

# Buku Petunjuk Praktikum Analisis Farmasi Instrumental



---

TAHUN 2022

Endah Widhihastuti, M. Sc., Apt

Mohammad Alauhdin, S. Si., M. Si., Ph. D.

LABORATORIUM KIMIA ANALISIS  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG  
TAHUN 2022

## DAFTAR ISI

Materi 1. Pengenalan Laboratorium Dan Pembuatan Larutan.....	1
A. Tujuan .....	1
B. Bahan Kimia .....	1
C. Bekerja Dengan Bahan Kimia .....	1
D. Lambang Bahan Kimia .....	3
E. Peralatan Laboratorium Kimia .....	5
Materi 2. Pembuatan Larutan.....	17
A. Tujuan .....	17
B. Dasar Teori.....	17
C. Prosedur Percobaan.....	20
Materi 3. Penetapan Kadar Parasetamol Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv.....	21
A. Tujuan: .....	21
B. Dasar Teori.....	21
C. Prosedur Percobaan.....	25
Materi 4. Penetapan Kadar Kalsium Dalam Sediaan Tablet Multivitamin Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.....	27
A. Tujuan: .....	27
B. Dasar Teori.....	27
C. Kasus .....	33
D. Alat Dan Bahan.....	33
E. Metode Penelitian .....	34
Materi 5. Penentuan Kadar Parasetamol Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) .....	35
A. Tujuan .....	35
B. Dasar Teori.....	35
C. Prosedur Percobaan.....	40
Materi 6. Penentuan Kadar Besi Dalam Tablet Penambah Darah Dengan Spektrofotometri Serapan Atom.....	43
A. Tujuan .....	43
B. Dasar Teori.....	43
C. Prosedur Percobaan.....	45
Materi 7. Penetapan Kadar Kloramfenikol Dalam Sediaan Kapsul Secara Spektrofotometri Fourier Transform Infra Red (Ftir) .....	47
A. Tujuan Praktikum .....	47
B. Dasar Teori.....	47
C. Alat Dan Bahan.....	55
D. Prosedur Penelitian .....	56
Materi 8. Penentuan Kadar Alkohol Dalam Sediaan Hand Sanitizer Dengan Menggunakan Kromatografi Gas.....	58
A. Tujuan .....	58
B. Dasar Teori.....	58
C. Metode .....	61

# KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Buku Petunjuk Praktikum Analisis Farmasi Instrumen ini dapat hadir ke hadapan pembaca. Buku ini berisi petunjuk teknis dalam pelaksanaan Praktikum Analisis Farmasi Instrumen. Diharapkan agar mahasiswa mampu mengikuti praktikum ini dengan baik.

Praktikum Analisis Farmasi Instrumen merupakan penunjang kemampuan dalam aspek ketrampilan teknis terhadap teori-teori yang disajikan dalam perkuliahan Analisis Farmasi Instrumen dan materi lain yang terkait. Buku petunjuk praktikum ini disusun dengan harapan untuk dapat menjadi panduan yang singkat dan mudah dipahami oleh mahasiswa dalam melaksanakan praktikum.

Materi yang disajikan dalam Praktikum Analisis Farmasi Instrumen ini diharapkan dapat membekali mahasiswa sebagai landasan pada bidang teknologi farmasi dan lebih lagi pada saat bekerja di lapangan. Sehingga diharapkan mahasiswa dapat mengaplikasikan ilmu yang didapat untuk mengembangkan teknologi farmasi khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Buku petunjuk praktikum ini bukanlah tuntunan yang baku dan final sehingga masih perlu penyempurnaan dan harus menyesuaikan dengan perkembangan di lapangan. Penyusun akan senantiasa mengevaluasi materi praktikum untuk mendukung pembekalan mahasiswa yang lebih baik. Semoga buku ini dapat bermanfaat dan mencapai sasaran serta tujuan penyusunnya.

Semarang, Agustus 2022

Penyusun

# TATA TERTIB PRAKTIKUM ANALISIS FARMASI INSTRUMENTAL

1. Kehadiran
  - a. Praktikan wajib datang 10 menit sebelum praktikum dimulai. Praktikan yang terlambat lebih dari 10 menit tanpa izin, tidak diperkenankan mengikuti pretest, dan bila terlambat lebih dari 20 menit dengan alasan apapun, tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
  - b. Praktikan wajib hadir sesuai jadwal praktikum, apabila terpaksa tidak dapat hadir harus memberi surat keterangan yang sah
  - c. Sebelum pelaksanaan praktikum, Praktikan wajib mempersiapkan alat dan bahan praktikum sesuai jadwal yang ditentukan
2. Pelaksanaan praktikum
  - a. Praktikan wajib memakai jas praktikum dan membawa kain lap selama bekerja di laboratorium. Praktikan yang tidak memakai jas praktikum tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
  - b. Praktikan wajib mempelajari petunjuk praktikum dan membuat buku laporan Sementara yang berisi:
    - A. Tujuan
    - B. Dasar Teori
    - C. Alat dan bahan
    - D. Cara kerja (skematik/ diagram alir)
    - E. Format Data percobaan dan perhitungan (jika ada)
    - F. Persiapan Teoritik (Bila ada)
  - c. Sebelum pelaksanaan praktikum, Praktikan melaksanakan pretes untuk mata acara yang akan dipraktikumkan. Tes ini dinilai.
  - d. Praktikan yang kurang mengetahui cara menggunakan peralatan, diharap menghubungi asisten sebelum melakukan praktikum.
  - e. Praktikan wajib mengganti alat yang dirusakkannya paling lambat sebelum seluruh pelaksanaan praktikum berakhir.
3. Pengamatan praktikum
  - a. Semua pengamatan harus dicatat dalam lembar data pengamatan sesuai dengan buku petunjuk praktikum
  - b. Semua data pengamatan harus disahkan oleh asisten/ dosen
4. Laporan Praktikum
  - a. Setiap percobaan yang dilakukan harus dibuat laporannya pada kertas HVS dengan cover kertas ber-kop HIMA Kimia.
  - b. Susunan laporan meliputi:
    - A. Tujuan
    - B. Dasar Teori
    - C. Alat dan bahan
    - D. Cara kerja (skematik/ diagram alir)
    - E. Data percobaan dan perhitungan (jika ada)

- F. Pembahasan
  - G. Kesimpulan
  - H. Daftar Pustaka
  - I. Jawaban pertanyaan (jika ada)
- c. Laporan harus diserahkan sebelum melakukan praktikum berikutnya. Bila belum menyerahkan laporan tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
5. Praktikum Khusus
- a. Praktikum khusus diadakan bagi Praktikan yang dibatalkan secara resmi, yaitu Praktikan yang berhalangan hadir dengan surat keterangan yang sah atau Praktikan yang tidak diizinkan melakukan praktikum karena sesuatu hal.
  - b. Praktikan yang akan melakukan praktikum khusus wajib menghubungi dosen/ asisten seminggu sebelumnya.
6. Mahasiswa yang tidak mengikuti praktikum dengan alasan sakit/kondisi mendesak WAJIB menulis surat ijin yang ditujukan kepada dosen yang DIBERI LAMPIRAN dengan surat keterangan dokter (jika ijin sakit), atau surat keterangan terkait
7. Mahasiswa yang tidak mengikuti praktikum dengan alasan yang tidak jelas dan tidak meminta ijin kepada dosen maka akan diberikan nilai 0 pada praktikum tersebut dan tidak diperbolehkan untuk inhal
8. Kecuali dengan alasan yang sangat kuat, mahasiswa hanya diperbolehkan inhal sebanyak-banyaknya dua mata praktikum. Bila inhal lebih dari itu, mahasiswa dinyatakan gagal mengikuti praktikum.
9. Peraturan lain yang belum tercantum dapat ditambahkan sesuai kesepakatan dosen dan praktikan.

# MATERI 1. PENGENALAN LABORATORIUM DAN PEMBUATAN LARUTAN

## A. TUJUAN

1. Mahasiswa mengetahui sifat bahan-bahan kimia yang akan digunakan dengan baik
2. Mahasiswa mengetahui fungsi dan cara pemakaian peralatan laboratorium dengan baik

## B. BAHAN KIMIA

Sebelum mulai bekerja di laboratorium kimia maka pengetahuan tentang jenis-jenis bahan kimia harus dikuasai. Sifat – sifat bahan kimia dapat diketahui dari Material Safety Data Sheet (MSDS). Bahan-bahan kimia memiliki sifat yang beragam dari yang bersifat mudah terbakar, beracun, mengiritasi, korosif, dan dapat merusak lingkungan.

Bahan kimia dibedakan menjadi 3 jenis:

1. padat
2. cair
3. gas

Bahan kimia juga dapat dibedakan berdasarkan kualitasnya, yaitu:

1. teknis
2. special grade : pro analyses (p.a)
3. special grade : material references (bahan pembanding)

## C. BEKERJA DENGAN BAHAN KIMIA

Hal-hal yang harus diperhatikan bila bekerja dengan bahan kimia :

- Hindari kontak langsung dengan bahan kimia
- Hindari menghirup langsung uap bahan kimia
- Jangan mencicipi atau mencium bahan kimia kecuali ada perintah khusus (cukup dengan mengibaskan kearah hidung )
- Hati-hati kontak dengan bahan kimia karena dapat bereaksi langsung dengan kulit menimbulkan iritasi (pedih dan gatal)

### 1. Pemindahan dan pengambilan bahan kimia

Untuk memindahkan atau mengambil bahan kimia perlu diperhatikan hal-hal berikut ini :

- a. Baca label bahan dengan seksama untuk menghindari kesalahan pengambilan bahan karena ada beberapa bahan yang mempunyai nama hampir sama misalnya antara asam sitrat dan asam nitrat.
- b. Pindahkan sesuai jumlah yang diperlukan
- c. Bila ada sisa bahan saat pengambilan, jangan dikembalikan ke dalam wadahnya kembali karena bisa mengkontaminasi.

Bahan kimia dapat berupa bahan padat maupun cair, sehingga penanganan kedua bahan tersebut akan berbeda. Pada saat pengambilan bahan kimia perlu diperhatikan hal-hal berikut ini :

- a. Bahan cair :
  - 1) Tutup botol dibuka dengan cara dipegang dengan jari tangan dan sekaligus telapak tangan memegang botol tersebut, gunakan satu tangan. Tutup botol jangan diletakkan di atas meja karena kotoran di atas meja bisa mengotori tutup botol sehingga dapat mencemari bahan kimia.
  - 2) Dengan satu tangan yang lain ambil bahan sesuai kebutuhan, gunakan alat yang memudahkan pekerjaan seperti pipet volume.
  - 3) Pindahkan cairan menggunakan bantuan batang pengaduk untuk menghindari percikan.
- b. Bahan padat :
  - 1) Gunakan sendok sungu atau alat lain yang sesuai, bukan berasal dari logam.
  - 2) Ambil secukupnya sesuai kebutuhan. Jangan mengeluarkan bahan kimia secara berlebihan.
  - 3) Satu sendok untuk satu bahan, jangan mencampurkan sendok untuk mengambil aneka bahan.

## **2. Pemanasan bahan kimia**

Pada saat bekerja di laboratorium kimia sering kali dilakukan pemanasan bahan. Pemanasan bisa dilakukan dengan tabung reaksi atau alat gelas kimia lain. Apabila melakukan pemanasan harus diperhatikan hal-hal berikut ini :

- a. Tabung reaksi
  - 1) Isi tabung reaksi sebagian saja, sekitar sepertiganya.
  - 2) Api pemanas terletak pada bagian bawah larutan.
  - 3) Goyangkan tabung reaksi agar pemanasan merata. Arah mulut tabung reaksi pada tempat yang kosong agar percikannya tidak mengenai orang lain.
- b. Gelas kimia

- 1) Gunakan kaki tiga sebagai penopang gelas kimia tersebut.
- 2) Letakkan batang gelas atau batu didih pada gelas kimia untuk menghindari pemanasan mendadak.
- 3) Jika gelas kimia tersebut berfungsi sebagai penangas air, isikan air seperempatnya saja supaya tidak tumpah.

#### **D. LAMBANG BAHAN KIMIA**

Demi keselamatan kerja di laboratorium perlu dipahami simbol yang menyertai setiap bahan kimia yang terdapat pada wadahnya. Simbol – simbol tersebut diperlukan untuk mengetahui sifat bahan sehingga memudahkan penanganannya. Berikut ini beberapa simbol yang umum kita jumpai pada wadah bahan kimia :



**Nama : Flammable (mudah terbakar)**

Lambang : F

simbol untuk bahan kimia yang mempunyai titik nyala rendah, mudah terbakar dengan api bunsen, permukaan metal panas atau loncatan bunga api.

Penanganan : Jauhkan dari benda-benda yang berpotensi mengeluarkan api.

Contoh : Minyak terpentin.



**Nama : Toxic (beracun)**

Lambang : T

Bahan yang bersifat beracun yang dapat menyebabkan kematian atau sakit yang serius bila terhirup, tertelan, atau terabsorpsi melalui kulit.

Penanganan : Jangan ditelan dan jangan dihirup, hindari kontak langsung dengan kulit.

Contoh : Metanol, Benzena.



**Nama : harmful (berbahaya)**

Lambang : Xn

Bahan yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan apabila terhirup, tertelan, atau kontak dengan kulit.

Penanganan : Jangan dihirup, jangan ditelan dan hindari kontak langsung dengan kulit.

Contoh : Etilen glikol, Diklorometan.



**Nama : explosive (mudah meledak)**

Lambang : E

Bahan kimia yang mudah meledak dengan adanya panas atau percikan bunga api, gesekan atau benturan.

Penanganan : Hindari pukulan/benturan, gesekan, pemanasan, api dan sumber nyala lain bahkan tanpa oksigen atmosferik.

Contoh :  $KClO_3$ ,  $NH_4NO_3$ , Trinitro Toluena (TNT).



**Nama : irritant (mudah mengiritasi)**

Lambang : I

Bahan yang dapat menyebabkan gatal-gatal, iritasi atau kulit terbakar.

Penanganan : hindarkan kontak langsung dengan kulit

Contoh :  $NaOH$ ,  $C_6H_5OH$ ,  $Cl_2$



**Nama : Corrosive (korosif)**

Lambang : C

Produk ini dapat merusak jaringan hidup, menyebabkan iritasi pada kulit, gatal-gatal bahkan dapat menyebabkan kulit mengelupas.

Penanganan : Jangan sampai terpercik pada Mata Contoh :  $HCl$ ,  $H_2SO_4$ ,  $NaOH (>2\%)$



**Nama : Oxidizing (pengoksidasi)**

Lambang : O

Bahan kimia bersifat pengoksidasi, dapat menyebabkan kebakaran dengan menghasilkan panas saat kontak dengan bahan organik dan bahan pereduksi.

Penanganan : Hindarkan dari panas dan reduktor. Contoh :  $H_2O_2$ ,  $KClO_4$



**Nama : Dangerous For the Environment (berbahaya bagi lingkungan)**

Lambang : N

Bahan kimia yang berbahaya bagi lingkungan yang dapat menyebabkan kerusakan ekosistem.

Penanganan : Hindari kontak atau bercampur dengan lingkungan yang dapat membahayakan makhluk hidup.

