

Modifikasi Elektroda Pasta Karbon dengan Antrakuinon untuk Identifikasi Nikotin pada Rokok Komersial

Modification of Carbon Paste Electrodes with Anthraquinone for the Identification of Nicotine in Commercial Cigarettes

Nuril Khoiriyah*, Pirim Setiarso

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya
Jalan Ketintang, Surabaya 60231

ABSTRAK

Penelitian mengenai modifikasi elektroda pasta karbon dengan antrakuinon untuk identifikasi nikotin dalam rokok komersial telah dilakukan. Nikotin, 3-(1-metil-2-pirolidinil) piridin, merupakan suatu basa yang mudah menguap sehingga dalam identifikasinya memerlukan perlakuan khusus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi terbaik elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon, pH, dan waktu deposisi sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi nikotin dalam rokok komersial secara voltametri siklik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nikotin menghasilkan puncak tunggal oksidasi pada komposisi terbaik EPKA 3:3:4 dengan jumlah antrakuinon yang lebih banyak dari karbon dan minyak parafin. pH optimum pengukuran berada pada pH 9 dengan waktu deposisi 30 detik. Kadar nikotin dalam tiga merk rokok A, B, C berturut-turut yang terukur dengan EPKA secara voltametri adalah 0,62; 1,12; 1,24 mM. Hasil penelitian divalidasi dengan metode pengukuran lain. Pengukuran secara HPLC menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan selisih rata-rata 0,074 M untuk konsentrasi sampel nikotin dalam rokok.

Kata kunci: voltametri siklik, elektroda pasta karbon, antrakuinon, nikotin, rokok.

ABSTRACT

The research about modifying carbon paste electrode by anthraquinone for nicotine identification in commercial cigarettes has been developed. Nicotine, 3-(1-methyl-pirolidin-2-yl) pyridine, is a volatile base that its identification needs particular treatment. This research aims to determine the best condition of carbon paste electrode modified anthraquinone include composition, pH, and deposition time that could be applied in identifying nicotine from commercial cigarettes by cyclic voltammetry. The result shows that nicotine yields single oxidation peak at best composition of CPE-A 3:3:4 with the amount of anthraquinone is more than two other materials. Optimum pH at pH 9 with deposition time 30 s. Quantity of nicotine in three cigarettes products A, B, C that measured with CPE-A voltammetrically were 0.62; 1.12; 1.24 mM, consecutively. The result has been validated with another measurement. A measurement by HPLC shows not much different result with the average difference 0.074 M.

Key words: cyclic voltammetry, carbon paste electrode, anthraquinone, nicotine, cigarettes.

PENDAHULUAN

Rokok merupakan suatu produk olahan tembakau yang merajai industri di Indonesia. Cara penggunaan rokok adalah dengan dibakar sehingga menghasilkan asap. Asap rokok mengandung banyak zat kimia berbahaya, baik bagi perokok aktif maupun perokok pasif. Salah satu kandungan berbahaya dalam asap rokok adalah nikotin. Nikotin yang masuk ke Di Amerika Serikat, 3.400 perokok pasif meninggal akibat kanker paru-paru dan 46.000 meninggal akibat serangan jantung per tahun (WHO, 2010). Nikotin, 3-(1-metil-2-pirolidinil) piridin, termasuk dalam senyawa alkaloid yang mudah menguap dengan massa molekul 162,23 (Pendegrass *et al.*, 1988). Oleh karena sifatnya yang volatil, identifikasi senyawa nikotin memerlukan metode khusus. Beberapa penelitian yang telah dilakukan yaitu dengan

metode GC-MS (Iwai *et al.*, 2013; Massadeh *et al.*, 2009), HPLC (Massadeh *et al.*, 2009; Jan *et al.*, 1997), dan voltametri (Kassa *et al.*, 2013; Xiong *et al.*, 2009).

