

KULIAH 1

KIMIA ANALISIS



**STIKES
NOTOKUSUMO
YOGYAKARTA**

PROFESIONAL, TERAMPIL, CERDAS, BERETIKA

Pengantar Kimia Analisis

Pengampu:

**Desy Ayu Irma Permatasari,
M.Pharm.Sci**

1

Mampu menjelaskan ruang lingkup kimia analisis dalam kefarmasian, pentingnya ilmu tentang analisis obat



2

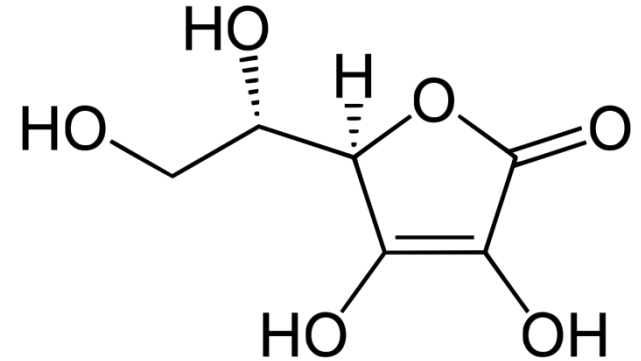
Mampu memecahkan permasalahan dalam metode analisis

3

Mampu mengevaluasi data hasil uji dan metode analisis

Topik Bahasan

- ✓ Cara pengambilan cuplikan dan pemisahan
- ✓ Kesalahan
- ✓ Penyajian hasil pengukuran kimia
- ✓ Dasar-dasar teknik analisis klasik
- ✓ Dasar-dasar teknik analisis instrumental

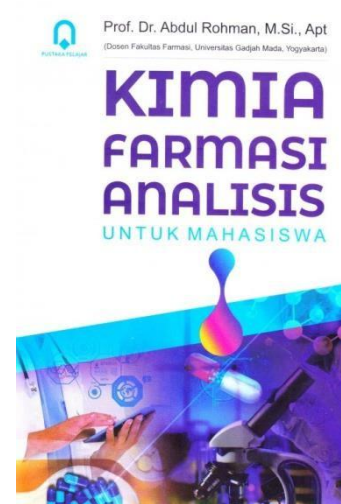
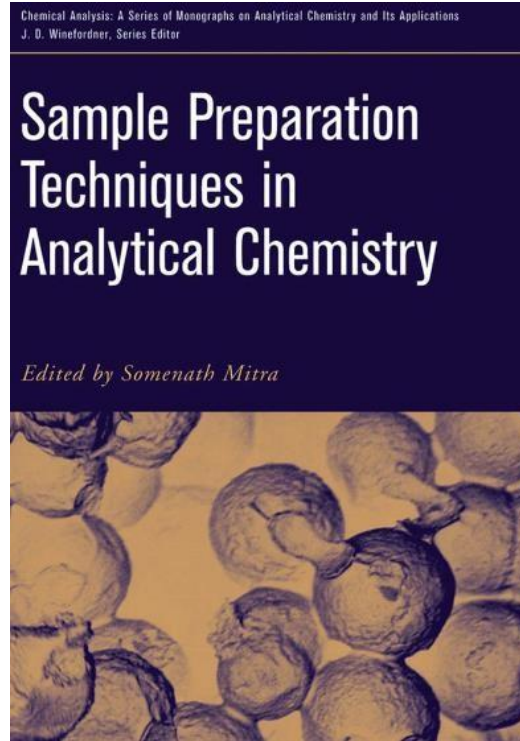
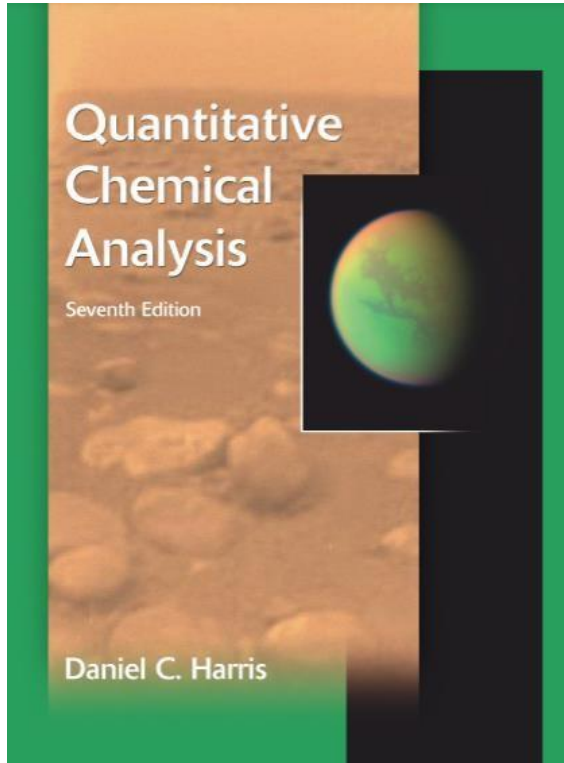