Contoh : Tributil timah klorida, Tetraklorometan, Petroleum bensin

## E. PERALATAN LABORATORIUM KIMIA

Peralatan laboratorium kimia sebagian besar terbuat dari gelas, gelas dipilih sebagai bahan pembuatan peralatan karena mempunyai sifat-sifat yang menguntungkan. Sifat-sifat gelas yang menguntungkan antara lain : tembus cahaya atau tembus pandang (opaque), kaku (rigid), tidak mudah bereaksi dengan bahan kimia, memiliki titik didih tinggi sehingga tidak mudah meleleh, terutama pada pemanasan biasa dibawah  $100^{\circ}C$ , dan mudah dilas jika retak dan pecah.

### 1. Pengenalan Alat Praktikum Non Ukur

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
1.	Tabung reaksi	Digunakan untuk mereaksikan zat,

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		<p>dapat dipanaskan pada nyala api oksidasi. untuk tabung reaksi dengan gelas bukan borosilikat bersifat tidak tahan panas. Kapasitas yang tersedia 5 ml, 10 ml, 14 ml, 16 ml, 19 ml, 31 ml, 55 ml, 75 ml.</p>
2.	<p data-bbox="428 667 695 701">Tabung Centrifuge</p> 	<p>Tabung sentrifugal mempunyai bentuk tabung yang salah satu ujungnya menyerupai kerucut. Tabung sentrifugal biasanya terbuat dari gelas walaupun ada juga yang terbuat dari bahan plastik atau kimia. Tabung ini digunakan untuk tempat bahan yang diendapkan dengan alat sentrifuge.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tabung sentrifugal dengan skala</li> <li>➤ Tabung sentrifugal tanpa skala</li> <li>➤ Tabung sentrifugal dengan penutup ulir atau skrup</li> </ul>

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
3.	<p data-bbox="521 243 602 285">Buret</p> 	<p data-bbox="821 243 1354 1125">Buret adalah alat laboratorium dari bahan gelas berbentuk silinder yang memiliki garis ukur dan sumbat keran pada bagian bawahnya. Buret digunakan dalam percobaan yang memerlukan presisi seperti pada eksperimen titrasi dengan cara meneteskan sejumlah reagen cairan ke dalam obyek dalam wadah gelas di bawahnya. Pembacaan skala harus dilakukan secara seksama pada permukaan meniskus zat cair. Ukuran skala Buret : Buret Makro (50 ml), Buret semi makro (25 ml) dan buret Mikro (10 ml)</p>
4.	<p data-bbox="505 1209 613 1251">Corong</p> 	<p data-bbox="821 1209 1354 1545">Corong adalah alat laboratorium berbentuk kerucut dan terdapat bagian seperti tabung yang sempit. Corong digunakan untuk memindahkan larutan dan atau menyaring yang biasanya menggunakan kertas saring.</p>
5.	<p data-bbox="440 1661 686 1766">Corong Buchner (Buchner Funnel)</p>	<p data-bbox="821 1661 1354 1881">Corong Buchner adalah alat laboratorium yang terbuat dari porselen, gelas atau plastik yang digunakan untuk penyaringan vakum.</p>

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		<p>Pada bagian atas terdapat sebuah silinder dengan dasar yang berpori. Corong buchner digunakan untuk menyaring dengan dipasangkan pada labu penyaring dan pompa penghisap (vacum pump). Keuntungan menyaring dengan menggunakan corong buchner adalah lebih cepat jika dibandingkan dengan penyaring menggunakan corong piala</p>
6.	<p>Corong Pisah (Separating funnel)</p> 	<p>Corong pisah adalah peralatan laboratorium dari gelas yang digunakan dalam proses pemisahan cairan dari dua fase yang tidak dapat bercampur. larutan yang akan dipisahkan digojok terlebih dahulu kemudian didiamkan beberapa saat sampai masing-masing larutan terpisah. Larutan dengan masa jauh lebih kecil akan berada diatas sedangkan massa jenis lebih besar akan berada dibawah. Larutan yang ada dibawah dikeluarkan hati-hati.</p>
7.	<p>Pipet Tetes</p>	<p>Terbuat dari gelas dilengkapi karet digunakan untuk mengambil larutan</p>

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		<p>dalam jumlah kecil ( tetes )</p>
8.	<p>Batang Pengaduk</p> 	<p>Terbuat dari gelas, digunakan untuk mengaduk larutan atau untuk membantu memindahkan larutan dari satu wadah ke dalam wadah lain.</p>
9.	<p>Desikator/Eksikator</p> 	<p>Seperti panci bersusun, dengan pembatas dibagian tengah. Bagian bawah berisi silica gel sebagai pengering. Digunakan untuk pengeringan bahan kimia. Pada penutupnya dilapisi dengan vaselin untuk menjaga tetap kedap udara.</p> <p>Ada 2 macam desikator : desikator biasa dan vakum. Desikator vakum pada bagian tutupnya ada katup yang bisa dibuka tutup, yang dihubungkan dengan selang ke pompa</p>
10.	<p>Beaker glass/Gelas Piala</p>	<p>Terbuat dari gelas umumnya terbuat dari bahan borosilikat dengan skala pada dindingnya, digunakan untuk menuang, membuat dan mendidihkan</p>

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		<p>larutan. Dapat digunakan juga untuk mengukur volume larutan yang tidak memerlukan tingkat</p>
<p><b>11.</b> Erlenmeyer (Erlenmeyer Flask/ Conical Flask)</p>		<p>Terbuat dari gelas borosilikat. Digunakan ditempat larutan yang dititrasi dalam analisis volumetri. Bentuk mirip beaker glass memiliki leher yang sempit, dengan keuntungan mengurangi penguapan zat cair dalam pemanasan dan menghindari tumpah ketika dalam proses pengadukan. Pada sisi luar terdapat skala yang menunjukkan perkiraan</p>
<p><b>12.</b> Gelas Arloji (Watch Glass)</p>		<p>Terbuat dari gelas sebagai penutup dan menimbang bahan kimia yang berwujud padat atau kristal.</p>
<p><b>13.</b> Labu ukur (Volumetric flask)</p>		<p>Terbuat dari bahan gelas biasa atau dari bahan borosilikat dengan volume sampai dengan 2 liter. Untuk membuat larutan dengan konsentrasi tertentu dan mengencerkan larutan</p>

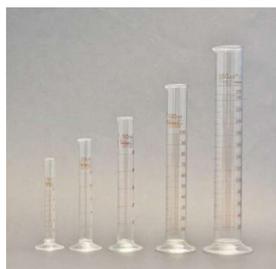
No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		<p>dengan akurasi yang</p>
14.	<p>Botol Timbang</p> 	<p>Botol timbang berfungsi untuk menentukan kadar air suatu zat. Selain itu digunakan untuk menyimpan bahan yang akan ditimbang terutama untuk bahan cair yang bersifat higroskopis. Saat menimbang zat cair yang bersifat mudah menguap botol timbang harus dalam kondisi tertutup agar tidak terjadi penguapan.</p>
15.	<p>Krus porselin (Porcellain Crucible)</p> 	<p>Berbentuk seperti lumpang kecil dan terbuat dari porselin. Fungsinya untuk menempatkan endapan yang akan dibakar pada oven sampai pada suhu 300°C.</p>
16.	<p>Piknometer</p> 	<p>Piknometer adalah alat yang berfungsi untuk mengukur nilai massa jenis atau densitas dari fluida.</p>

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
----	-----------------	-----------

## 2. Pengenalan Alat Praktikum Kimia Ukur

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
----	-----------------	-----------

### 1. Gelas Ukur



Terbuat dari bahan gelas biasa, tidak tahan pemanasan. Digunakan untuk mengukur volume cairan atau larutan. Jumlah volume berdasarkan pada volume didalamnya.

Kapasitas yang tersedia :

No	Kapasitas (ml)	Sub Skala (ml)	Toleransi +/- (ml)
1	5	0,1	0,1
2	10	0,2	0,2
3	25	0,5	0,5
4	50	1,0	1,0
5	100	1,0	1,0
6	250	2,0	2,0
7	500	5,0	5,0
8	1000	10,0	10,0
9	2000	20,0	20,0

### 2. Pipet Ukur

Terbuat dari bahan gelas biasa, kadang – kadang terbuat dari bahan borosilikat. Digunakan untuk mengukur cairan atau larutan. Jumlah volumenya berdasarkan volume yang

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
		dikeluarkan.

Kapasitas yang tersedia :

No	Kapasitas (ml)	Sub Skala (ml)	Toleransi +/- (ml)
1	0,1	0,01	0,01
2	0,2	0,01	0,01
3	0,5	0,02	0,01
4	1	0,1	0,01
5	2	0,1	0,02
6	5	0,1	0,05
7	10	0,1	0,1
8	25	0,2	0,2

3. Pipet Volume      Terbuat dari bahan gelas biasa kadang – kadang terbuat dari bahan borosilikat. Digunakan untuk mengukur volume tepat berdasarkan volume yang dikeluarkan.



Kapasitas yang tersedia :

No	Kapasitas (ml)	Sub Skala (ml)
1	1	0,015
2	2-4	0,02

No	Nama dan Gambar	Deskripsi	
	3	5	0,03
	4	10	0,04
	5	20	0,06
	6	25	0,08
	7	50	0,1
	8	100	0,160

4. Timbangan analitik

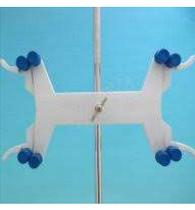


Fungsi dan jenis :

- Digunakan untuk menimbang padatan kimia
- Neraca analitis dengan tiga buah lengan ayun berskala
- Neraca analitis dengan tiga buah lengan ayun untuk masing-masing skala (10 g, 1 g, 0,01 g, dan 0,0001 g)
- Neraca analitis digital dengan penutup
- Neraca analitis digital model kompak

3. Alat Praktikum Non Gelas dan Alat Penunjang Praktikum

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
1.	Kawat kassa 	kawat yang dilapisi dengan asbes, digunakan sebagai alas dalam penyebaran panas yang berasal dari suatu pembakar

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
2	kaki tiga 	Besi yang menyangga ring dan digunakan untuk menahan kawat kasa dalam pemanasan.
3.	Pembakar spirtus 	Digunakan untuk memanaskan bahan baik berupa padat maupun cair.
4.	Klemp (clamp) buret 	Klem buret : terbuat dari besi atau baja untuk memegang buret yang digunakan untuk titrasi.
5.	Statif	Terbuat dari besi atau baja yang berfungsi untuk menegakkan buret, corong, corong pisah dan peralatan gelas lainnya pada saat digunakan.

No	Nama dan Gambar	Deskripsi
----	-----------------	-----------



6.	Pro Pipet (ball pipette)	
----	--------------------------	--



Digunakan untuk membantu mengambil larutan atau cairan bahan kimia ke dalam pipet. Pro-pipet berbentuk bola terbuat dari jenis karet. Pro-pipet yang terbuat dari plastik polipropelen dengan pipa penghisap yang dapat digerakkan dengan roda pada badannya.

7.	Water Bath	
----	------------	--



Fungsi utama water bath adalah untuk menciptakan suhu yang konstan dan digunakan untuk pemanasan, inkubasi dan penguapan.

## MATERI 2. PEMBUATAN LARUTAN

### A. TUJUAN

1. Mahasiswa dapat melakukan perhitungan untuk mempersiapkan pembuatan larutan dengan benar
2. Mahasiswa dapat membuat larutan dari padatan dan dari larutan yang pekat dengan benar
3. Mahasiswa mampu menentukan konsentrasi larutan dengan beberapa satuan

### B. DASAR TEORI

Reaksi kimia di alam dan di laboratorium kebanyakan berlangsung tidak dalam bentuk senyawa murni melainkan dalam bentuk larutan. Pada percobaan ini. Saudara akan membuat larutan dari larutan pekat (dengan pengenceran) dan padatan murni. Larutan yang akan anda buat harus bisa dinyatakan konsentrasinya dengan beberapa satuan. Saudara juga akan menentukan konsentrasi suatu larutan yang belum diketahui melalui titrasi dengan larutan baku yang sudah diketahui konsentrasinya.

Larutan adalah campuran homogen dimana setiap bagian dari larutan mempunyai komposisi yang sama. Larutan terdiri dari zat terlarut (solute) yang berada dalam jumlah yang lebih kecil dan pelarut (solvent) dalam jumlah yang lebih banyak. Larutan dibagi atas larutan gas, larutan cair (gas dalam cair, cair dalam cair dan padat dalam cair) dan larutan padat. Untuk larutan padat dalam cair, proses pelarutan dapat terjadi jika gaya tarikan antara molekul padatan dan cairan dapat mengimbangi gaya tarikan antar molekul padatan dan antar molekul cairan. Selama pelarutan molekul padatan ditarik keluar dari kristalnya oleh molekul cairan.

Kental atau encernya suatu larutan ditentukan oleh konsentrasi larutan tersebut. Konsentrasi suatu larutan adalah perbandingan jumlah zat terlarut dengan jumlah pelarut. Ada beberapa cara untuk menyatakan konsentrasi suatu larutan yaitu dengan molaritas (M), normalitas (N), molalitas (m), persen (%) berat atau volume, fraksimol, ppm dan ppb.

- a. **Molaritas (M):** menyatakan jumlah mol zat terlarut yang terdapat dalam satu liter larutan.

$$M = \text{mol zat terlarut} / \text{1L larutan}$$

Contoh:

Larutan HCl 0,6 M artinya terdapat 0,6 mol HCl dalam setiap liter larutan HCl. Larutan dapat dibuat dengan cara melarutkan 0,6 mol HCl dalam air sampai volume menjadi 1 liter.

- b. **Normalitas (N):** menyatakan jumlah molekivalen zat terlarut yang terdapat dalam satu liter larutan.

$$N = \text{mol ekivalen zat terlarut} / 1 \text{ L larutan}$$

Contoh:

Larutan 0,5 N  $\text{KMnO}_4$  adalah larutan yang mengandung 0,5 mol ekivalen  $\text{KMnO}_4$  dalam tiap liter larutan. Jumlah mol ekivalen tergantung pada suasana reaksi atau lebih tepatnya tergantung pada jumlah elektron yang ditransfer dalam proses pelarutan.

- c. **Molalitas (m):** menyatakan jumlah mol zat terlarut yang terdapat dalam 1000 g (1 Kg) pelarut.

$$m = \text{mol zat terlarut} / 1 \text{ Kg larutan}$$

Contoh:

Larutan NaOH 0,6 m adalah larutan yang mengandung 0,6 mol NaOH dalam satu Kg pelarut. Larutan dibuat dengan menambahkan 0,6 mol NaOH kedalam 1000 g air.

- d. **Persen berat (%b/b):** menyatakan jumlah gram zat terlarut dalam 100 g larutan.

Contoh:

Larutan NaOH 5%, artinya terdapat 5 gram NaOH dalam 100 gram larutan, dengan kata lain 5 gram NaOH, 95 gram air.

- e. **Persen volume (%v/v):** menyatakan jumlah mL zat terlarut dalam 100 mL larutan.

Contoh:

Larutan alkohol 70% adalah larutan yang mengandung 70 mL alkohol dalam 100 mL larutan (70 mL alcohol dengan 30 mL air).

Larutan dibuat dengan menambahkan 70 mL alkohol kedalam air sampai volumenya 100 mL (30 mL air).

- f. **Persen berat per volume (% b/v):** menyatakan jumlah gram zat terlarut dalam 100 mL larutan.

Contoh:

Larutan gula 10% adalah larutan yang mengandung 10 gram gula dalam 100 mL larutan.

Larutan dibuat dengan melarutkan 10 gram gula kedalam air sampai volumenya 100 mL.

Larutan dapat dibuat dari zat yang berfase cair maupun padat. Apabila dibuat dari zat yang berfase cair maka disebut dengan **pengenceran**, sedangkan apabila zat asalnya berfase padat maka prosesnya disebut **pelarutan**.