Voltametri merupakan suatu metode analisis sampel dengan prinsip pengukuran arus listrik yang terjadi dalam suatu sel elektrokimia akibat pemberian potensial (Skoog, 1996). Metode ini dikembangkan dari polarografi yang mana telah banyak digunakan untuk keperluan analisis kimia organik, anorganik, fisik, dan biologis yang melibatkan dasar-dasar reaksi reduksi dan oksidasi, reaksi adsorpsi, dan mekanisme transfer elektron.

Dalam metode voltametri, terdapat tiga macam elektroda penyusun yang tercelup dalam larutan analit. Elektroda kerja, elektroda pembantu, dan elektroda pembanding. Tempat berlangsungnya reaksi redoks atau transfer elektron adalah pada elektroda kerja. Setiap elektroda kerja

* E-mail Korespondensi:
nurilsama6@gmail.com

memiliki *range* potensial yang dapat digunakan dalam larutan berbeda-beda bergantung pada material elektroda dan komposisi larutan yang terlibat (Kounaves, 1997). Salah satu jenis elektroda kerja yang sering digunakan adalah elektroda pasta karbon.

Material utama yang menyusun elektroda pasta karbon adalah serbuk grafit dan cairan pasta. Beberapa jenis pasta karbon bentuknya lembut dan non-kompak atau tidak padat, sehingga perlu untuk ditempatkan pada suatu wadah tertentu. Salah satu bentuk konstruksi elektroda pasta karbon sederhana yaitu dengan sebatang kawat tembaga dengan sedotan plastik atau polietilen sebagai penahan pasta karbon yang membungkus sebagian kecil batang kawat (Yulianto dan Setiarso, 2014).

Elektroda pasta karbon mudah untuk dimodifikasi menjadi suatu komposit yang mampu mengidentifikasi suatu analit secara selektif dan sensitif. Antrakuinon merupakan salah satu senyawa organik yang dapat dijadikan *modifier* untuk EPK. Antrakuinon, karena mudah mengalami reaksi redoks dan mempunyai sifat katalitik (Tadesse *et al.*, 2015) cocok digunakan sebagai *modifier* dalam pengukuran secara voltametri.

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi nikotin pada rokok komersial menggunakan elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon (EPKA) secara voltametri siklik. Adapun pembuatan EPKA adalah dengan membuat komposit dari karbon, parafin, dan antrakuinon.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Instrumen Voltametri tipe 797 VA Computrace, elektroda Ag/AgCl (KCl jenuh) sebagai elektroda pembanding, elektroda platina sebagai elektroda pembantu, pH meter, neraca analitik, peralatan gelas, spatula, penjepit buaya dan kabel, amplas, gunting, kabel tembaga, kaca arloji, cawan penguap, oven.

Bahan yang digunakan antara lain rokok komersial, nikotin standar (100 mg/ml) dari LIPI, antrakuinon 97% (CAS Number 84-65-1) dari Sigma Aldrich, serbuk karbon, minyak parafin, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , KCl, aquademin.

Sampel dalam penelitian ini merupakan larutan standar nikotin berbagai konsentrasi dan ekstrak nikotin dari rokok tembakau. Larutan standar nikotin 100 mg/ml diencerkan dalam labu ukur dengan aquades menjadi konsentrasi 3,6; 3,2; 2,8; 2,4; 2,0; 1,6; 1,2; 0,8; 0,4; 0,1 mM.

Untuk ekstrak nikotin diperoleh dari tiga macam merk rokok komersial. Tembakau dari masing-masing rokok A, B, dan C diambil dan dioven selama 30 menit pada suhu 40°C untuk mengeringkan tembakau. Setelah menjadi kering, tembakau ditumbuk dengan mortar dan alu kemudian dikeringkan lagi. 0,2 gram bubuk tembakau masing-masing sampel dilarutkan dalam 10 mL aquades. Campuran disonikasi selama 30 menit menggunakan 'Elmasonic' *ultrasonic bath* pada suhu ruang dan disaring (Švorc *et al.*, 2013).