Kimia

Fisika

Matematika

Referensi



<https://chem.libretexts.org/>
<https://edu.rsc.org/>

Kimia AnaLisis

a method of *studying the nature* of something or of *determining its essential features* and their *relations*

the process of *breaking a complex substance* into smaller parts in order *to gain a better understanding* of it

ἀνάλυσις

“ Apakah ada, berapa jumlahnya, bagaimana memastikan bahwa itu “benar”, bagaimana kaitan penyusun terhadap reaksi yang terjadi



Ketidakpastian adaLah kepastian



Menyajikan data

Apa saja jasa kimia
analisis di
kehidupan?





Nutrition Facts
Per 3/4 cup (28 g)

Amount	Cereal Plus 125 mL Only 2% P.S. Milk	% Daily Value
Calories	110	170
		2 % 5 %
Fat 1 g*		1 % 9 %
Saturated 0.2 g + Trans 0 g		
Cholesterol 0 mg		7 %
Sodium 180 mg		
Sugars 10 g		
Protein 2 g		
Vitamin A	0 %	0 %
Vitamin C	10 %	25 %



ProficientRx

Benadryl 25mg #06 Tablets

Each tablet contains: Diphenhydramine HCl 25 mg Antihistamine

Product ID: SB052106

Dist. By: JOHNSON & JOHNSON CONSUMER INC. McNeil Consumer Healthcare Division, Fort Washington, PA 19034 USA

Keep medication out of the reach of children.



Benadryl 25mg #06 Tablets

Each tablet contains: Diphenhydramine HCl 25 mg Antihistamine

Product ID: SB052106

Dist. By: JOHNSON & JOHNSON CONSUMER INC. McNeil Consumer Healthcare Division, Fort Washington, PA 19034 USA

Keep medication out of the reach of children.

Beneran segitu?

FOOD FRAUD



Autentikasi



Yakin murni bukan oplosan?

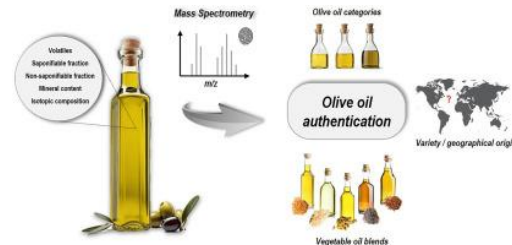


Bebas Hg, Hq, dan Pb?



Authentication Analysis of Sacha Inchi Seed Oil Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy Combined with Chemometrics

Desy Ayu Irma Permatasari^{1,2} · David Fernando^{1,2,3} · Fajar Aji Lumakso⁴ · Purwanto Purwanto³ · Agustina Ari Murti Budi Hastuti^{2,5} · Abdul Rohman^{2,5}



TLC and UV-Visible Spectrophotometry Validation for Identification of Sildenafil Citrate in Aphrodisiac Herbal Medicine

Khodadad Trimawan Azizi¹ ; Perdana Priya Haresmita^{1*} ; Desy Ayu Irma Permatasari²

¹ Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang, Indonesia, 56172

² Department of Pharmacy, STIKES Notokusumo Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia, 55243