Pada pembuatan larutan melalui pengenceran, konsentrasi (molaritas) dan volume larutan yang akan dibuat tentukan terlebih dahulu. Konsentrasi larutan pekat/stok juga harus diketahui. Selanjutnya, volume larutan awal ( $V_1$ ) yang dibutuhkan untuk pengenceran dihitung dengan rumus pengenceran:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Contoh, larutan standar HCl 0,1 M sebanyak 500 mL akan dibuat dari larutan HCl pekat dengan kadar 37 %b/b dan kerapatan 1,2 g/mL. Massa molar HCl adalah 36,5 g/mol.

Langkah pertama adalah menghitung volume yang dibutuhkan.

$$\text{Massa 1 liter HCl pekat adalah } 1,2 \frac{\text{g}}{\text{ml}} \times 1000 \text{ mL} = 1200 \text{ g}$$

$$\text{Massa HCl dalam 1 liter HCl pekat adalah } 0,37 \frac{\text{g HCl}}{\text{g larutan}} \times 1200 \frac{\text{g larutan}}{\text{liter}} = 444 \frac{\text{g HCl}}{\text{liter}}$$

$$\text{Molaritas HCl pekat, } C = \frac{444 \frac{\text{g HCl}}{\text{liter}}}{36,5 \frac{\text{g HCl}}{\text{mol}}} = 12,16 \text{ M}$$

Jadi, HCl pekat yang dibutuhkan adalah,

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$12,16 \times V_1 = 0,1 \text{ M} \times 500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4,1 \text{ mL}$$

Setelah diketahui volume larutan HCl pekat yang dibutuhkan, larutan HCl pekat diambil dengan pipet ukur sebanyak 4,1 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 500 mL yang telah diisi akuades setengah volume. Setelah semua HCl dimasukkan, pengenceran dilanjutkan sampai tanda batas. Setelah itu larutan dikocok sampai homogen.

Pada proses pelarutan, pertama tentukan massa molar zat ( $m_M$ ) yang akan dilarutkan dan berapa konsentrasi dan volume larutan yang akan dibuat. Selanjutnya, massa zat ( $m$ ) yang diperlukan dapat dihitung dengan mempertimbangkan kemurniannya.

$$m = m_M \times C \times V$$

$C$  dan  $V$  berturut-turut adalah konsentrasi dan volume larutan yang akan dibuat.

Contoh, pembuatan 250 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,1 M. Massa molar  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  adalah 106 g/mol.

Massa  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  yang diperlukan adalah

$$m = 106 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ mol/L} \times 0,25 \text{ L} = 2,65 \text{ g}$$

Jadi, langkah pertama untuk membuat 250 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,1 M adalah menimbang  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebanyak 2,65 g. Hasil penimbangan ini ditransfer secara kuantitatif ke dalam labu takar 250 mL, kemudian ditambahkan akuades kira-kira 200 mL. Campuran di dalam labu takar diaduk/dikocok hingga semua padatan ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) terlarut. Kemudian, akuades ditambahkan lagi hingga tanda batas dan kocok kembali sehingga larutan homogen.

### **C. PROSEDUR PERCOBAAN**

Buatlah larutan yang akan digunakan pada materi-materi berikutnya.

## **MATERI 3. PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DENGAN MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV**

### **A. TUJUAN:**

Menetapkan kadar parasetamol dalam sampel tablet secara spektrofotometri UV

### **B. DASAR TEORI**

Spektrofotometri adalah sebuah metode analisis yang didasarkan pada hasil interaksi antara cahaya monokromatis dengan materi atau analit pada larutan sampel. Alat yang digunakan dalam analisis ini adalah spektrofotometer. Alat spektrofotometer ini berfungsi untuk mengukur hasil interaksi cahaya monokromatis dengan analit. Hasil interaksi dapat berupa serapan (absorbansi), transmitansi, atau emisi.

Spektrofotometri akan terjadi jika ada perpindahan elektron dari tingkatan energi rendah menuju tingkatan lebih tinggi. Namun, perpindahan ini juga tidak akan diikuti perubahan lajur spin. Istilah ini lebih sering dikenal sebagai tereksitasi singlet.

Jika gelombang elektromagnetik atau lebih sering disebut dengan istilah radiasi elektromagnetik (REM). REM dapat berupa sinar X, sinar infra merah, sinar tampak (visible), sinar ultraviolet, hingga gelombang mikro dan gelombang radio. REM memiliki sifat sebagai partikel sekaligus gelombang sekaligus. Jika bertindak sebagai gelombang, REM dapat diketahui parameternya berupa bilangan gelombang, frekuensi, atau panjang gelombang. REM juga memiliki vektor magnet dan vektor listrik yang saling tegak lurus.

Prinsip dasar yang digunakan dalam metode analisis kuantitatif secara spektrofotometri adalah hukum Lambert-Beer. Hukum ini menjelaskan jika sinar monokromatik yang lewat di media tertentu, sebagian sinarnya akan terserap dan lainnya diteruskan atau dipantulkan. Selain itu, prinsip ini akan berjalan apabila:

1. Cahaya masuk yang mengenai sel sampel berwujud cahaya dengan gelombang monokromatis.
2. Serapan cahaya yang masuk tidak terpengaruh dengan larutan lain.
3. Serapan terjadi pada lebar kuvet yang sama.
4. Larutan harus jernih agar tidak terjadi hamburan cahaya dari partikel koloid dan absorbansi dapat diukur dengan tepat.
5. Tingkat konsentrasi analit harus rendah. Hal ini akan mempengaruhi tingkat linearitas kurva absorbansi

## 1. Interaksi sinar UV dengan molekul senyawa organik

Analisis spektrofotometri UV didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 190-380 nm. Kelebihan dari Spektrofotometri UV adalah metode ini memiliki tingkat kesulitan rendah, cepat, selektif, sensitif, dan murah.

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV:

### a. Pemilihan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorpsi dengan panjang gelombang dari larutan baku pada keadaan tertentu.

### b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat seri larutan dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus.

### c. Pembacaan Absorbansi Sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometri hendaknya antara 0,2 sampai 0,8. Pada kisaran ini, kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Gandjar, 2007).

## 2. Penggunaan Spektrofotometer UV

Pada umumnya, spektrofotometri UV dalam analisis senyawa organik digunakan untuk:

- Menentukan jenis khromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan auksokrom dari suatu senyawa organik
- Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang serapan maksimum suatu senyawa
- Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer

Syarat – syarat analisis dengan spektrofotometer UV – Vis

- Larutan harus berwarna atau mengandung senyawa organik tak jenuh
- Sinar harus monokromatis

- c. Larutan harus jernih (tidak keruh)
- d. Pelarut tidak boleh bereaksi secara kimia dengan sampel yang dianalisis.

Pada Farmakope Indonesia Edisi III (1979), dijelaskan bahwa analisis spektrofotometri terbagi atas:

a. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif spektrofotometri adalah analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi suatu zat. Umumnya dilakukan dengan menggambarkan spektrum serapan larutan dalam pelarut dan dengan kadar tertentu untuk menetapkan letak serapan maksimum.

b. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif spektrofotometri adalah penetapan kuantitatif yang dilakukan dengan mengukur serapan larutan zat dalam pelarut pada panjang gelombang tertentu. Penetapan kadar dilakukan dengan membandingkan serapan larutan zat terhadap larutan zat pembanding. Mula-mula pengukuran serapan dilakukan terhadap larutan pembanding kemudian terhadap larutan zat yang diperiksa.

Pemilihan pelarut dalam analisis Uv-vis

- a. Dapat melarutkan cuplikan
- b. Dapat meneruskan sinar dari panjang gelombang yang dipakai (tidak boleh menyerapnya)
- c. Tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkojugasi pada struktur molekul
- d. Tidak berwarna
- e. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- f. Kemurniannya harus tinggi
- g. Polaritasnya disesuaikan dengan senyawa yang dianalisis

Penggunaan untuk analisis kualitatif didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan empirik antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan (Hukum Lambert/Bouguer), dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat (Hukum Beer). Secara umum, hukum Lambert-Beer menyatakan *jumlah radiasi cahaya tampak, ultraviolet, inframerah dan sebagainya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan*. Hukum ini dirumuskan:

$$A = \log I_0/I_t = a \cdot b \cdot C = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Atau

$$A = -\log \%T$$

A : absorbansi atau serapan

a : absorptivitas atau daya serap ( $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

b : lebar larutan/kuvet (cm)

C : konsentrasi (mol/L atau g/L)

$\epsilon$  : absorptivitas molar/konstanta ekstingsi molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

$I_0$  : intensitas sinar yang datang

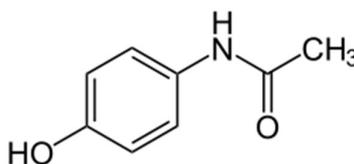
$I_t$  : intensitas sinar yang diteruskan (ditransmisikan)

T : transmitansi

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif suatu zat biasanya merupakan panjang gelombang dimana zat yang bersangkutan memberikan serapan yang maksimum ( $\lambda$  maks), sebab keakuratan pengukurannya akan lebih besar. Hal tersebut dapat terjadi karena pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) bentuk serapan umumnya tidak landai sehingga perubahan yang tidak terlalu besar pada kurva serapan tidak akan menyebabkan kesalahan pembacaan yang terlalu besar pula (dapat diabaikan)

### 3. Parasetamol

Parasetamol dan kafein umumnya terdapat bersama-sama dalam satu tablet obat yang memiliki sifat kepolaran berbeda. Gugus kromofor yang dimilikinya menyebabkan dapat menyerap sinar UV. Parasetamol (Gambar 4.1) berwujud serbuk hablur berwarna putih tidak berbau dan sedikit pahit, memiliki rumus empiris  $C_8H_9NO_2$ . Mengenai kelarutannya parasetamol larut dalam air mendidih dan dalam NaOH 1 N, mudah larut dalam etanol. Adapun struktur kimia parasetamol adalah



Gambar 4.1. Struktur parasetamol

## C. PROSEDUR PERCOBAAN

### 1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV, erlenmeyer, timbangan analitik, labu ukur 25 ml dan 50 ml, gelas ukur 10 ml, gelas beker, batang pengaduk, mikro pipet 100  $\mu$  - 1000  $\mu$ L, corong, kuvet quartz dan kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar parasetamol, metanol pro analisis, sampel tablet generik Asam mefenamat.

### 2. Cara Kerja:

#### 1. Pembuatan Larutan Baku parasetamol 400 ppm

Serbuk standar parasetamol ditimbang sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan methanol dalam gelas beaker. Larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian tambahkan methanol sampai tanda batas. dikocok hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi 400 ppm yang akan digunakan untuk pembuatan seri konsentrasi.

#### 2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Dari larutan baku Asam mefenamat 400 ppm diambil 0,375 ml lalu diencerkan dengan metanol pada labu ukur 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 6 ppm. Larutan dengan konsentrasi 6 ppm tersebut dikocok hingga homogen dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-400 nm.

#### 3. Penentuan Operating Time

Larutan standar parasetamol 6 ppm disiapkan seperti pada Langkah 2. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal sampai diperoleh nilai absorbansi yang relatif konstan. Catat waktu yang dibutuhkan untuk mencapai absorbansi yang konstan.

#### 4. Pembuatan Kurva kalibrasi

Dari larutan baku 400 ppm dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm pada labu ukur 25 ml. Larutan dikocok hingga homogen dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Data yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva kalibrasi sehingga diperoleh persamaan garis lurus  $y = bx + a$ .

#### 5. Penetapan kadar obat

Sepuluh tablet parasetamol ditimbang dan dihitung berat rata-ratanya. Kemudian, tablet digerus hingga halus dan homogen. Serbuk halus tersebut diambil 10 mg kemudian dilarutkan dalam metanol pada gelas beaker. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring Whatman No. 42. Filtrat ditampung dalam labu ukur 25 ml dan ditambah methanol sampai tanda batas. Larutan homogen diambil 0,25 ml dan tambahkan metanol pada labu ukur 25 ml, kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar parasetamol dalam tablet.

# **MATERI 4. Penetapan Kadar Kalsium dalam Sediaan Tablet Multivitamin dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS**

## **A. Tujuan:**

Dapat menetapkan kadar Kalsium dalam sampel tablet multivitamin dengan menggunakan metode spektrofotometer ultraviolet visibel.

## **B. Dasar Teori**

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu teknik analisis fisiko-kimia yang mengamati interaksi atom atau molekul dari suatu zat kimia dengan radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan menggunakan spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995).

### **1. Definisi spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu teknik analisis fisiko-kimia yang mengamati interaksi atom atau molekul dari suatu zat kimia dengan radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan menggunakan spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995).

### **2. Interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik**

Suatu berkas radiasi elektromagnetik bila dilewatkan melalui suatu zat kimia maka sebagian dari radiasi elektromagnetik tersebut akan diserap (Khopkar, 1990). Molekul dalam zat tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik pada daerah panjang gelombang yang energinya sesuai dengan beda energi antara keadaan dasar dan keadaan eksitasi dalam molekul (Roth and Blaschke, 1981). Molekul dapat menyerap radiasi elektromagnetik karena adanya elektron valensi yang akan mengalami transisi elektron dari tingkat energi rendah ke tingkat energi tinggi yaitu tingkat eksitasi (Khopkar, 1990). Elektron molekul organik yang menyerap meliputi elektron yang digunakan pada ikatan antara atom-atom dan elektron *nonbonding* atau elektron tak berpasangan yang pada umumnya terlokalisasi (Skoog, 1985).

Gugus fungsi pada suatu molekul organik yang bertanggung jawab terhadap serapan radiasi ultraviolet dekat dan sinar tampak adalah kromofor. Molekul organik yang mengandung gugus kromofor disebut kromogen (Christian, 2004). Pada senyawa organik dikenal pula gugus

auksokrom, yaitu gugus fungsi heteroatom yang mempunyai elektron valensi *nonbonding* seperti -OH, -NH<sub>2</sub> dan -OCH<sub>3</sub> yang tidak menyerap radiasi pada panjang gelombang >200 nm (Pecsok *et al.*, 1976). Terikatnya gugus auksokrom pada gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita serapan menuju ke panjang gelombang yang lebih panjang dan disertai perubahan intensitas serapan (Mulja dan Suharman, 1995).

### 3. Konsep dasar radiasi elektromagnetik

Energi radiasi elektromagnetik yang diserap menyebabkan perubahan energi elektronik suatu molekul sehingga menyebabkan terjadinya transisi elektron valensi molekul tersebut. Hubungan antara energi yang diserap untuk transisi elektron dengan frekuensi, panjang gelombang, dan bilangan gelombang adalah :

$$\Delta E = h \times \nu = h \times \frac{c}{\lambda} = h \times c \times \nu^{-1} \dots\dots\dots (1)$$

dengan :

- E = energi (Joule)
  - h = konstante Planck (6,63 x 10<sup>-34</sup> Joule. detik)
  - ν = frekuensi radiasi (Hertz)
  - c = kecepatan radiasi (3 x 10<sup>10</sup> cm. detik<sup>-1</sup>)
  - λ = panjang gelombang (cm)
  - ν<sup>-1</sup> = bilangan gelombang (cm<sup>-1</sup>)
- (Silverstein *et al.*, 1991)

Berdasar persamaan di atas, energi yang dibutuhkan suatu molekul untuk bertransisi berbanding terbalik dengan panjang gelombang. Molekul yang membutuhkan energi transisi lebih besar akan menyerap radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang yang lebih pendek, sebaliknya molekul yang membutuhkan energi transisi lebih kecil akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang.

