan, ukuran pori gel pendifusi yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan MBA 0,05%. Selain itu, penggunaan pengikat silang MBA juga dapat menghasilkan pengukuran kadar bioavailabilitas fosfat yang lebih akurat karena lebih selektif terhadap ortofosfat dan bersifat membatasi jumlah fosfat organik yang terdifusi seperti asam fitat dan asam humat yang dapat mengganggu analisis kadar ortofosfat.

KESIMPULAN

Berdasarkan percobaan yang dilakukan dapat disimpulkan nilai elusi *binding gel* TiO_2 adalah sebesar $0,9263 \pm 0,0196$ yang menunjukkan masih terdapat fosfat yang tetap terikat kuat pada *binding gel* TiO_2 .

Nilai koefisien difusi dengan pengikat silang MBA pada berbagai variasi konsentrasi memiliki nilai yang setengah kali lebih kecil daripada menggunakan *DGT Crosslinker* (Lancaster). Pori yang dihasilkan dari pengikat silang MBA semakin kecil seiring dengan penambahan konsentrasi pengikat silangnya terbukti dengan menurunnya nilai koefisien difusi dan nilai *swelling*-nya. Uji DGT- TiO_2 tanpa gangguan fosfat organik (asam fitat dan asam humat) atau kontrol dengan pengikat silang MBA pada konsentrasi 0,05% dan 0,3% memberikan nilai yang relatif sama. DGT- TiO_2 dengan pengikat silang MBA pada konsentrasi 0,3% dapat membatasi penyerapan spesi asam fitat (28,753 μg) dan asam humat (33,177 μg) terhadap *binding gel* sehingga dapat menghasilkan pengukuran kadar bioavailabilitas fosfat yang lebih akurat karena lebih selektif terhadap ortofosfat

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Universitas Indonesia yang telah memberikan Hibah Riset Madya RUUI Tahun 2012. Serta ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada Prof Dr. Hao Zhang atas dukungan dan bantuan pengikat silang komersial yang diperoleh penulis dari DGT Research Ltd.

DAFTAR PUSTAKA

Bennett WW, Teasdale PR, Panther JG, Welsh DT, Jolley DF. 2010. *New Diffusive Gradients In a Thin Film Technique for Measuring Inorganic Arsenic and Selenium(IV) Using Titanium Dioxide*

- Based Adsorbent. Anal. Chem. 82(17):7401-7407.
- Chrambach A. 1985. *The Practice of Quantitative Gel Electrophoresis*. Weinheim: VCH, Deerfield Beach.
- Erdman JWJ, JR Zhou. 1995. *Phytic Acid in Health and Disease*. Crit Rev Food Sci Nutr. 35(6):495-508.
- Manahan SE. 2000. *Environmental Chemistry*. 7th ed, Boca raton. London: Lewis Production.
- Schnitzer M. 1978. *Humic substances: chemistry and reactions*. In: *Soil Organic Matter (ed.)*. M. Schnitzer & S.U. Khan. Amsterdam: Elsevier.
- Sinha MK. 1971. *Organo-metallic Phosphates I. Interaction of Phosphorus Compounds with Humic Substances*. Plant and Soil. 35: 471-484.
- Teasdale P, Panther JG, Bennet WW, Welsh DD, Zhao H. 2011. *Comparing Dissolved Reactive Phosphorus Measured by DGT with Ferrhydrite and Titanium Dioxide Adsorbent: Anionic Interferences, Adsorbent Capacity and Deployment Time*. Analytica Chimica Acta. 698: 20-26.
- Teasdale P, Panther JG, Bennet WW, Welsh DD, Zhao H. 2010. *Titanium Dioxide-Based DGT Technique for In situ Measurement of Dissolved Reactive Phosphorus in Fresh and marine Waters*. Environ. Sci. Technol. 44: 9419-9424.
- Weir C, Soper RJ. 1963. *Interaction of Phosphates with Ferric Organic Complexes*. Canadian Journal of Soil Science. 43: 393-399.
- Westrin BA. 1994. *Diffusion Measurement in Gels*. Journal of Controlled Release. 30: 189-199.
- Zhang H, W Davison. 1995. *Performance Characteristics of Diffusion Gradient in Thin Film for The in situ Measurement of Trace Metal in Aqueous Solution*. Anal Chem. 67: 3391-3400.
- Zhang H. 2005. *Practical Guide for Making Gel and Chelex Gel*. United Kingdom: DGT Research Ltd.
- Zhang H, W Davidson, Ranu G, Takahiro K. 1998. *In Situ Measurement of Dissolved Phosphorus in Natural Waters Using DGT*. Analytical Chimica Acta. 370: 29-38.
- Zhang H, W Davison. 1999. *Diffusional Characteristics of Hydrogels Used In DGT and DET Techniques*. Analytica Chimica Acta. 398(1999): 329-340.