**ANALISIS KADAR HIDROKUINON DALAM SEDIAAN KOSMETIK
BODY LOTION YANG DIJUAL SECARA DARING MENGGUNAKAN
METODE KLT DENSITOMETRI**

PROPOSAL SKRIPSI



**ANALISIS KADAR HIDROKUINON DALAM SEDIAAN KOSMETIK
KRIM PEMUTIH WAJAH YANG DIJUAL SECARA DARING
MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

PROPOSAL SKRIPSI

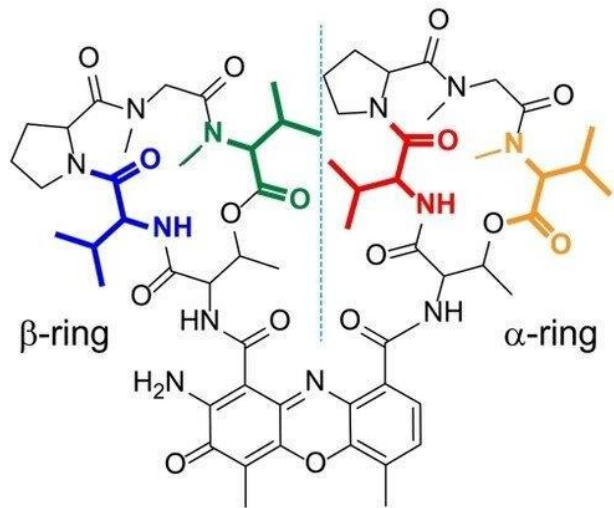




Diagnostik

PROPOSAL SKRIPSI

**PENGEMBANGAN METODE DETEKSI ASAM URAT PADA
MIKROFLUIDA KERTAS BERBASIS NANOPARTIKEL EMAS
TERMODIFIKASI SEBAGAI SENSOR KOLORIMETRI**

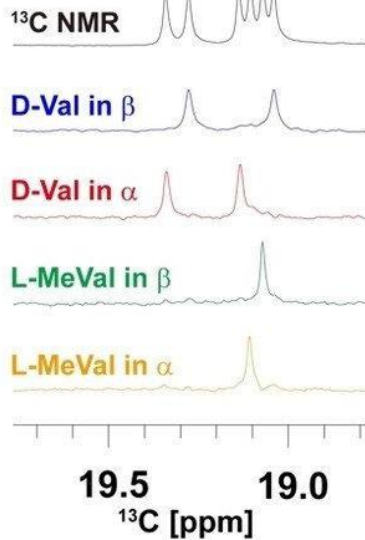


Actinomycin D

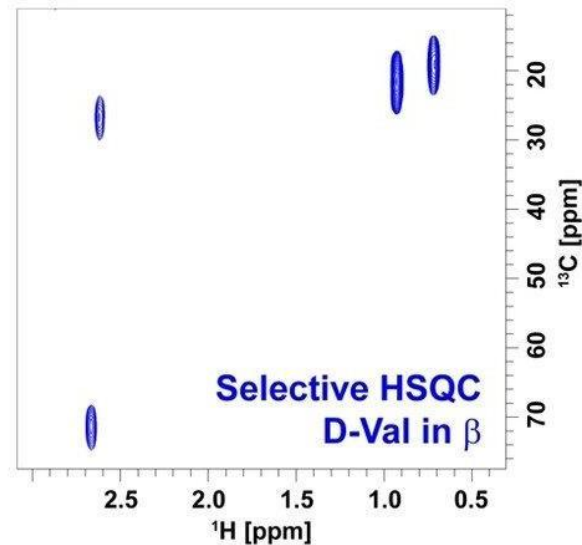
Single-scan

UHPT NMR

6 Hz



Elusidasi struktur



Ultrasensitive ^{13}C NMR / HSQC Spectra

**Bagaimana
strukturnya?**



The Case of Marie Lafarge (1840)

Thalidomide Tragedy (1950s–1960s)