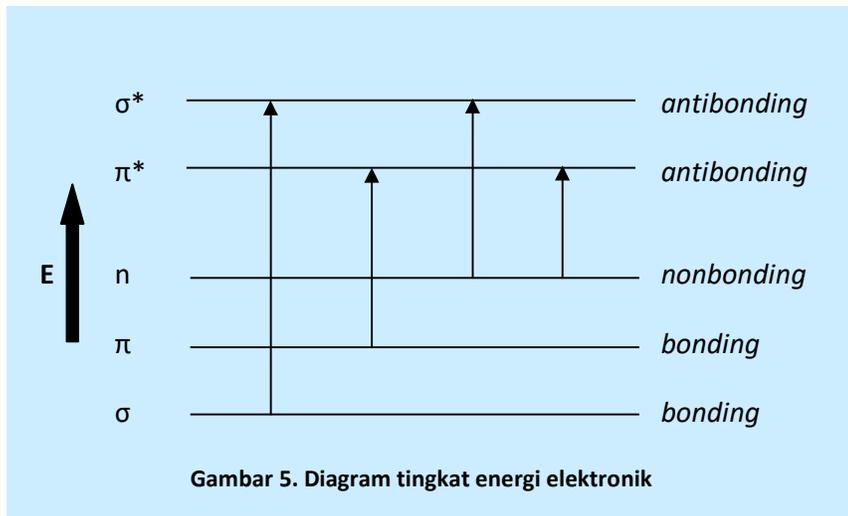
### 4. Tipe-tipe transisi elektron

Radiasi ultraviolet dan cahaya tampak akan meningkatkan energi elektronik sebuah molekul. Artinya energi yang disumbangkan oleh foton-foton memungkinkan elektron-elektron mengatasi kekangan inti dan pindah ke orbital baru yang lebih tinggi energinya (Day and Underwood, 2002). Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet dan sinar tampak dapat menyebabkan terjadinya transisi elektron σ → σ\*, n → σ\*, n → π\*, dan π → π\* (gambar 5). σ\* dan π\* adalah orbital atom *antibonding*, sedangkan n adalah orbital atom *nonbonding* yang mempunyai energi diantara orbital atom *bonding* dan *antibonding* (Khopkar, 1990). Transisi elektron yang dapat terjadi meliputi :

- a. transisi elektron σ → σ\*. Pada tipe transisi ini elektron di orbital σ *bonding* akan tereksitasi ke orbital *antibonding*. Transisi ini tidak terjadi pada daerah radiasi ultraviolet dekat, tetapi terjadi pada daerah radiasi ultraviolet jauh (Khopkar, 1990).

Transisi ini membutuhkan energi yang terbesar dan terjadi pada molekul dengan ikatan tunggal, misalnya alkana (Mulja dan Suharman, 1995).

- b. transisi elektron  $n \rightarrow \sigma^*$ . Pada transisi ini terjadi eksitasi elektron dari orbital *nonbonding* ke orbital *antibonding*. Transisi ini terjadi pada senyawa-senyawa jenuh dengan elektron *nonbonding*, membutuhkan energi yang lebih rendah daripada transisi elektron  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  dan terjadi karena radiasi pada daerah 150-250 nm (Khopkar, 1990).
- c. transisi elektron  $n \rightarrow \pi^*$  dan transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Kebanyakan penerapan spektrofotometri UV-Vis pada senyawa organik didasarkan pada transisi  $n \rightarrow \pi^*$  ataupun  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Energi yang diperlukan untuk transisi menghasilkan serapan maksimum pada daerah 200-700 nm (Khopkar, 1990). Transisi  $n \rightarrow \pi^*$  terjadi pada senyawa yang memiliki elektron *nonbonding* yang tereksitasi ke orbital *antibonding*, contohnya senyawa-senyawa yang mengandung gugus C=O, C=S, C=N, dan N=O (Daglish, 1969). Transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  dihasilkan oleh senyawa dengan ikatan rangkap dua dan tiga (alkena dan alkuna) bila menyerap energi yang sesuai dan terjadi di daerah ultraviolet dekat (Mulja dan Suharman, 1995).



Gambar 5. Diagram tingkat energi elektronik

(Mulja dan Suharman, 1995)

### 5. Pembacaan serapan dan transmitan

Jika suatu radiasi elektromagnetik dilewatkan pada suatu larutan dengan intensitas radiasi semula ( $I_0$ ), maka sebagian radiasi tersebut akan diteruskan ( $I_t$ ), dipantulkan ( $I_r$ ), dan diserap ( $I_a$ ), sehingga :

$$I_0 = I_t + I_r + I_a \dots\dots\dots (2)$$

Pada prakteknya nilai  $I_r$  sangat kecil (~ 4%) sehingga dapat diabaikan. Maka persamaan di atas menjadi :

$$I_0 = I_t + I_a \dots\dots\dots (3)$$

(Mulja dan Suharman, 1995)

Analisis dengan spektrofotometri UV-Vis selalu melibatkan pembacaan serapan radiasi elektromagnetik oleh molekul atau radiasi elektromagnetik yang teruskan. Keduanya dikenal sebagai serapan (A) tanpa satuan dan transmittan dengan satuan persen (%T) (Mulja dan Suharman, 1995). Serapan (A) adalah logaritma perbandingan intensitas cahaya yang dipancarkan ( $I_o$ ) terhadap intensitas cahaya yang diteruskan ( $I_t$ ) (Roth and Blaschke, 1981). Serapan dirumuskan:

$$A = \log \frac{I_o}{I_t} \dots\dots\dots (4)$$

(Skoog, 1985)

Transmittan (%T) adalah perbandingan intensitas dari sinar yang diteruskan ( $I_t$ ) terhadap sinar yang dipancarkan ( $I_o$ ) dalam persen (Roth dan Blaschke, 1981). Transmittan dirumuskan:

$$T = \frac{I_t}{I_o} \dots\dots\dots (5)$$

(Skoog, 1985)

Panjang gelombang terjadinya serapan bergantung pada kekuatan elektron terikat dalam molekul (Day and Underwood, 2002). Panjang gelombang yang digunakan untuk dalam pengukuran serapan adalah panjang gelombang serapan maksimum ( $\lambda_{maks}$ ), karena perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada  $\lambda_{maks}$ , sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Selain itu, pita serapan di sekitar  $\lambda_{maks}$  datar sehingga mengurangi kesalahan pada pengukuran berulang (Mulja dan Suharman, 1995).

## 6. Hukum Lambert-Beer

Serapan radiasi elektromagnetik oleh suatu zat penyerap pada panjang gelombang monokromatis digambarkan oleh 2 hukum. Kedua hukum tersebut adalah:

- a. hukum Lambert yaitu intensitas radiasi yang diteruskan (I) menurun secara eksponensial dengan meningkatnya tebal larutan (b).
- b. hukum Beer yaitu intensitas radiasi yang diteruskan (I) menurun secara eksponensial dengan meningkatnya konsentrasi larutan (c).

Kombinasi kedua hukum tersebut menghasilkan hukum Lambert-Beer yang dirumuskan :

$$\log \frac{I_o}{I} = A = k \times b \times c \dots\dots\dots (6)$$

dengan  $I_o$  adalah intensitas radiasi yang terjadi, A adalah serapan dan k adalah daya serap (liter/g/cm) (Fell, 1986).

Daya serap adalah serapan larutan 1 gram/liter pada kuvet setebal 1 cm. Daya

serap disebut daya serap molar ( $\epsilon$ ) bila satuannya liter/mol/cm. Daya serap molar adalah serapan 1 molar larutan pada kuvet setebal 1 cm (Fell, 1986). Daya serap molar dirumuskan :

$$\epsilon = A_{1cm}^{1\%} \times 0,1 \times BM \dots\dots\dots (7)$$

dengan  $A_{1cm}^{1\%}$  adalah serapan jenis dan BM adalah bobot molekul.

(Mulja dan Suharman, 1995)

Nilai daya serap molar tergantung pada area molekul sasaran (a) dan probabilitas transisi elektron (p) yang dirumuskan :

$$\epsilon = 0,87 \times 10^{20} \times p \times a \dots\dots\dots (8)$$

(Skoog, 1985)

Nilai p antara 0,1 – 1 memberikan serapan yang kuat ( $\epsilon = 10^4 - 10^5$ ). Puncak spektrum yang memiliki nilai  $\epsilon$  kurang dari  $10^3$  (nilai p kurang dari 0,01) dikatakan intensitas serapannya lemah (Skoog, 1985).

Bila konsentrasi dinyatakan dalam gram/100 ml maka k dideskripsikan sebagai serapan jenis yang dilambangkan dengan  $A_{1cm}^{1\%}$  (Fell, 1986). Serapan jenis adalah serapan dari larutan 1% b/v zat terlarut dalam kuvet setebal 1 cm. Harga serapan jenis pada panjang gelombang tertentu dalam suatu pelarut merupakan sifat dari zat terlarut (Anonim, 1995).

**7. Kesalahan fotometrik**

Ketepatan prosedur fotometrik dibatasi oleh nilai serapan. Pada nilai serapan rendah, intensitas radiasi yang terjadi dan yang diteruskan hampir sama sehingga kesalahan dalam pembacaan serapan relatif besar karena yang dibaca oleh alat adalah perbedaan antara intensitas radiasi yang terjadi dan yang diteruskan. Pada nilai serapan tinggi, intensitas radiasi yang diteruskan terlalu kecil sehingga tidak dapat terukur dengan akurat (Pecsok *et al.*, 1976).

Untuk pembacaan serapan (A) atau transmittan (T) pada daerah yang terbatas, kesalahan penentuan kadar hasil analisis dinyatakan :

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{0,4343}{\log T} \times \frac{\Delta T}{T} \dots\dots\dots (9)$$

$\Delta T$  adalah harga rentang skala transmittan terkecil dari alat yang masih dapat terbaca pada analisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Dari rumus di atas dapat diperhitungkan kesalahan pembacaan A atau T pada analisis dengan spektrofotometri UV-Vis. Pembacaan A (0,2-0,8) atau %T (15-65%) akan memberikan persentase kesalahan analisis yang dapat diterima (0,5-1%) untuk  $\Delta T = 1\%$  (Mulja dan Suharman, 1995). Apabila pembacaan serapan di luar rentang tersebut maka dapat dilakukan hal-hal berikut : pengenceran larutan, penggunaan kuvet yang lebih tepat, atau pemilihan panjang gelombang yang lebih tepat (Pecsok *et al.*, 1976).

**8. Analisis kualitatif**

Analisis kualitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis hanya dipakai untuk data pendukung. Analisisnya dapat dilakukan dengan :

- a. pemeriksaan kemiripan spektrum UV-Vis
- b. penentuan panjang gelombang serapan maksimum ( $\lambda_{maks}$ ).

(Mulja dan Suharman, 1995)

## 9. Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis (Mulja dan Suharman, 1995) dapat digolongkan menjadi :

a. analisis kuantitatif zat tunggal dengan metode spektrofotometri UV-Vis dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu :

- 1) dengan membandingkan serapan atau persen transmitan zat yang dianalisis dengan senyawa baku pada  $\lambda_{maks}$ . Persyaratannya pembacaan nilai serapan antara sampel dan senyawa baku tidak jauh berbeda.

$$A_{(S)} \times C_{(S)} = A_{(R,S)} \times C_{(R,S)} \dots\dots\dots (10)$$

dengan :

$A_{(S)}$  = serapan larutan sampel

$C_{(S)}$  = konsentrasi larutan

sampel  $A_{(R,S)}$  = serapan

senyawa baku

$C_{(R,S)}$  = konsentrasi senyawa baku

- 2) dengan menggunakan kurva baku larutan senyawa baku dengan pelarut tertentu pada  $\lambda_{maks}$ . Dibuat grafik dengan ordinat adalah serapan dan sebagai absis adalah konsentrasi
  - 3) dengan menghitung nilai  $A_{1cm}^{1\%}$  larutan sampel pada pelarut tertentu dan dibandingkan dengan  $A_{1cm}^{1\%}$  zat yang dianalisis yang tertera pada buku resmi.
  - 4) dengan menghitung nilai  $\epsilon$  sampel dan dibandingkan dengan nilai  $\epsilon$  zat yang dianalisis yang tertera di buku resmi.
- b. analisis kuantitatif campuran dua macam zat. Prinsip pelaksanaannya adalah mencari serapan atau beda serapan tiap-tiap komponen yang memberikan korelasi yang linier terhadap konsentrasi, sehingga akan dihitung masing-masing kadar campurannya secara serentak atau salah satu komponen dalam campuran.
- c. analisis kuantitatif campuran tiga macam zat atau lebih (multi komponen). Prinsipnya adalah kalibrasi tiap-tiap komponen dengan memakai larutan baku.

## 10. Reaksi pembentukan warna

Ruang lingkup spektrofotometri serapan dapat diperluas dengan reaksi pembentukan warna yang akan meningkatkan sensitivitas dan selektivitas suatu senyawa bila dibandingkan penetapannya secara spektrofotometri UV. Reaksi warna digunakan untuk memodifikasi spektrum suatu molekul penyerap sehingga dapat dideteksi pada daerah sinar tampak dan terpisah dari komponen pengganggu lain yang dapat terdeteksi bila diukur pada daerah ultraviolet (Fell, 1986). Pada reaksi warna, perubahan senyawa tidak berwarna menjadi senyawa berwarna terjadi karena adanya perpanjangan gugus kromofor oleh penambahan zat lain ke dalam larutan tersebut atau

karena terjadi pembentukan kompleks warna (Roth and Blaschke, 1981). Selain itu, senyawa yang dari asalnya berwarna juga dapat dideteksi pada daerah sinar tampak. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam reaksi warna (Vogel, 1994) yaitu :

- a. kespesifikan reaksi warna. Sangat sedikit reaksi yang khas untuk suatu zat tertentu, tetapi banyak reaksi menghasilkan warna untuk sekelompok kecil zat yang sehubungan saja, artinya reaksi-reaksi itu selektif.
- b. kesebandingan antara warna dan konsentrasi. Intensitas warna hendaknya meningkat secara linier dengan naiknya konsentrasi zat yang akan ditetapkan. Jika tidak dinyatakan lain, diharapkan bahwa korelasi tersebut memenuhi hukum Lambert-Beer.
- c. kestabilan warna. Warna yang dihasilkan hendaknya cukup stabil untuk memungkinkan pembacaan yang tepat. Periode warna optimum harus cukup panjang untuk membuat pengukuran yang cermat.
- d. reproduksibilitas. Prosedur reaksi warna harus memberi hasil yang dapat diulang pada kondisi eksperimen yang khas.
- e. kejernihan larutan. Larutan harus bebas dari endapan karena endapan dapat menghamburkan maupun menyerap cahaya.
- f. kepekaan tinggi. Diharapkan reaksi warna sangat peka terutama bila yang ditetapkan adalah zat berkuantitas kecil dan diharapkan pula produk reaksi menyerap dengan kuat pada daerah sinar tampak bukan daerah ultraviolet.

### C. Kasus

Seorang Peneliti BPOM sedang menguji sampel obat multivitamin dengan merk "X". Salah satu kandungan multivitamin tersebut adalah Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dengan keterangan label setiap tabletnya mengandung 7 mg Kalsium. Berdasarkan SOP dan hasil analisis, berikanlah kesimpulan apakah Tablet yang diproduksi telah memenuhi persyaratan atau tidak (sesuai dengan labelnya).