Pembuatan Elektroda Pasta Karbon Termodifikasi Antrakuinon (EPKA). Kabel tembaga sepanjang 10 cm dikupas ujung atas bagian isolatornya sepanjang 1 cm dan ujung bawahnya 0,5 cm. Bagian konduktor yang nampak dari kabel diampelas hingga mengkilat. Pada ujung bawah bagian konduktor diberi penutup berupa sedotan plastik sebagai wadah pasta karbon yang membantu agar pasta tidak mudah *release*.

Penentuan pH Optimum. Elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon komposisi terbaik digunakan sebagai elektroda kerja. Sel voltametri diisi 2,5 mL analit dalam 10 mL KCl dengan konsentrasi 50-100 kali lebih besar dari analit, serta 10 mL buffer fosfat variasi pH 8, 9, 10, 11, 12. Kemudian dilakukan pengukuran arus pada potensial -1,5 V sampai +1,5 V dengan waktu deposisi 10 detik dan laju pindai 0,05 V/detik.

Penentuan Waktu Deposisi Terbaik Elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon komposisi terbaik digunakan sebagai elektroda kerja. Sel voltametri diisi 2,5 mL analit ditambah 10 mL KCl dengan konsentrasi 50-100 kali lebih besar dari analit, serta 10 mL buffer fosfat pH optimum. Kemudian dilakukan pengukuran arus pada potensial -1,5 V sampai +1,5 V dengan waktu deposisi 0, 10, 30, 60, 80 detik dan laju pindai 0,05 V/detik.

Penentuan Kadar Nikotin dalam Rokok dengan Voltametri Siklik. Larutan standar nikotin diukur secara voltametri siklik menggunakan elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon komposisi terbaik pada keadaan optimum. Arus puncak yang terukur dihubungkan secara linier dengan konsentrasi larutan standar sehingga diperoleh persamaan regresi linier dari kurva standar. Persamaan regresi tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi nikotin dalam sampel rokok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Elektroda Pasta Karbon Termodifikasi Antrakuinon (EPKA)

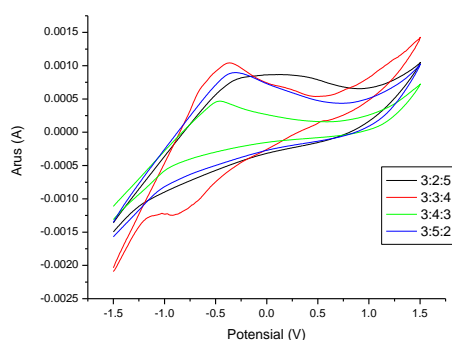
Elektroda pasta karbon banyak digunakan karena sifatnya yang mudah dimodifikasi.

Elektroda pasta karbon merupakan elektroda kerja yang terbuat dari serbuk karbon dengan perekatnya minyak parafin. Minyak parafin dipilih sebagai perekat karena sifatnya inert dan stabil (Yulianto dan Setiarso, 2014).

Proses pembuatan elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon (EPKA) dilakukan dengan menyiapkan kabel tembaga sepanjang 10 cm. Kabel dikupas ujung atas bagian isolatornya sepanjang 1 cm dan ujung bawahnya 0,5 cm. Bagian konduktor yang nampak dari kabel diampelas hingga mengkilat. Pada ujung bawah bagian konduktor diberi penutup berupa sedotan plastik sebagai wadah pasta karbon yang membantu agar pasta tidak mudah *release*.

Untuk komposisi EPKA, pasta karbon: minyak parafin: antrakuinon dibuat 4 macam, yaitu sejumlah 3:2:5; 3:3:4; 3:4:3; dan 3:5:2. Dalam hal ini, jumlah serbuk karbon dibuat tetap sementara minyak parafin dan antrakuinon dimanipulasi.