The Case of the Minamata Disease

Chinese Milk Scandal

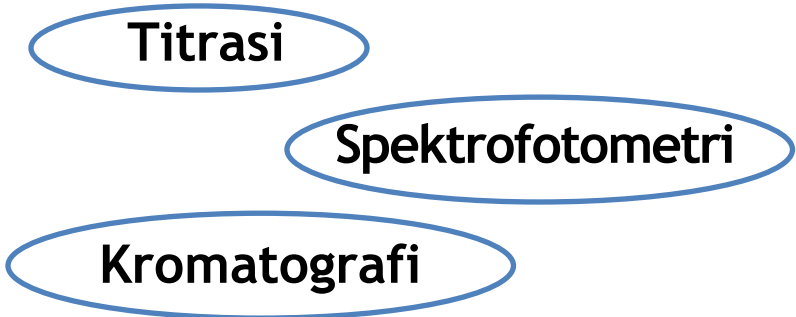
Kopi Sianida

Cemaran EG dan
DEG

Teknik **VS** Metode

the general approach or principle used to analyze a sample or solve a problem

a detailed, step-by-step procedure that specifies how to use a particular analytical technique to analyze a specific sample or analyte



Titrasi

Spektrofotometri

Kromatografi

Terima kasih



M desyayuirma@gmail.com



082226572949

KULIAH 2

KIMIA ANALISIS



**STIKES
NOTOKUSUMO
YOGYAKARTA**

PROFESIONAL, TERAMPIL, CERDAS, BERETIKA

TEKNIK PENYIAPAN SAMPEL

**Dosen Pengampu:
Desy Ayu Irma Permatasari, S.Si., M.Pharm.Sci.**

1

Mampu memahami dan menjelaskan cara penyiapan sampel, meliputi teknik sampling dan preparasi sampel

2

Mampu menyusun prosedur penyiapan sampel analisis berdasarkan rasional

3

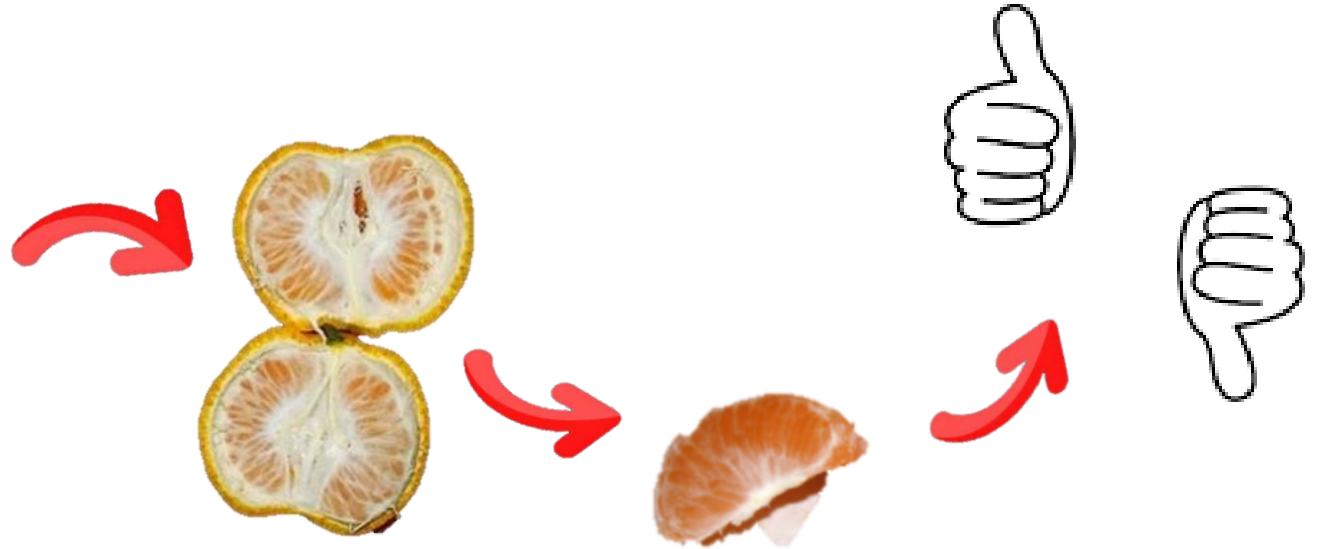
Mampu menganalisis kesalahan, menganalisis dan mengolah data analitik hasil pengujian, menyajikan data hasil pengukuran dan mengevaluasi metode analisis