### D. Alat dan Bahan

Alat:

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Neraca analitik
3. Penangas air
4. Kertas saring Whatman
5. Kompor listrik
6. Alat gelas

Bahan:

1. HCl p.a.
2. Baku Kalsium  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a.
3. Etanol p.a.
4. Mureksid p.a.
5. NaOH p.a.
6. Tablet multivitamin merk "X"

## E. Metode Penelitian

1. Pembuatan Larutan uji/sampel
  - a. Ditimbang 10 tablet sampel dan dicari bobot rata-ratanya (lihat pada FI III)
  - b. Sampel tablet digerus halus hingga homogen
  - c. Timbang seksama kurang lebih 500,0 mg sampel, ditambah 25 mL asam klorida pekat
  - d. Dipanaskan selama 15 menit
  - e. Disaring ke dalam labu takar 50 mL dan dicukupkan sampai tanda dengan aquabides
2. Pembuatan larutan standar  $\text{Ca}^{2+}$ 

Buatlah larutan standari  $\text{Ca}^{2+}$  dalam bentuk larutan dengan konsentrasi 10 ppm.
3. Penentuan Panjang gelombang maksimum
  - a. Larutan Standar  $\text{Ca}^{2+}$  10 ppm, dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan dalam labu takar 50 mL dan diencerkan secukupnya dengan aquabides
  - b. Dalam labu takar ditambahkan 1 mL larutan mureksid dan akuabides secukupnya
  - c. Ditambahkan 2 mL NaOH 0,1 N dan ditambahkan aquabides ad 50 ml
  - d. Larutan dikocok sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam kuvet
  - e. Dibaca absorbansinya pada Panjang gelombang 400-700 nm
  - f. Tentukan Panjang gelombang maksimumnya
4. Penentuan Operating Time
  - a. Larutan Standar  $\text{Ca}^{2+}$  10 ppm, dipipet sebanyak 5 ml dimasukkan dalam labu takar 50 mL dan diencerkan secukupnya dengan aquabides
  - b. Dalam labu takar ditambahkan 1 mL larutan mureksid dan akuabides secukupnya
  - c. Ditambahkan 2 mL NaOH 0,1 N dan ditambahkan aquabides ad 50 ml
  - d. Larutan dikocok sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam kuvet
  - e. Baca dan catat absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum setiap menit hingga diperoleh absorbansi yang konstan
5. Penentuan koefisien korelasi kurva baku  $\text{Ca}^{2+}$ 
  - a. Larutan stok standar dengan kadar 10 ppm dipipet sebanyak 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 ml masing masing dimasukkan dalam labu ukur 50 ml lalu diencerkan secukupnya dengan aquabides
  - b. Dalam labu takar ditambahkan 1 mL larutan mureksid dan akuabides secukupnya
  - c. Ditambahkan 2 mL NaOH 0,1 N dan ditambahkan aquabides ad 50 ml
  - d. Larutan dikocok sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam kuvet
  - e. Baca absorbansi masing masing kadar pada  $\lambda$  maksimal dan OT
6. Penetapan kadar
  - a. Diambil 1 ml larutan uji, dinetralkan dengan NaOH ad 10 mL
  - b. Diambil 1 ml dimasukkan dalam labu takar 25 ml
  - c. Ditambahkan 1 ml larutan mureksid dan akuabides secukupnya dan 2 mL NaOH 0,1 ml kemudian ad 25 mL akuabides
  - d. Larutan dikocok hingga homogen dan baca absorbansi masing masing kadar pada  $\lambda$  maksimal dan OT

## **MATERI 5. Penentuan Kadar Parasetamol Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

### **A. TUJUAN**

Mahasiswa dapat menetapkan kadar parasetamol menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

### **B. DASAR TEORI**

#### **1. Prinsip Dasar Kerja KCKT**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) mulai dikembangkan akhir tahun 1960-an. Saat ini KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan permurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang, antara lain farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri makanan. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif dan kuantitatif.

Kromatografi merupakan teknik pemisahan solut atau zat terlarut berdasarkan perbedaan kecepatan elusi. Fase gerak cair dialirkan melalui kolom dengan bantuan pompa menuju ke detektor. Pemisahan komponen-komponen campuran di dalam kolom terjadi karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut terhadap fase diam. Solut yang kurang kuat berinteraksi dengan fase diam akan keluar dari kolom terlebih dulu, sebaliknya solut yang kuat berinteraksi dengan fase diam maka solut tersebut akan keluar dari kolom lebih lama. Setiap komponen campuran yang keluar dari kolom akan terdeteksi oleh detektor kemudian akan direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak pada kromatogram menyatakan jumlah komponen sedangkan luas puncak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran.

#### **2. Metode pemisahan**

Pemisahan dapat dilakukan dalam fase normal atau fase terbalik tergantung polaritas fase diam dan fase gerak. Pemisahan senyawa pada KCKT bergantung pada kekuatan interaksi antara solut dengan fase diam. Mekanisme pemisahan KCKT dapat dikelompokkan menjadi adsorpsi, partisi, penukar ion, dan eksklusi ukuran (*size-exclusion*).

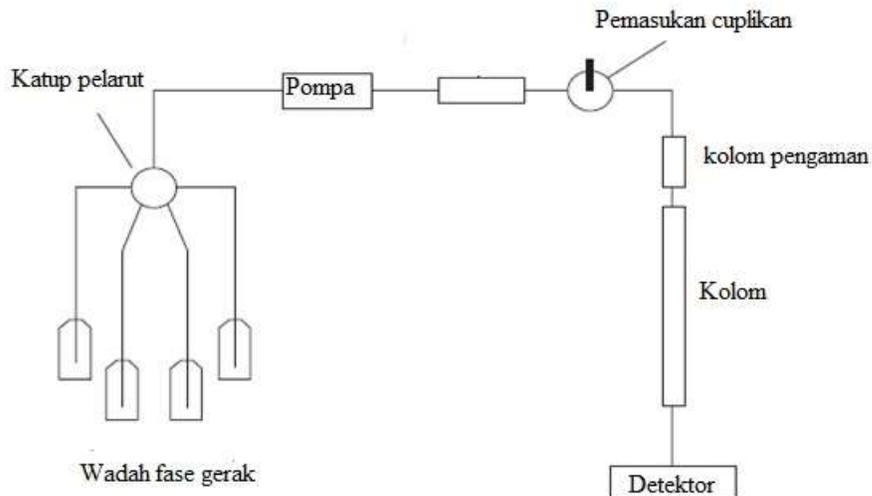
Pada kromatografi partisi, fase diam yang digunakan biasanya berupa silika yang

dimodifikasi secara kimiawi. Silika dapat dimodifikasi dengan hidrokarbon-hidrokarbon non polar menjadi oktadesilsilana, oktasilana, atau dengan fenil. Fase diam yang paling sering digunakan pada kromatografi partisi adalah oktadesilsilica (ODS atau  $C_{18}$ ).

Fase gerak yang sering digunakan adalah campuran metanol atau asetonitril, dengan air atau dengan larutan buffer. Untuk solut yang bersifat asam lemah atau basa lemah, peranan pH sangat krusial karena jika pH fase gerak tidak diatur maka solut akan mengalami ionisasi atau protonisasi. Terbentuknya senyawa yang terionisasi akan terikat dengan fase diam menjadi lebih lemah dibandingkan jika solut dalam bentuk tidak terionisasi sehingga senyawa yang terionisasi akan terelusi lebih cepat.

### 3. Instrumentasi KCKT

Instrumen KCKT pada dasarnya terdiri atas tujuh komponen pokok yaitu (1) wadah fase gerak, (2) sistem penghantaran fase gerak (pompa), (3) pemasukan cuplikan, (4) kolom, (5) detektor, (6) wadah penampung buangan fase gerak, (7) suatu komputer atau integrator atau perekam. Diagram skematik sistem KCKT dapat dilihat pada Gambar 5.1.



**Gambar 5.1.** Diagram sistem KCKT secara umum.

Berikut ini dibahas lebih rinci bagian-bagian KCKT:

#### a. Fase gerak

Fase gerak dalam KCKT berupa zat cair dan disebut juga eluen atau pelarut. Dalam KCKT fase gerak berfungsi membawa komponen-komponen campuran melewati kolom menuju detektor sehingga berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi

dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel.

Berdasarkan kepolaran fase diam dan fase gerak, maka KCKT dapat dibagi menjadi KCKT fase normal dan fase terbalik. Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril. Untuk pemisahan dengan fase normal, fase gerak yang paling sering digunakan adalah campuran pelarut-pelarut hidrokarbon atau dengan menggunakan pelarut-pelarut jenis alkohol.

Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik atau dengan cara gradien. Kebanyakan pemisahan KCKT dilakukan dalam kondisi isokratik, menggunakan fase gerak yang sama selama proses elusi sampel. Analisis isokratik baik digunakan untuk campuran sampel sederhana. Pada analisis gradien, kekuatan komposisi fase gerak meningkat selama proses elusi sampel. Teknik elusi gradien lebih disukai untuk sampel yang lebih kompleks karena dapat meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas.

b. Pompa

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara cepat, reproduibel, konstan dan bebas dari gangguan. Pompa yang digunakan dalam KCKT harus memenuhi beberapa syarat yaitu diantaranya menghasilkan tekanan sampai 6000 psi, inert terhadap fase gerak, kecepatan alir berkisar antara 0,1-10 mL/menit, bahan tahan korosi. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, dan teflon.

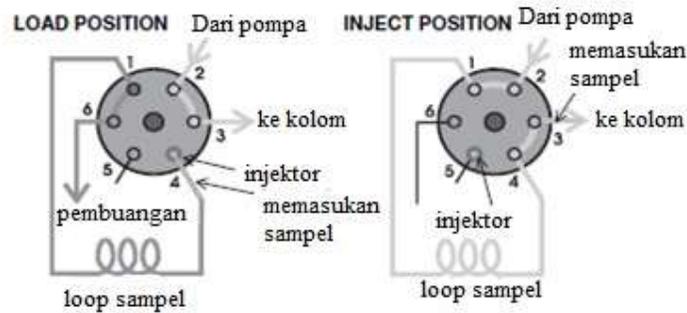
Ada dua jenis pompa dalam KCKT yaitu pompa dengan tekanan konstan dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan. Tipe pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum digunakan dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan.

c. Pemasukan cuplikan (injektor)

Faktor ketidaktepatan pengukuran KCKT sering terletak pada keterulangan pemasukan cuplikan ke dalam kolom. Kesalahan pada pemasukan cuplikan ke dalam kolom dapat menyebabkan *band broadening* (pelebaran pita). Oleh karena itu, cuplikan yang dimasukkan harus sekecil mungkin. Selain itu perlu diusahakan tekanan tidak menurun ketika memasukan cuplikan ke dalam aliran fase gerak.

Untuk memasukan cuplikan sampel dibutuhkan 2 tahap (Gambar 2) yaitu posisi

*load* dan posisi *inject*. Pada posisi *load* sampel digelontorkan melewati *loop* sampel, kemudian katup diputar pada posisi injeksi, sehingga fase gerak akan mengalir melewati *loop* sampel dan akan membawa sampel ke dalam kolom.



Gambar 5.2. Skema penyuntikan sampel. Posisi load dan posisi injeksi.

d. Kolom

Kolom KCKT biasanya terbuat dari *stainless stell* walaupun ada juga yang terbuat dari gelas berdingding tebal. Dalam KCKT dikenal dua macam kolom yaitu kolom utama dan kolom pengaman (*guard kolom*).

i. Kolom utama

Kolom utama berisi fase diam, tempat terjadinya pemisahan. Kolom utama dapat digunakan untuk analisis atau preparatif. Kolom ini biasanya berukuran panjang antara 5 sampai 30 cm dan diameter dalam berkisar 4 sampai 10 mm. Dalam kolom utama terdapat fase diam dengan partikel berukuran antara 3-10  $\mu\text{m}$ .

ii. Kolom pengaman (*guard kolom*)

Kolom pengaman disebut juga pra kolom karena diletakan sebelum sistem pemasukan cuplikan. Kolom ini berukuran pendek yaitu 5 cm dengan diameter 4,6 mm. Kolom pengaman juga berisi partikel silika yang berukuran lebih besar dari ukuran partikel kolom utama. Kolom pengaman memiliki dua fungsi yaitu untuk menyaring kotoran yang terbawa fase diam dan untuk menjenuhkan fase diam dalam rangka menghindarkan terjadinya erosi fase diam oleh aliran pelarut. Dengan demikian, kerusakan kolom utama yang mahal dapat dihindarkan.

e. Fase diam

Fase diam yang banyak dipakai pada KCKT berupa silika yang dimodifikasi secara kimiawi. Permukaan silika bersifat polar dan sedikit asam karena adanya residu gugus silanol (Si-OH). Silika dapat dimodifikasi secara kimiawi dengan

menggunakan reagen-reagen seperti klorosinal ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{RCl}$ ). Klorosinal akan bereaksi dengan gugus silanol dan menggantinya dengan gugus-gugus fungsional yang lain. Reaksi ini dimaksudkan untuk menutupi gugus silanol ( $\text{Si-OH}$ ) yang sangat polar. Hasil intreaksi ini disebut dengan silika fase terikat yang stabil terhadap hidrolisis karena terbentuk ikatan-ikatan siloksan ( $\text{Si-O-Si}$ ).

Jika R merupakan gugus fungsional yang bersifat polar, maka fase diamnya bersifat polar, misalnya gugus cyano ( $-\text{C}_2\text{H}_4\text{CN}$ ), diol ( $-\text{C}_3\text{H}_6\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$ ), atau amino ( $-\text{C}_3\text{H}_6\text{NH}_2$ ). Biasanya fase diam ini digunakan untuk pemisahan pada kromatografi fase normal. Jika gugus R merupakan rantai oktil ( $\text{C}_8$ ) atau oktadesil ( $\text{C}_{18}$ ), maka fase diamnya bersifat non polar. Oktadesil silika (ODS atau  $\text{C}_{18}$ ) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senya-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi.

f. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi solut-solut yang keluar dari kolom analitik. Detektor KCKT harus memenuhi beberapa syarat antara lain mampu merespon terhadap solut yang cepat dan reproduisibel, mempunyai sensitivitas yang tinggi, yakni mampu mendeteksi solut pada kadar yang sangat kecil, stabil dalam pengoperasiannya, memiliki respon yang linier terhadap konsentrasi solut, tidak merusak cuplikan, tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak. Beberapa detektor yang paling sering digunakan pada KCKT dapat dilihat pada Tabel 5.1.

**Tabel 5.1.** Karakteristik Detektor pada KCKT.

Detektor	Sensitivitas (g/mL)	Kisaran linier	Karakteristik
Absorbansi Spektrofotometer Uv-Vis Spektrofotometer- <i>photodiode-array</i>	$5 \times 10^{-10}$ $> 2 \times 10^{-10}$	$10^4$	Sensitivitas bagus, paling sering digunakan, selektifitas terhadap gugus-gugus dan struktur yang tidak jenuh.
Fluorosensi	$10^{-12}$	$10^4$	Sensitivitas sangat bagus, tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak.

Detektor	Sensitivitas (g/mL)	Kisaran linier	Karakteristik
Indeks bias	$5 \times 10^{-7}$	$10^4$	Hampir bersifat universal akan tetapi sensitivitasnya sedang. Sangat sensitif terhadap suhu, dan tidak dapat digunakan pada elusi gradien.
Elektrokimia Konduktometri Amperometri	$10^{-8}$ $10^{-12}$	$10^4$ $10^5$	Peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak, tidak bisa digunakan pada elusi bergradien. Hanya mendeteksi solut-solut ionik. Sensitivitas sangat bagus, tetapi selektifitas timbul masalah dengan adanya kontaminasi elektroda.