Hasil pengukuran dengan EPKA secara voltametri siklik setelah diinput dalam aplikasi Origin adalah sebagai berikut (Gambar 1). EPKA dengan komposisi 3:3:4 menunjukkan adanya puncak oksidasi yang paling baik di antara EPKA komposisi lainnya (Tabel 1). Pemilihan komposisi EPKA yang baik adalah yang dapat menunjukkan puncak oksidasi dan reduksi dengan baik. Dalam hal ini EPKA komposisi 3:3:4 adalah EPKA yang terbaik dengan jumlah antrakuinon yang lebih banyak daripada minyak parafin. EPKA komposisi 3:3:4 selanjutnya akan digunakan dalam pengukuran berikutnya.



Gambar 1. Voltamogram pengukuran nikotin 2,0 mM dalam buffer fosfat pH 8 untuk penentuan komposisi EPKA terbaik.

Tabel 1. Arus puncak dan potensial dari pengujian komposisi EPKA terbaik

Komposisi	Ipa (A)	Epa (V)
3:2:5	0,00086717	0,11871
3:3:4	0,00104170	-0,36331
3:4:3	0,00046731	-0,45853
3:5:2	0,00089647	-0,30975

Dari tabel 1, dapat diketahui bahwa EPKA dengan komposisi 3:3:4 menunjukkan adanya puncak oksidasi yang paling baik di antara EPKA komposisi lainnya. Pemilihan komposisi EPKA yang baik adalah yang dapat menunjukkan puncak oksidasi dan reduksi dengan baik. Dalam hal ini EPKA komposisi 3:3:4 adalah EPKA yang terbaik dengan jumlah antrakuinon yang lebih banyak daripada minyak parafin. EPKA komposisi 3:3:4 selanjutnya akan digunakan dalam pengukuran berikutnya.

Penentuan pH Optimum

Pada pengukuran analit secara voltametri, pH berpengaruh di dalam reaksi yang terjadi (Skoog, 1996). Nikotin yang teroksidasi pada permukaan elektroda melibatkan ion hidrogen akan mengubah pH larutan. Perubahan pH larutan yang drastis dapat mempengaruhi potensial reduksi reaksi.

pH optimum merupakan keadaan di mana suatu analit yang pada instrumen voltametri menunjukkan puncak arus tertinggi. Dari prosedur sebelumnya menentukan komposisi EPKA terbaik, EPKA yang terpilih (komposisi 3:3:4) digunakan sebagai elektroda kerja. Sel voltametri diisi 2,5 mL nikotin 2,0 mM ditambah 10 mL KCl 100 mM dan 10 mL buffer fosfat pH 8, 9, 10, 11, dan 12. Pemilihan manipulasi pH ini berdasarkan pKa nikotin yang bernilai basa (Švorc *et al.*, 2013; Tadesse *et al.*, 2015]. Hasil pengukuran menggunakan metode voltametri siklik setelah diinput dalam aplikasi Origin adalah sebagai berikut.

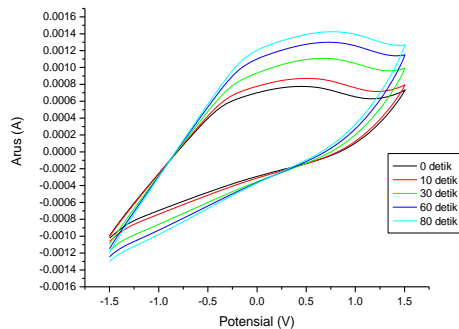
Voltamogram pada Gambar 4 menunjukkan bahwa untuk semua kondisi pH buffer fosfat, nikotin mengalami oksidasi yang ditandai dengan munculnya puncak pada anoda. Nikotin teroksidasi menjadi 3-(1-hidroksil-2-pirolidinil) piridin dan metanol (Kassa *et al.*, 2013). Oksidasi nikotin menghasilkan elektron yang akan ditransfer oleh antrakuinon sehingga memunculkan arus puncak.