**Unless the complete history of any sample is known
with certainty, the analyst is well
advised not to spend his [or her] time in analysing it**



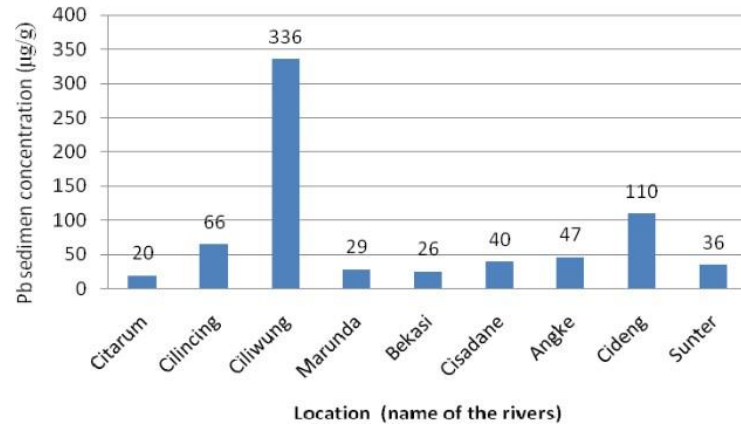
Cuplikan dan Pencuplikan



Analysis of lead (Pb) pollution in the river estuaries of Jakarta Bay

M. Rumanta

Universitas Terbuka, Indonesia





Cuplikan/sampel

*Sebagian kecil dari sesuatu yang lebih besar,
diambil untuk pengujian*

Pencuplikan/*sampling*

Proses pengambilan dan pengumpulan cuplikan secara representatif untuk analisis

Tipe pencuplikan

- Apakah Anda bertujuan untuk menghasilkan generalisasi atau menargetkan kelompok tertentu?
- Apakah populasinya homogen atau heterogen?
- Apakah Anda memiliki waktu, anggaran, dan akses untuk menerapkan metode sampling yang kompleks?
- Seberapa pentingkah meminimalkan bias dan meningkatkan presisi?



Tipe pencuplikan

○ Random sampling

- Rationale ► Ingin memastikan setiap sampel memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih, menghindari bias akibat menyengaja memilih sampel tertentu
- Teknis ► Menggunakan random number/lotere