Pelarut dalam HPLC diantaranya n-heksana, sikloheksana, tetraklorometana, metilbenzena, isopropanol, etanol, methanol, asam etanoat, dan air. Sementara fasa diam dalam HPLC diantaranya oktilsilika, propilsilika, aminopropil, asam sulfonat, dan amina kuartener.

### C. PROSEDUR PERCOBAAN

#### 1. Kasus

Seorang Apoteker ingin menetapkan kadar parasetamol pada obat yang telah diedarkan di masyarakat. Penetapan kadar senyawa tersebut dilakukan dengan menggunakan metode KCKT. Setelah dilakukan pengujian, maka tentukanlah apakah obat merk X memenuhi persyaratan pada label? (bandingkan dengan persyaratan penggunaan parasetamol dalam sediaan obat)

#### 2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan:

KCKT

Labu ukur 50 mL

Labu ukur 25 mL

Labu ukur 10 mL

Lumping & alu  
Corong  
Botol/vial HPLC  
Pipet tetes  
Pipet volume 10 mL  
Pipet volume 1 mL  
Syringe  
Membrane PTFE  
Kertas saring ultrasonic vibrator  
Kertas saring

Bahan yang digunakan:

Sampel tablet parasetamol  
Standar Parasetamol  
Methanol  
Akuades (for HPLC)  
Akuades

### 3. Cara Kerja

1. Penyiapan fase gerak  
Fase gerak yang digunakan adalah Aquades : metanol dengan perbandingan 70 : 30 (30 : 70) lower prosedur dr Agilent
2. Pembuatan larutan induk parasetamol  
Timbang dengan seksama sebanyak 5 mg standar paracetamol dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Tambahkan 20 mL metanol p.a. dan sonikasi selama 15 menit. Encerkan larutan dengan metanol hingga batas tanda dan saring dengan membrane.
3. Pembuatan kurva baku  
Buatlah seri konsentrasi larutan baku paracetamol dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dari larutan induk yang dibuat.
4. Pembuatan larutan sampel paracetamol  
Timbang 10 tablet sampel dan ditentukan berat rata-ratanya, lalu gerus sampai halus. Timbang sampel halus 10 mg, letakkan dalam labu ukur 25 mL. Tambahkan 10 mL metanol dan digoyangkan selama 10 menit, kemudian disonifikasi selama

5 menit. Larutan ditambahkan metanol hingga tanda batas. Saring larutan melalui filter dan buang 5 ml filtrat awal. Gunakan sampel yang jernih untuk penetapan kadar.

5. Kondisi operasional HPLC

Fase gerak : Aquades : metanol (70 : 30)

Kolom : C18 (150 nm x 4,6 mm, ukuran partikel 5  $\mu$ m)

Temperatur : 45 °C

Laju alir : 2.0 mL/min

Volume injeksi : 2  $\mu$ L

Detektor : UV, 275 nm

# MATERI 6. PENENTUAN KADAR BESI DALAM TABLET PENAMBAH DARAH DENGAN SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM

## A. TUJUAN

Mempraktikkan metode analisis Spektrofotometri Serapan Atom pada penentuan besi dalam tablet penambah darah

## B. Dasar Teori

Penentuan kadar suatu senyawa dapat dilakukan dengan berbagai macam metode. Dalam hal demikian, tugas seorang farmasis bukan sekedar melakukan penetapan kadar sesuai dengan prosedur yang ada, tetapi lebih jauh harus dapat menentukan pilihan metode mana yang paling baik dan sesuai. Metode yang baik harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu: peka (*sensitif*), teliti (*precise*), tepat (*accurate*), selektif, dan praktis.

Pada British Pharmacope dan beberapa farmakope dari negara-negara lain, cara untuk menganalisis **zink pada sediaan tetes mata adalah dengan menggunakan titrasi**. Pada metode ini banyak memiliki kekurangan, diantaranya adalah: pengamatan hanya didasarkan pada pengamatan visual, tidak praktis, tidak efektif, tidak efisien dan ketelitiannya kurang. Metode alternatif yang dapat digunakan adalah dengan spektrofotometri serapan atom. Metode ini memiliki kelebihan diantaranya dapat menganalisis konsentrasi logam berat dalam sampel secara akurat. Konsentrasi yang terbaca pada alat spektrofotometri serapan atom berdasarkan banyaknya sinar yang diserap yang berbanding lurus dengan kadar zat. Selain itu, metode ini juga dapat menganalisis sampel sampai kadar terendah ( $^0/_{00}$ ) dan spesifik, serta analisis sampel dapat berlangsung lebih cepat.

### 1. Teori Spektrofotometri Serapan Atom

Prinsip dasar spektrofotometri serapan atom adalah interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan sampel. Spektrofotometri serapan atom merupakan metode yang sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah.

Cara kerja Spektroskopi Serapan Atom ini adalah berdasarkan atas penguapan larutan sampel, kemudian logam yang terkandung di dalamnya diubah menjadi atom bebas. Atom tersebut mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya yang dipancarkan dari lampu katoda cekung

(*Hollow Cathode Lamp*) yang mengandung unsur yang akan ditentukan. Banyaknya penyerapan radiasi kemudian diukur pada panjang gelombang tertentu menurut jenis logamnya.

Jika radiasi elektromagnetik dikenakan kepada suatu atom, maka akan terjadi eksitasi elektron dari tingkat dasar ke tingkat tereksitasi. Larutan sampel diaspirasikan ke suatu nyala dan unsur-unsur di dalam sampel diubah menjadi uap atom sehingga nyala mengandung atom unsur-unsur yang dianalisis. Beberapa diantara atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala, tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral dalam keadaan dasar (*ground state*). Atom-atom *ground state* ini kemudian menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber radiasi yang terbuat oleh unsur-unsur yang bersangkutan. Panjang gelombang yang dihasilkan oleh sumber radiasi adalah sama dengan panjang gelombang yang diabsorpsi oleh atom dalam nyala. Absorpsi ini mengikuti hukum Lambert-Beer, yaitu absorbansi berbanding lurus dengan panjang nyala yang dilalui sinar dan konsentrasi uap atom dalam nyala. Kedua variabel ini sulit untuk ditentukan tetapi panjang nyala dapat dibuat konstan sehingga absorbansi hanya berbanding langsung dengan konsentrasi analit dalam larutan sampel.

Aspek kuantitatif dari metode spektrofotometri diterangkan oleh hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ atau } A = a \cdot b \cdot c$$

A = Absorbansi

$\epsilon$  = Absorptivitas molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

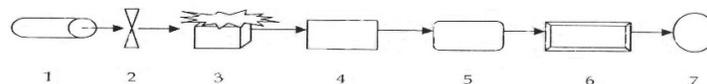
a = Absorptivitas ( $L \cdot gr^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

b = Tebal nyala (cm)

c = Konsentrasi ( $mol \cdot L^{-1}$ )

## 2. Instrumentasi Spektrofotometri Serapan Atom

Alat spektrofotometer serapan atom terdiri dari rangkaian seperti dalam diagram skematik berikut:



Gambar 2. Diagram Spektrometri Serapan Atom atau SSA

1. Sumber sinar: Sumber sinar menggunakan *Hallow Cathode lamp* yang akan memancarkan energi radiasi yang sesuai dengan energi yang diperlukan untuk transisi elektron atom.
2. Pemilah (*Chopper*): memilah sumber cahaya yang akan diteruskan ke nyala.
3. Nyala: Sumber atomisasi, dibagi menjadi dua yaitu sistem nyala dan sistem tanpa nyala. Kebanyakan instrumen sumber atomisasinya adalah nyala dan sampel diintroduksi dalam bentuk larutan. Sampel masuk ke nyala dalam bentuk aerosol. Aerosol biasa dihasilkan oleh nebulizer (pengabut) yang dihubungkan ke nyala oleh ruang penyemprot (*chamber spray*). Jenis nyala yang sering digunakan adalah udara-asetilen
4. Monokromator: merupakan alat yang berfungsi untuk memisahkan radiasi yang tidak diperlukan dari spektrum radiasi lain yang dihasilkan oleh *Hallow Cathode Lamp*
5. Detektor: Detektor merupakan alat yang mengubah energi cahaya menjadi energi listrik.
6. Amplifier: Sistem pengolah berfungsi untuk mengolah kuat arus dari detektor menjadi besaran daya serap atom transmisi yang selanjutnya diubah menjadi data dalam sistem pembacaan
7. Meter atau recorder: Sistem pembacaan merupakan bagian yang menampilkan suatu angka atau gambar yang dapat dibaca oleh mata

Kelebihan spektrofotometri serapan atom yaitu lebih peka daripada spektrofotometri emisi atom dan sangat spesifik yang bermanfaat dalam beberapa aspek pengendalian mutu. Sedangkan kekurangan spektrofotometri serapan atom yaitu hanya dapat diterapkan pada unsur-unsur logam, dan masing-masing unsur memerlukan lampu katoda cekung yang berbeda untuk penentuannya.

### **C. PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Alat yang digunakan:

Labu ukur 10 mL

Labu ukur 50 mL

Gelas beaker 100 mL

Pengaduk kaca

Pipet ukur 5 mL

Pipet ukur 1 mL

Pipet tetes

AAS Perkin Elmer AAnalyst 400

2. Bahan yang diperlukan:

Sampel tablet penambah darah

Larutan induk Fe

HNO<sub>3</sub> 1 M

Akuades

3. Cara Kerja

a. Pembuatan larutan standar Fe 10 ppm

Larutan induk Fe 1000 ppm diencerkan dengan akuades menjadi 10 ppm dalam labu ukur 50 mL.

b. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan standar Fe 10 ppm dalam labu ukur 10 mL. Pada saat pengenceran, 1 mL HNO<sub>3</sub> 1 M ditambahkan agar larutan dalam kondisi asam. Larutan standar berbagai konsentrasi tersebut diukur absorbansinya dengan AAS. Data yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva kalibrasi.

c. Preparasi sampel dan pengukuran kadarnya

Sampel sebanyak 5 tablet ditimbang dan dihitung berat rata-ratanya. Kemudian, tablet dihaluskan dan diambil sebanyak 0,104 g dalam gelas beaker. ~~HCl pekat sebanyak 7 mL~~ HNO<sub>3</sub> 1 M sekitar 10 ml ditambahkan ke dalam gelas beaker, lalu dipanaskan hingga semua sampel larut (sampai tidak ada endapan/larutan menjadi jernih). Pemanasan dilakukan di lemari asam. Larutan disaring dan filtratnya ditampung dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Absorbansi sampel diukur dengan AAS. Kadar Fe dalam sampel diukur dengan mengekstrapolasikan absorbansi sampel ke dalam kurva kalibrasi.

# **MATERI 7. PENETAPAN KADAR KLORAMFENIKOL DALAM SEDIAAN KAPSUL SECARA SPEKTROFOTOMETRI FOURIER TRANSFORM INFRA RED (FTIR)**

## **A. Tujuan Praktikum**

Melakukan penetapan kadar Kloramfenikol secara spektrofotometri Fourier Transform Infra Red (FTIR) menggunakan pelarut metanol.

## **B. Dasar teori**

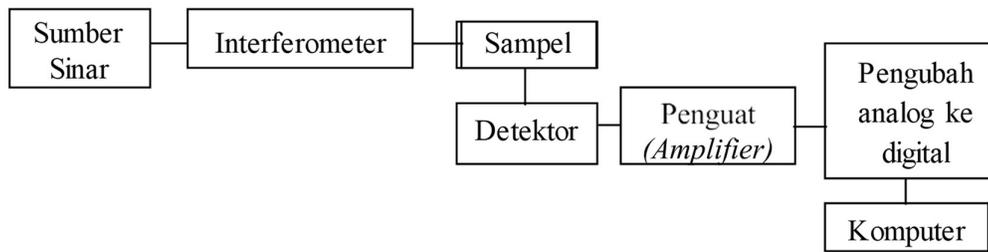
Teknik spektroskopi adalah salah satu teknis analisis fisiko-kimia yang mengamati tentang interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Pada prinsipnya interaksi REM dengan molekul akan menghasilkan satu atau dua macam dari tiga kejadian yang mungkin terjadi. Ketiga macam kejadian yang mungkin terjadi sebagai akibat interaksi atom atau molekul dengan REM adalah hamburan (*scattering*), absorpsi (*absorption*), dan emisi (*emision*) REM oleh atom atau molekul yang diamati (Mulja dan Suharman, 1995).

Konsep radiasi infra merah dimunculkan kali pertama oleh Sir William Herschel (tahun 1800) melalui percobaannya mendispersikan radiasi matahari dengan prisma. Ternyata pada daerah sesudah sinar merah menunjukkan adanya kenaikan temperatur tertinggi yang berarti pada daerah panjang gelombang radiasi tersebut banyak kalori (energi tinggi). Daerah spektrum tersebut selanjutnya disebut infrared (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometer FTIR didasarkan pada ide adanya interferensi radiasi antara 2 berkas sinar untuk menghasilkan suatu interferogram. Interferogram merupakan sinyal yang dihasilkan sebagai fungsi perubahan *path length* antara 2 berkas sinar. Dua domain (jarak dan frekuensi) dapat ditukar balikkan dengan metode matematik yang disebut dengan transformasi fourier (Rohman, 2014).

Komponen dasar spektrofotometer FTIR ditunjukkan secara skematiks dalam Gambar 1. Radiasi yang berasal dari sumber sinyal dilewatkan melalui interferometer ke sampel sebelum mencapai detektor. Selama penguatan (amplifikasi) sinyal, yang mana kontribusi-kontribusi frekuensi tinggi telah dihilangkan dengan filter, maka data diubah

ke bentuk digital dengan suatu analog-to-digital-converter dan dipindahkan ke computer untuk menjalani transformasi fourier (Rohman, 2014).