Hasil voltamogram menunjukkan kenaikan arus puncak berbanding lurus dengan kenaikan pH. Pada pH 9, arus puncak mencapai puncak maksimumnya dalam arti arus puncak yang dihasilkan oleh pH 9-12 tidak jauh berbeda. Pada pH 12 arus puncak bahkan menurun dari pH sebelumnya. Oleh sebab itu, pH 9 dipilih menjadi pH optimum untuk pengukuran selanjutnya.

Penentuan Waktu Deposisi Terbaik

Waktu deposisi atau dapat disebut dengan waktu prakonsentrasi merupakan waktu yang dibutuhkan untuk mengendapkan analit pada permukaan elektroda (Yulianto dan Setiarso, 2014). Pengaruh waktu deposisi diamati dengan

pengukuran larutan nikotin 2,0 mM dalam larutan KCl 100 mM dan buffer fosfat pH 9. Pengukuran dilakukan pada potensial -1,5 V sampai +1,5 V dengan waktu deposisi 0, 10, 20, 40, 80 detik dan laju pindai 0,05 V/detik



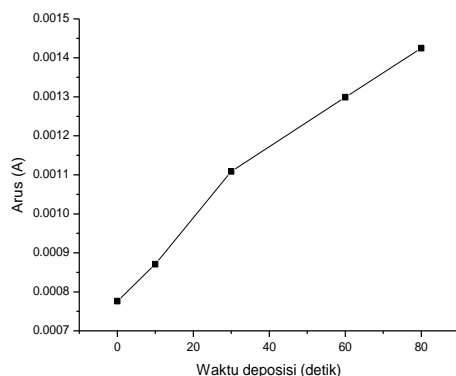
Gambar 3. Voltamogram pengukuran nikotin 2,0 mM dalam buffer fosfat pH 9 dan KCl 100 mM dengan waktu deposisi 0, 10, 30, 60, dan 80 detik.

Voltamogram pada Gambar 3 menghasilkan arus puncak pada potensial tertentu seperti yang tercantum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Arus puncak dan potensial dari pengujian waktu deposisi terbaik

Waktu Deposisi (detik)	Ipa (mA)	Epa (V)
0	0,77592	0,44601
10	0,87083	0,49957
30	1,10890	0,66620
60	1,29930	0,72571
80	1,42470	0,76141

Dari hasil voltamogram menunjukkan bahwa semakin lama waktu deposisi maka ion nikotin yang akan teradsorpsi oleh antrakuinon membentuk kompleks pada permukaan elektroda semakin banyak. Jika ditarik garis hubungan antara waktu deposisi dengan arus puncak akan terlihat seperti pada Gambar 4.

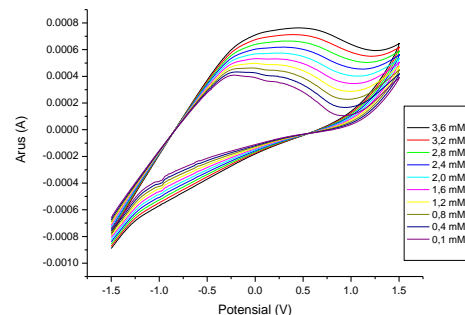


Gambar 4. Grafik hubungan waktu deposisi 0, 10, 30, 60, dan 80 detik terhadap arus puncak.

Pada Gambar 5, waktu deposisi 0-30 detik mengalami kenaikan arus puncak yang cukup tajam namun saat waktu deposisi ditambah hingga mencapai 60-80 kenaikan arus puncak tidak setajam sebelumnya. Hal ini dikarenakan pada kondisi pengukuran 60-80 permukaan elektroda telah jenuh sehingga penyerapan ion logam sudah tidak optimal. Gambar 5 menunjukkan bahwa kenaikan arus puncak anodik (Ipa) tertinggi dicapai pada waktu deposisi 30 detik sehingga waktu deposisi 30 detik dipakai untuk pengukuran selanjutnya.