**Gambar 1.** Komponen utama dalam FT-IR (Sumber: Rohman, 2014)

a. Sumber sinar

Spektrofotometer FTIR menggunakan sumber sinar Nernst untuk daerah IR tengah. Jika spektra IR jauh juga akan diukur, maka lampu merkuri tekanan tinggi dapat digunakan. Untuk IR dekat, lampu - lampu tungsten - hidrogen dapat digunakan sebagai sumber sinar (Rohman, 2014).

b. Interferometer Michelson

Interferometer pertama kali dirancang oleh Albert Abraham Michelson pada tahun 1891. Tujuan interferometer adalah untuk membawa berkas sinar, lalu memecahnya ke dalam dua berkas sinar, dan membuat salah satu berkas sinar berjalan dengan jarak yang berbeda dengan yang lain. Perbedaan jarak yang dilalui oleh 2 berkas sinar ini disebut dengan perbedaan celah optic (*path length difference*) atau penghambatan optik, disimbolkan dengan huruf Yunani delta kecil ( $\delta$ ). Interferometer Michelson mempunyai 2 buah cermin, yakni cermin statik/ tetap (tidak bergerak) dan cermin yang selalu bergerak. Diantara 2 cermin ini terdapat pemecah berkas sinar (*beam splitter*), yang dirancang untuk mentransmisikan setengah radiasi yang mengenainya dan merefleksikan atau memantulkan yang setengahnya. Sebagai hasilnya, sinar yang ditransmisikan oleh *beam splitter* akan mengenai cermin statik, sementara sinar yang direfleksikan akan mengenai cermin bergerak. Dua berkas sinar ini akan dipantulkan dari cermin-cermin ini, kembali ke *beam splitter* dan keduanya akan bergabung kembali dan akan melakukan interferensi. Setengah berkas sinar yang dipantulkan dari cermin statik ditransmisikan melalui *beam splitter*, sementara setengahnya dipantulkan kembali ke arah sumber sinar. Berkas sinar yang muncul dari interferometer pada sudut  $90^\circ$  ke berkas sinar yang masuk disebut dengan berkas sinar

yang ditransmisikan dan ini merupakan berkas sinar yang terdeteksi dalam spektrofotometer FTIR (Rohman, 2014).

c. Detektor

Ada 2 jenis detektor yang umum digunakan pada spektrofotometer FTIR. Detektor normal pada penggunaan rutin adalah alat piroelektrik yang di dalamnya terdapat deuterium triglisin sulfat (DTGS) pada jendela alkali halida yang tahan terhadap panas. Untuk pekerjaan yang memerlukan sensitifitas lebih, dapat digunakan detector merkuri kadmium tellurida (MCT), akan tetapi detektor ini harus didinginkan pada suhu nitrogen cair. Untuk pengukuran spektra IR di daerah dekat (NIR), detektor yang digunakan adalah fotokonduktor timbal sulfida (Rohman, 2014).

d. Komputer

Komputer merupakan komponen yang krusial dalam instrumen spektrofotometer FTIR modern. Komputer akan mengendalikan instrumen, misalkan dalam hal kecepatan, batas, serta awal dan akhir *scanning*. Komputer akan membaca spektra dari instrumen begitu spectrum di-*scanning*. Hal ini bermakna bahwa spektrum telah digitalisasikan (Rohman, 2014).

Spektrofotometer FTIR merupakan instrumen *single beam*. Pengukuran *background* dilakukan sebelum pengukuran sampel. Pengukuran *background* ini merupakan pengukuran spectrum lingkungan, yang terdiri dari gas yang mampu mengabsorpsi sinar inframerah seperti gas karbon dioksida dan uap air. Pengukuran sampel dengan spektrofotometer FTIR dilakukan setelah pengukuran spektra *background*. Perangkat lunak komputer akan mengurangi spektra hasil pengukuran dengan spektra *background* secara otomatis untuk menghasilkan spektra sampel yang dianalisis (Rohman, 2014).

### **Jenis Sampel yang Dapat Dianalisis Secara FTIR**

a. Spektra Transmisi Sampel Padat

Ada tiga cara umum untuk mengolah sampel yang berupa padatan, yaitu dengan lempeng kalium bromida, “mul” dan lapisan tipis. Padatan juga dapat ditetapkan sebagai larutan, tetapi spectrum larutan mempunyai bentuk yang berbeda dengan spektrum padatan, karena gaya intermolekul berubah (Rohman, 2014).

1. Pelet KBr

Pelet KBr digunakan untuk memperoleh spektra IR sampel padat, terutama sesuai untuk sampel-sampel serbuk. KBr merupakan bahan yang *inert*, transparan

terhadap sinar IR dan dapat beraksi sebagai pendukung dan pengencer sampel. Tahapan penyiapan pelet KBr: Pertama, sampel dan KBr harus digerus untuk mengurangi ukuran partikelnya sehingga diameternya kurang dari 2 mikron. KBr dan sampel sebaiknya digerus secara terpisah untuk menghindari interaksi kimia yang mungkin, adanya panas dan tekanan yang dihasilkan dapat menyebabkan KBr bereaksi dengan sampel. Banyaknya bahan (KBr) yang digunakan untuk mengencerkan sampel dapat diamati dengan mata (biasanya berkisar antara 0,1-2,0% berat). Campuran sampel dan KBr selanjutnya diletakkan dalam wadah tertentu, lalu ditekan untuk menghasilkan pelet yang transparan. KBr yang digunakan harus kering dan dianjurkan penggerusannya dilakukan di bawah lampu inframerah untuk mencegah kondensasi uap air (Rohman, 2014).

## 2. Mull

Mull atau lumpuran dibuat dengan menggerus cuplikan sehingga halus, kemudian dicampur dengan satu dua tetes minyak hidrokarbon parafin cair (Nujol) sehingga merupakan lumpuran. Campuran sampel-Nujol ini kemudian dipindahkan ke lempeng natrium klorida. Lempeng natrium klorida kedua diletakkan di atas campuran sampel-Nujol dan ditekan sehingga merupakan lapisan tipis dan rata diantara dua lempeng tersebut. Jika spektrum serapan Nujol mengganggu, maka sebagai pengganti Nujol dapat digunakan *fluorolube* atau heksaklorobutadiena. Syarat utama untuk memperoleh spektrum yang baik dengan cara ini ialah bahwa ukuran partikel zat padat yang disuspensikan harus kecil. Sejumlah kecil lumpuran selanjutnya ditempatkan pada permukaan jendela transparan inframerah (umumnya NaCl atau KBr), suatu jendela kedua diletakkan di atas dan 2 jendela ini ditekan secara bersama-sama untuk membentuk *sandwich* (Rohman, 2014).

## 3. Lapisan tipis

Lapisan tipis padatan cuplikan pada lempeng natrium klorida dapat diperoleh dengan meneteskan larutan cuplikan pada permukaan lempeng natrium klorida. Karena pelarut yang digunakan mudah menguap, maka akan didapatkan lapisan tipis pada lempeng natrium klorida (Rohman, 2014).

### b. Spektrum Transmisi Cair

Sebelum memperoleh spektrum IR sampel dalam larutan, maka pelarut yang sesuai harus dipilih. Faktor-faktor berikut harus diperhatikan ketika memilih pelarut, yakni: pelarut harus melarutkan sampel, pelarut yang digunakan sedapat mungkin non-polar

untuk meminimalkan interaksi solut-pelarut, serta pelarut tersebut tidak menyerap spektrum IR secara kuat. Cuplikan padat dapat dilarutkan dalam pelarut seperti karbon tetraklorida, karbon disulfida atau kloroform. Sebanyak 1-5% larutan dimasukkan dalam sel larutan yang mempunyai jendela transparan dengan alat pengatur ketebalan. Tebal sel biasanya antara 0,1-1,0 mm. Ada beberapa jenis sel transmisi untuk larutan yang tersedia. Sel tertutup dengan tebal celah tertentu (*fixed*) bermanfaat untuk cairan yang bersifat volatil, akan tetapi tidak dapat dilakukan pembersihan (Rohman, 2014). Ada 2 teknik yang umum digunakan untuk memperoleh spektra emisi cairan, yakni metode cairan tipis kapiler dan metode sel tertutup.

1. Metode lapisan tipis kapiler

Untuk membuat lapisan tipis kapiler, satu tetes sampel diletakkan diantara 2 jendela transparan inframerah. Salah satu pertimbangan penting ketika memilih sel inframerah adalah jenis bahan jendela. Bahan ini harus bersifat transparan (tidak menyerap sinar IR). Bahan yang umum digunakan adalah alkil halida. Bahan yang paling murah adalah NaCl, akan tetapi bahan lain yang lebih umum seperti KBr juga sering digunakan. Adanya kendala tertentu akan muncul ketika menggunakan air sebagai pelarut dalam spektroskopi inframerah. Bentuk spektrum IR air bersifat sangat intens dan dapat bertumpang suh dengan spektrum sampel yang dituju (Rohman, 2014).

2. Metode sel cairan tertutup

Metode sel cairan tertutup mempunyai pengemas yang menutup cairan di dalam sel, akibatnya akan mencegah penguapan. Teknik ini dapat digunakan untuk cairan yang volatil, berbau menyengat serta cairan toksik (Rohman, 2014).

- c. Spektra Transmisi Gas

Cuplikan gas dimasukkan ke dalam sel gas. Jendela transparan terhadap inframerah, biasanya NaCl, digunakan sehingga sel ini dapat diletakkan langsung dalam berkas cuplikan. Modifikasi dari bentuk ini dilakukan dengan menggunakan cermin-cermin internal, sehingga berkas sinar dipantulkan beberapa kali melalui sampel untuk menaikkan kepekaan (Rohman, 2014).

Dalam fase uap, perubahan rotasi dalam molekul dapat bebas terjadi dan proses energi rendah ini dapat mengatur pita vibrasi dengan energi lebih tinggi. Pita vibrasi dipecah dan seringkali terbentuk struktur halus nya (*fine structure*). Tetapi hanya ada beberapa

senyawa organik yang dapat ditetapkan dalam bentuk gas (Rohman, 2014).

### **Spektroskopi Inframerah**

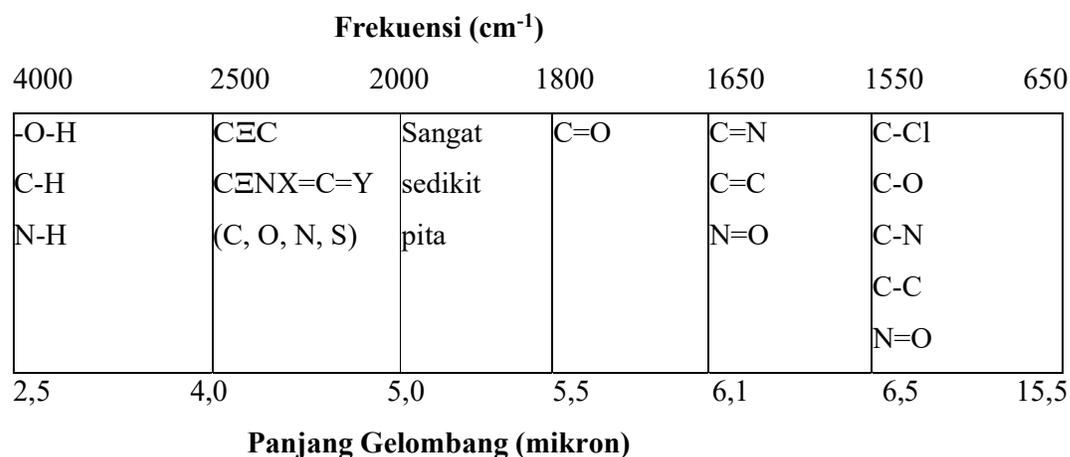
Spektroskopi inframerah (infrared, untuk selanjutnya disingkat dengan spektroskopi IR) merupakan spektroskopi vibrasional (getaran). Spektroskopi IR merupakan teknik analisis yang sangat populer untuk analisis berbagai jenis sampel, baik sampel produk farmasetik, makanan, cairan biologis, maupun sampel lingkungan. Karena pada spektroskopi ini melibatkan cahaya (foton), maka metode spektroskopi juga seringkali disebut dengan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk mengukur spectra disebut dengan spektrofotometer (Rohman, 2014).

Menurut Rohman (2014) spektrum IR merupakan jenis spektrum yang bersifat:

1. Spesifik terhadap suatu molekul yang akan memberikan informasi yang menyatu (inheren) tentang gugus-gugus fungsional yang ada dalam molekul, termasuk jenis dan interaksi-interaksinya.
2. Sidik jari (fingerprint).
3. Kuantitatif, yang mana intensitas puncak berkorelasi dengan konsentrasi.
4. Non-destruktif (tidak merusak), yang berarti bahwa pada jenis penanganan sampel tertentu seperti dengan attenuated total reflectance (ATR), sampel yang telah dianalisis dengan spektrofotometer IR dapat dianalisis dengan metode analisis yang lain.
5. Bersifat universal, dalam persyaratan pengambilan sampelnya baik sampel padat, cair, gas, sampel antara padat dan cair atau gas

### **Interpretasi Spektrum Inframerah**

Menurut Rohman (2014) Spektrum daerah inframerah (IR) tengah dapat dibagi menjadi 4 daerah. Daerah-daerah tersebut adalah sebagai berikut: daerah ulur X-H ( $4000 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ ) dengan X berupa O, N dan C, daerah ikatan rangkap tiga ( $2500 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ ), daerah ikatan rangkap dua ( $2000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ ), dan daerah sidik jari ( $1500 - 600 \text{ cm}^{-1}$ ). Secara visual daerah serapan gugus fungsional yang utama dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Daerah daerah perkiraan frekuensi vibrasi yang mana berbagai jenis ikatan menyerap sinar IR (disini hanya vibrasi ulur; sementara berbagai jenis vibrasi tekuk dihilangkan untuk membuat lebih jelas) (Sumber: Rohman, 2014)

Pita-pita utama yang muncul di daerah 2000 – 1500 cm<sup>-1</sup> disebabkan oleh C=C dan C=O ulur. Karbonil (C=O) ulur merupakan salah satu pita yang paling mudah dikenali. Pita karbonil biasanya merupakan pita yang paling intens dalam suatu spektrum. Pita ini muncul pada daerah 1830 – 1650 cm<sup>-1</sup> tergantung pada jenis ikatan C=O. Perlu dicatat bahwa karbonil logam dapat muncul di atas 2000 cm<sup>-1</sup>. Ikatan C=C ulur lebih lemah dibanding dengan karbonil ulur sehingga muncul di sekitar 1650 cm<sup>-1</sup>, akan tetapi pita ini seringkali tidak ada karena alasan simetrisitas atau momen dipol. Ikatan C=N ulur juga terjadi pada daerah ini, dan biasanya lebih kuat (Rohman, 2014).

Tabel 1 menunjukkan korelasi antara bilangan gelombang atau frekuensi (cm<sup>-1</sup>) dengan gugus gugus fungsional yang bertanggung jawab pada penyerapan radiasi IR.

**Tabel 2.1** Korelasi antara jenis vibrasi gugus fungsional dan frekuensi vibrasinya

Gugus	Jenis Vibrasi	Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )	Intensitas
C-H	Alkana (ulur)	3000 – 2850	Kuat
	-CH <sub>3</sub> (tekuk)	1450 dan 1375	Medium
	-CH <sub>2</sub> - (tekuk)	1465	Medium
	Alkena (ulur)	3100 - 3000	Medium
	Alkena (tekuk, keluar bidang)	1000 - 650	Kuat
	Aromatis (ulur)	3150 - 3050	Kuat
	Aromatis (tekuk, keluar bidang)	900 - 690	Kuat
	Alkuna (ulur)	± 3300	Kuat

Gugus	Jenis Vibrasi	Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )	Intensitas
	Aldehid	2900 - 2800 2800 - 2700	Lemah Lemah
C-C	Alkana	1200	Sedang
C=C	Alkena	1680 – 1600	Medium-Lemah
	Aromatis	1600 dan 1475	Medium-Lemah
C≡C	Alkuna	2250 - 2100	Medium-Lemah
C=O	Aldehid	1740 – 1720	Kuat
	Keton	1725 – 1705	Kuat
	Asam karboksilat	1725 – 1700	Kuat
	Ester	1750 – 1730	Kuat
	Amida	1680 – 1630	Kuat
	Anhidrida	1810 dan 1760	Kuat
	Asil Klorida	1800	Kuat
C-O	Alkohol, eter, ester, asam karboksilat, anhidrida	1300 - 1000	Kuat
O-H	Fenol		
	Bebas	3650 – 3600	Medium
	Terikat hydrogen	3400 – 3200	Medium
	Asam-asam karboksilat	3400 – 2400	Medium
N-H	Amin primer, amin sekunder, amida		
	Ulur	3500 – 3100	Medium
	Tekuk	1640 – 1550	Medium sampai kuat
C-N	Amina	1350 - 1000	Medium sampai kuat
C=N	Imina dan oksim	1690 – 1640	Medium sampai kuat
C≡N	Nitril	2260 – 2240	Medium
X=C=Y	Alena, ketena, isosianat, isotiosianat	2270 – 1940	Medium sampai kuat
N=O	Nitro (R-NO <sub>2</sub> )	1550 dan 1350	Kuat
S-H	Merkaptan	2250	Lemah
S=O	Sulfoksida	1050	Kuat
	Sulfon, sulfonil klorida, sulfat, sulfonamid	1375 - 1300 dan 1350 – 1140	Kuat
C-X	Fluorida	1400 – 1000	Kuat
	Klorida	785 – 540	Kuat
	Bromida, iodide	< 667	Kuat

### Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometri FTIR

Dasar analisis dengan spektroskopi inframerah adalah hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa ada hubungan antara intensitas (absorbansi) puncak inframerah dengan konsentrasinya (Rohman, 2014).