Penentuan konsentrasi nikotin dalam rokok

Penentuan sampel nikotin dalam rokok dilakukan dengan metode kalibrasi standar. Larutan standar yang telah disiapkan sebelumnya dengan konsentrasi 3,6; 3,2; 2,8; 2,4; 2,0; 1,6; 1,2; 0,8; 0,4; dan 0,1 mM, masing-masing sebanyak 2,5 mL dalam 10 mL buffer fosfat dan 10 mL KCl konsentrasi 50-100 kali analit, diukur pada potensial -1,5 V hingga +1,5 V dengan waktu deposisi 30 detik dan laju pindai 70 mV/detik secara voltametri siklik. Hasil pengukuran ditunjukkan oleh voltamogram pada gambar 5 dan tabel 5.

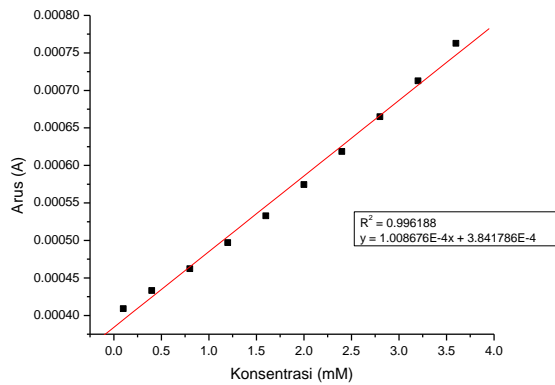


Gambar 5. Voltamogram pengukuran nikotin standar berbagai konsentrasi dalam buffer fosfat pH 9 dan KCl dengan waktu deposisi 30 detik dan laju pindai 70 mV/detik.

Tabel 5. Arus puncak dan potensial dari pengujian waktu deposisi terbaik

Konsentrasi (mM)	Ipa (mA)	Epa (V)
3,6	0,763	0,44601
3,2	0,713	0,39246
2,8	0,665	0,33295
2,4	0,619	0,29724
2,0	0,574	0,22583
1,6	0,533	0,017548
1,2	0,497	-0,01221
0,8	0,462	-0,04791
0,4	0,433	-0,19073
0,1	0,409	-0,21454

Dari tabel 5 dapat ditarik garis linier hubungan antara konsentrasi dengan arus puncak anodik yang muncul (Gambar 6).



Gambar 6. Voltamogram Grafik hubungan antara konsentrasi standar nikotin 0,1-3,6 mM terhadap arus puncak anodik (I_{pa}).

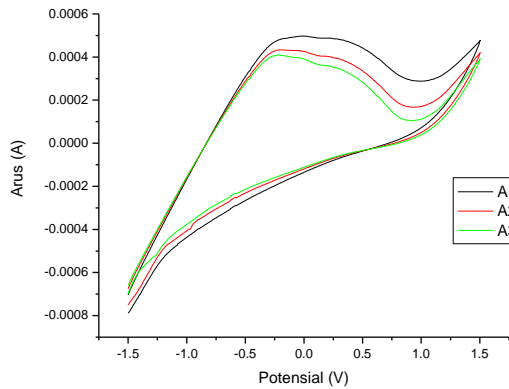
Grafik hubungan antara konsentrasi standar nikotin dengan arus puncak pada gambar 10 menghasilkan sebuah persamaan 1,