## 1. Analisis kuantitatif sederhana

Melakukan analisis komponen tunggal merupakan penggunaan hukum Lambert-Beer yang paling sederhana. Ada beberapa jenis sampel yang dapat dianalisis dengan cara sederhana ini, diantaranya sebagai berikut.

### a. Analisis sampel-sampel cairan

Analisis kuantitatif komponen dalam larutan dapat dilakukan asalkan terdapat pita yang sesuai dalam spektrum komponen yang dituju (analit). Pita yang dipilih haruslah mempunyai nilai absorptivitas molar yang tinggi, tidak tumpang suh dengan puncak-puncak lain dari komponen lain dalam suatu campuran atau puncak pelarut, puncak yang digunakan untuk analisis bersifat simetrik, dan memberikan plot kalibrasi yang linear antara absorbansi versus konsentrasi (Rohman, 2014).

### b. Analisis sampel-sampel padat

Campuran sampel padat sederhana dapat dianalisis secara kuantitatif, akan tetapi sampel padat lebih mudah terjadi kesalahan karena adanya pengaruh penghamburan radiasi. Analisis sampel padatan biasanya dilakukan dengan pelet KBr atau dalam mull (pasta). Masalah dalam hal ini adalah kesulitan dalam mengukur tebal lapisan. Meskipun demikian, pengukuran seperti ini tidak menjadi masalah jika digunakan standar internal. Ketika menggunakan pendekatan ini, penambahan sejumlah tertentu standar internal yang konstan dilakukan ke semua sampel dan ke semua standar kalibrasi (Rohman, 2014).

## 2. Analisis Multikomponen

Analisis multikomponen digunakan untuk mengukur konsentrasi beberapa komponen dalam satu waktu dalam campuran yang kompleks. Meskipun kebanyakan pekerjaan harus dikerjakan dengan mengukur spektra beberapa standar dan memilih bilangan gelombang yang digunakan, akan tetapi konsentrasi beberapa komponen dalam suatu campuran dapat ditentukan secara akurat dari satu spektrum sampel (Rohman, 2014).

## C. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- satu unit alat FTIR
- lumpang dan alu
- neraca analitik

- kertas saring
- tissue
- mikropipette (Eppendorf),
- sonikator
- labu ukur 50 mL
- labu ukur 10 mL
- dan alat gelas lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- metanol pro analisis
- baku Kloramfenikol
- kapsul Kloramfenikol

#### **D. Prosedur Penelitian**

##### **4. Pembuatan Larutan Induk**

Ditimbang dengan seksama 2,5 g baku kloramfenikol kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan 10 mL dengan metanol hingga larut, dicukupkan volume dengan metanol sampai garis tanda sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 50 mg/mL (LIB).

##### **5. Pembuatan Spektrum Vibrasi**

Diambil sebanyak 5 mL dari LIB kloramfenikol (konsentrasi 50 mg/mL), kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya larutan diencerkan dan dicukupkan dengan pelarut metanol sampai garis tanda, lalu dikocok sampai homogen untuk memperoleh larutan kloramfenikol dengan konsentrasi 25 mg/mL. Diukur vibrasinya pada bilangan gelombang  $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$

##### **6. Pembuatan Kurva Kalibrasi**

Larutan standar kloramfenikol dibuat dalam 5 labu ukur 10 mL yang memiliki konsentrasi masing-masing 5 mg/mL, 15 mg/mL, 25 mg/mL, 35 mg/mL, 45 mg/mL dengan cara memipet sebanyak 1 mL; 3 mL; 5 mL; 7 mL; dan 9 mL secara berurutan dari LIB kloramfenikol dan diencerkan dengan pelarut metanol. Kemudian dicukupkan dengan pelarut yang sama sampai garis tanda. kemudian ukur vibrasinya pada bilangan gelombang Kloramfenikol.

## **7. Penetapan Kadar Kapsul Kloramfenikol**

Ditimbang 20 kapsul kemudian digerus hingga menjadi serbuk halus dan homogen. Serbuk sampel ditimbang seksama setara 250 mg kloramfenikol, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 5 mL metanol. Larutan disonikasi kemudian diencerkan dengan metanol sampai garis tanda, disaring. 3 mL filtrat pertama dibuang dan filtrat selanjutnya ditampung (konsentrasi = 25 mg/mL). Vibrasi diukur pada bilangan gelombang kloramfenikol yang diperoleh menggunakan metanol sebagai blanko.

Konsentrasi sampel (X) dapat dihitung dengan mensubstitusikan tinggi puncak vibrasi yang diperoleh pada (Y) dari persamaan regresi:  $Y = aX + b$ , sehingga diperoleh X dan ini disebut dengan konsentrasi perolehan.

# **MATERI 8. PENENTUAN KADAR ALKOHOL DALAM SEDIAAN HAND SANITIZER DENGAN MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS**

## **A. Tujuan**

1. Mengetahui cara menganalisis kadar etanol dengan menggunakan kromatografi gas
2. Mengetahui kadar etanol yang terdapat pada salah satu sampel hand sanitizer yang beredar di pasaran

## **B. Dasar Teori**

### **Kromatografi Gas**

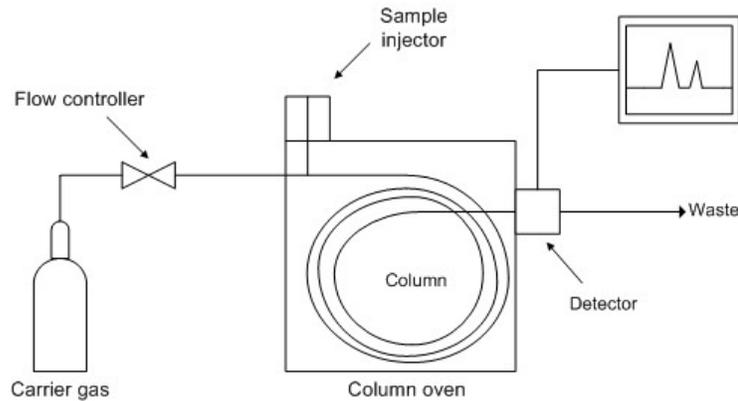
Kromatografi gas adalah teknik kromatografi yang dapat digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa-senyawa yang dapat ditetapkan dengan kromatografi gas sangat banyak, namun ada batasan-batasannya. Senyawa-senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian. Jika senyawa tidak mudah menguap dan tidak stabil pada temperatur pengujian, maka senyawa tersebut perlu diderivatisasi agar dapat dianalisis dengan kromatografi gas.

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan terhadap solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas). Solute-solut bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada perbedaan titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut melewati kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi.

Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif atau non-destruktif, tergantung pada detector yang digunakan. Kromatografi gas dapat diotomatisasi untuk analisis sampel-sampel padat, cair, dan gas. Sampel padat dapat

diekstraksikan atau dilarutkan dalam suatu pelarut sehingga dapat diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi gas. Sampel gas dapat langsung diambil dengan penyuntik (*syringe*). Sistem peralatan kromatografi gas (GC):

1. Kontrol dan penyedia gas pembawa;
2. ruang suntik sampel;
3. kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara termostatik;
4. sistem deteksi dan pencatat (detektor dan recorder); serta
5. komputer yang dilengkapi dengan perangkat pengolah data



**Gambar 1.** Bagan instrument GC

#### 1. Fase gerak

Fase gerak pada GC juga disebut dengan gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut melewati kolom, karenanya gas pembawa tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa adalah tidak reaktif, murni/kering karena kalau tidak murni akan berpengaruh pada detector, dan dapat disimpan dalam tangki tekanan tinggi (.

#### 2. Ruang suntik sampel

Lubang injeksi didesain untuk memasukkan sampel secara cepat dan efisien. Desain yang populer terdiri atas saluran gelas yang kecil atau tabung logam yang dilengkapi dengan septum karet pada satu ujung untuk mengakomodasi injeksi dengan syringe. Karena helium (gas pembawa) mengalir melalui tabung, sejumlah volume cairan yang diinjeksikan (biasanya antara 0,1-3,0  $\mu\text{L}$ ) akan segera diuapkan untuk selanjutnya dibawa menuju kolom. Berbagai macam ukuran syringe saat ini tersedia di pasaran sehingga injeksi dapat berlangsung secara mudah dan akurat.

Pada dasarnya, ada 4 jenis injektor pada kromatografi gas, yaitu:

- a) Injeksi langsung (*direct injection*), sampel yang diinjeksikan akan diuapkan dalam injektor yang panas dan 100 % sampel masuk ke dalam kolom.

- b) Injeksi terpecah (*split injection*), sampel yang diinjeksikan diuapkan dalam injektor yang panas dan selanjutnya dilakukan pemecahan.
- c) Injeksi tanpa pemecahan (*splitless injection*), hampir semua sampel diuapkan dalam injektor yang panas dan dibawa ke dalam kolom karena katup pemecah ditutup.
- d) Injeksi langsung ke kolom (*on column injection*), ujung semprit dimasukkan langsung ke dalam kolom

### 3. Kolom

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Oleh karena itu, kolom merupakan komponen sentral pada GC. Ada 3 jenis kolom pada GC yaitu kolom kemas (*packing column*), kolom kapiler (*capillary column*), dan kolom preparative (*preparative column*). Kolom kemas terbuat dari gelas atau logam yang tahan karat atau dari tembaga dan aluminium. Panjang kolom jenis ini adalah 1,5 meter dengan diameter dalam 1-4 mm. Kolom kapiler sangat banyak dipakai karena kolom kapiler memberikan efisiensi yang tinggi (jumlah pelat teori yang sangat besar, lebih dari > 300.000 pelat). Kolom preparatif digunakan untuk menyiapkan sampel yang murni dari matriks yang kompleks.

Fase diam yang dipakai pada kolom kapiler dapat bersifat non polar, polar, atau semipolar. Fase diam non polar yang paling banyak digunakan adalah metil polisiloksan (HP-1; DB-1; SE-30; CPSIL-5) dan fenil 5%-metilpolisiloksan 95% (HP-5; DB-5; SE-52; CPSIL-8). Fase diam semi polar adalah seperti fenil 50%-metilpolisiloksan 50% (HP-17; DB-17; CPSIL-19). Fase diam yang polar adalah seperti polietilen glikol (HP-20M; DB WAX; CP-WAX; Carbowax-20M).

### 4. Detektor

Komponen utama selanjutnya dalam kromatografi gas adalah detektor. Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik detektor akan sangat berguna untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen-komponen yang terpisah diantara fase diam dan fase gerak. Pada garis besarnya detektor pada GC termasuk detektor diferensial, dalam arti respon yang keluar dari detektor memberikan hubungan yang linier dengan kadar atau laju aliran massa komponen yang terresolusi. Kromatogram yang merupakan hasil pemisahan fisik komponen-komponen oleh GC disajikan oleh detektor

sebagai deretan luas puncak terhadap waktu. Waktu retensi tertentu dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif, sedangkan luas puncak dalam kromatogram dapat dipakai sebagai data kuantitatif yang keduanya telah dikonfirmasi dengan senyawa baku. Akan tetapi apabila kromatografi gas digabung dengan instrumen yang multipleks misalnya GC/FT-IR/MS, kromatogram akan disajikan dalam bentuk lain.

## 5. Komputer

GC modern menggunakan komputer yang dilengkapi dengan perangkat lunaknya untuk digitalisasi signal detektor dan mempunyai beberapa fungsi antara lain:

- Memfasilitasi setting parameter-parameter instrumen seperti aliran fase gas, suhu oven, dan pemrograman suhu, serta penyuntikan sampel secara otomatis.
- Menampilkan kromatogram dan informasi-informasi lain dengan menggunakan grafik berwarna.
- Merekam data kalibrasi, retensi, serta perhitungan-perhitungan dengan statistik.
- Menyimpan data parameter analisis untuk analisis senyawa tertentu.

## Alkohol

Alkohol merupakan istilah umum dari etanol mempunyai efek yang menguntungkan dan merugikan bagi manusia. Etanol pada kadar rendah dan sedang berperan sebagai stimulan. Konsumsi etanol dalam jumlah sedang mempunyai efek protektif terhadap penyakit jantung iskemik. Konsumsi etanol yang berlebihan bisa menyebabkan kerusakan banyak organ, terutama otak dan hati.

Alkohol merupakan senyawa seperti air yang satu hidrogennya diganti oleh rantai atau cincin hidrokarbon. Alkohol mempunyai titik didih yang tinggi dibandingkan alkana-alkana yang jumlah atom C-nya sama. Hal ini disebabkan karena antar molekul alkohol membentuk ikatan hidrogen. Rumus umum alkohol adalah R-OH, dengan R adalah suatu alkil baik alifatik maupun siklik. Dalam alkohol, semakin banyak cabang semakin rendah titik didihnya. Alkohol jenis metanol, etanol, propanol mudah larut dalam air, sedangkan butanol hanya sedikit larut.

## C. Metode

### 1. Alat dan Bahan

#### Alat:

- Seperangkat kromatografi gas
- Pipet ukur 1ml ; 5 ml ; 10 ml

- Gelas beker 50 ml, 100 ml
- Labu takar 10 ml (4 buah) dan 25 ml (11 buah)
- Pipet tetes
- Pro pipet
- Hairdryer
- Ultrasonifikator
- Corong Buchnër
- Kertas saring Whatman

**Bahan :**

- Etanol p.a.
- Sample hand sanitizer
- Aquabidest

**Kondisi Alat**

- GC : Shimadzu
- Fase diam : kolom kapiler Restex – 5ms
- Gas pembawa : Helium
- Suhu kolom : 60 – 100<sup>o</sup>
- Suhu injektor : 250<sup>o</sup>

**2. Cara Kerja**

**a. Pembuatan Kurva Baku**

Disiapkan larutan standar etanol dengan konsentrasi 0,4% ; 0,8% ; 1,2% ; 1,6% ; 2,0% ; 2,4% ; 2,8% dan 3,2% (0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 3,0) menggunakan labu takar 25 mL. Masing–masing labu takar kemudian ditambah aquabidest hingga tanda batas. Standar diinjeksikan ke dalam alat GC. Dicatat waktu retensi dan luas puncak komponen alkohol yang dianalisis.

**b. Preparasi dan Penetapan Kadar Sampel**

Diambil sampel yang diduga mengandung alkohol sebanyak 0,3 ml menggunakan pipet ukur, dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan tambahkan akuabides hingga tanda batas. Sampel kemudian disonikasi selama 15 menit. Kemudian sampel disaring menggunakan corong Buchnër dengan kertas saring Whatman. Sampel diinjeksikan ke dalam alat GC sebanyak 3x replikasi. Dicatat waktu retensi dan luas puncak komponen alkohol yang dianalisis.