$$y = 1,008676 \cdot 10^{-4}x + 3,841786 \cdot 10^{-4}$$

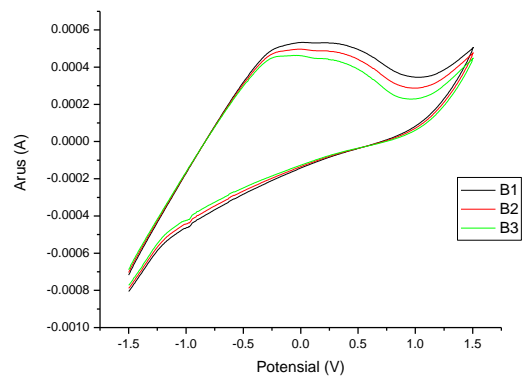
Persamaan 1 selanjutnya akan digunakan dalam penentuan konsentrasi sampel nikotin pada rokok. Penentuan konsentrasi sampel nikotin dilakukan dengan mengukur 50 mikroliter filtrat sampel A, B, dan C dalam 10 mL buffer fosfat pH 9 dan 10 mL KCl 100 mM pada potensial -1,5 V hingga +1,5 V, waktu deposisi 30 detik dan laju pindai 70 mV/detik. Hasil voltamogram pengukuran sampel nikotin dalam rokok ditunjukkan pada gambar 7.

Persamaan 1 selanjutnya akan digunakan dalam penentuan konsentrasi sampel nikotin pada rokok. Penentuan konsentrasi sampel nikotin dilakukan dengan mengukur 50 mikroliter filtrat sampel A, B, dan C dalam 10 mL buffer fosfat pH 9 dan 10 mL KCl 100 mM pada potensial -1,5 V hingga +1,5 V, waktu deposisi 30 detik dan laju pindai 70 mV/detik. Hasil voltamogram pengukuran sampel nikotin dalam rokok ditunjukkan pada gambar 7.

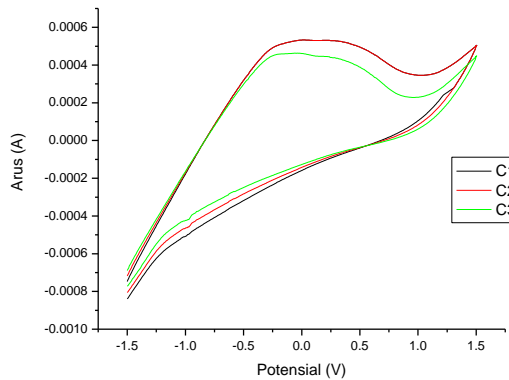
Rokok A



Rokok B



Rokok C



Gambar 7. Voltamogram pengukuran sampel nikotin dalam rokok A, B, C ditambah buffer fosfat pH 9 dan KCl dengan waktu deposisi 30 detik dan laju pindai 70 mV/detik.

Voltamogram pada gambar 7 merupakan hasil pengukuran sampel nikotin dalam rokok secara voltametri siklik pada keadaan optimum. Pengukuran sampel masing-masing dilakukan tiga kali pengulangan. Arus puncak anodik (Ipa) yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi nikotin dalam rokok dengan memasukkannya dalam persamaan linier dari kurva standar (persamaan 1).

Tabel 7. Perbandingan konsentrasi nikotin (mM) dalam rokok terukur voltametri dan pengukuran secara HPLC.

Rokok	[Nikotin] (mM) *	[Nikotin] secara HPLC (mM)
A	0,620762	0,620762
B	1,123335	1,123335
C	1,241245	1,241245

Keterangan: * pengulangan 3 kali

Dari tabel 7 diketahui kandungan nikotin dalam rokok yang terukur secara berurutan adalah 0,503, 1,22, dan 1,24 mM yang mana jika dibandingkan dengan kandungan nikotin yang diukur secara voltametri, hasilnya memiliki selisih rata-rata 0,074 mM. Hal tersebut menunjukkan bahwa elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon dapat digunakan untuk mengidentifikasi nikotin dalam rokok karena memiliki selektivitas yang baik dibuktikan dengan perbandingan pengukuran secara HPLC.

SIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah perbandingan komposisi elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon terbaik adalah karbon: minyak parafin: antrakuinon = 3:3:4. pH optimum untuk identifikasi nikotin dengan metode voltametri siklik adalah pH 9. Waktu deposisi terbaik selama 30 detik.

Konsentrasi nikotin dalam rokok komersial A, B, C diukur secara voltametri dengan elektroda pasta karbon termodifikasi antrakuinon adalah 0,6207; 1,1233; 1,2412 mM. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan konsentrasi nikotin dari hasil pengukuran secara HPLC dengan selisih rata-rata 0,074 mM.

DAFTAR PUSTAKA

- Henningfield JE, London, ED., Pogun, Sakire, 2009. *Nicotine Psychopharmacology*. Berlin: Springer.
- Iwai M, Ogawa, Tadashi, Hattori, Hideki, Zaitso, Kei, Ishii, Akira, Suzuki, Osamu, dan Seno, Hiroshi, 2013. Simple and Rapid Assay Method for Simultaneous Quantification of Urinary Nicotine and Cotinine Using Micro-Extraction by Packed Sorbent and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Nagoya Journal of Medical Sciences*, 75: 255-261.
- Jan MR, Shah, Jasmin, Shah, Abidullah, dan Gul, Fahmida, 1997. Separation Identification and Determination of Nicotinic Acids and Nicotinamide in Cigarette Tobacco and Smoke (Part-I). *Journal Chemistry Soc. Pak*, 19 (4): 306-309.
- Kassa H, Geto, Alemnew dan Admassie, Shimelis, 2013. Voltammetric Determination of Nicotine in Cigarette Tobacco at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode. *Buletin. Chem. Soc. Ethiop*, 3 (27): 321-328.
- Kounaves, S.P, 1997. *Voltammetric Techniques in Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. F.A. Settle (Ed.) Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, NJ.
- Massadeh, Adnan M, Gharaibeh, Ahmad A, dan Omari, Khaled W, 2009. A Single-Step Extraction Method for the Determination of Nicotine and Cotinine in Jordanian Smokers' Blood and Urine Samples by RP-HPLC and GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 47: 170-177.
- Pendergrass, Stephanie M dan Larry B. Jaycox, 1988. *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)*. Fourth Edition. Issue (1) 1-4.
- Skoog DA, 1996. *Fundamental of Analytical Chemistry 7th Edition*. USA: Saunders College Publishing.
- Švorc, Lubomír, Stanković, Dalibor M. dan Kalcher, Kurt, 2013. Boron-doped diamond electrochemical sensor for sensitive determination of nicotine in tobacco products and anti-smoking pharmaceuticals. *Journal of Diamond and Related Materials*, 42: 1 - 7.
- Tadesse, Abrha, Pal, Rishi, Tadesse, Abraha, Woldu, Amaha, Saini, Ram Chander, 2015. An Electrochemical Study on Nicotine Behavior at Anthraquinone-Carbon Paste Sensor and Its Estimation in Cigarette Tobacco Samples Voltammetrically. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (10): 3079-3087.
- Tyrpień K, Dobosz C, Chróściewicz A, Ciołtecka M, Wielkoszyński T, Janoszka B, dan Bodze, D, 2003. Investigation of Nicotine Transformation Products by Densitometric TLC and GC-MS. *Acta Chromatographica*, (13): 154-160.
- World Health Organization, 2010. WHO Report on The Global Tobacco Epidemic, 2010: the MPOWER package. WHO, Geneva.
- Xiong, Huayu, Zhao, Yunfei, Liu, Peng, Zhang, Xiuhua, Wang, Shengfu, 2009. Electrochemical properties and the determination of nicotine at a multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Microchim Acta*, (168): 31-36.
- Yulianto, Eko dan Setiarso, Pirim, 2014. Pembuatan Elektroda Pasta Karbon Termodifikasi Kitosan untuk Analisis Cr (VI) secara *Cyclic Stripping Voltammetry*. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*: 13 - 26.