Tipe pencuplikan

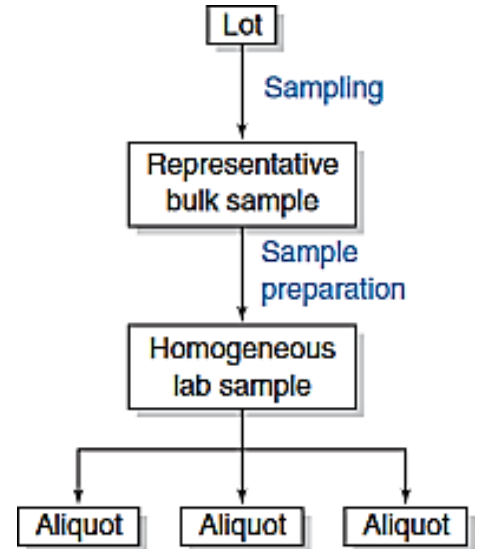
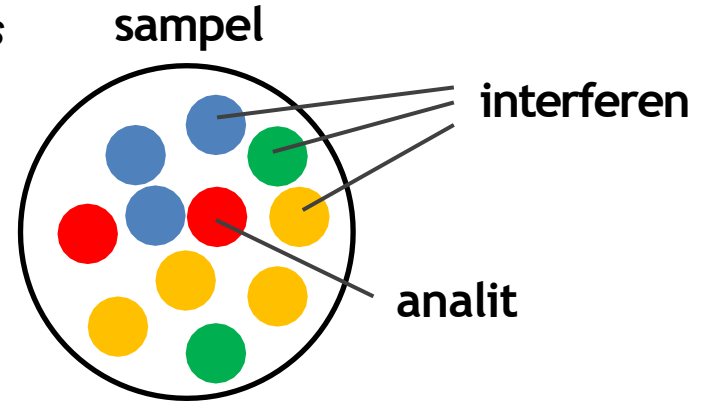
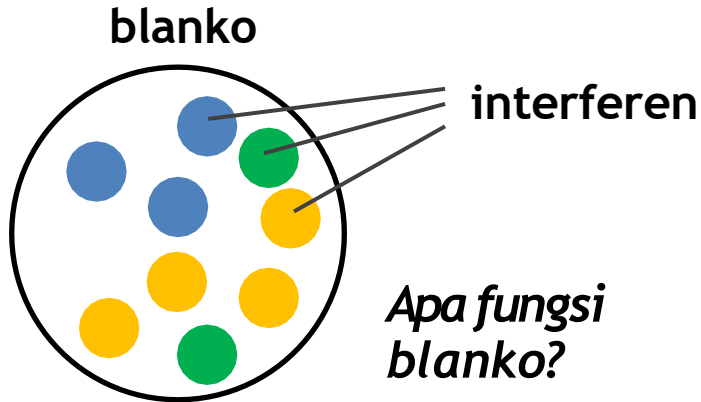
- Judgemental sampling ► Sudah ada intensi dari peneliti dalam memilih sampel
- Systematic sampling ► Dibuat interval tertentu dari karakteristik sampel
- Stratified sampling ► Populasi dibagi menjadi strata/level tertentu kemudian dari tiap strata dipilih secara acak

Tipe	Keacakan	Risiko bias	Penggunaan	Contoh
Random	Sangat acak	rendah	Populasi sederhana	Untuk tujuan penetapan impurity, diambil 100 tablet secara acak dari 10.000 tablet
Systematic	Terbatas	sedang	Populasi besar	Mengambil sampel air dari sungai tiap 2 jam selama 24 jam untuk analisis kadar Ni
Stratified	Acak dalam tiap strata	Rendah	Populasi heterogen dengan adanya subgrup	Mengambil sampel tanah yang diklasifikasi menjadi tanah kapur, tanah lempung atau lapisan atas, lapisan bawah
Judgemental	Tidak acak	Tinggi	Exploratory, populasi jarang	Mengambil sampel bahan baku dari supplier X

Prinsip dasar preparasi sampel

harus sesuai dengan tujuan analisis

- Dapatkan analit, hilangkan interferen
- Ubah analit menjadi bentuk yang sesuai untuk keperluan analisis



- Analisis dengan instrumen paling canggih tidak akan bermakna tanpa preparasi sampel yang tepat

- Kontribusi penyiapan sampel tergantung pada kompleksitas pengukuran/analisis

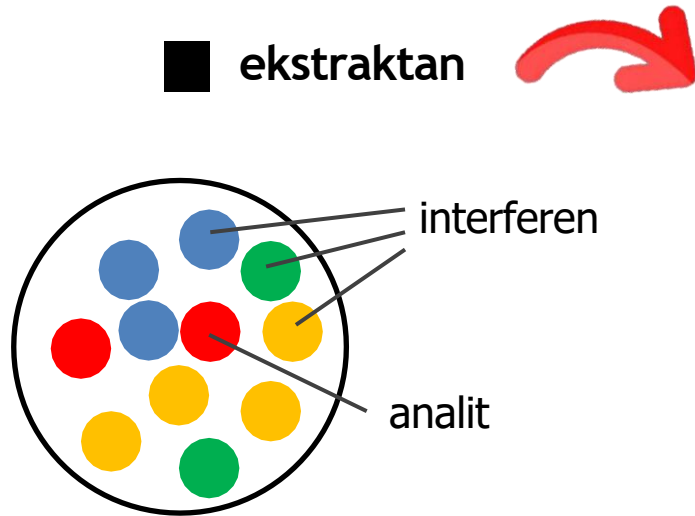
Untuk analisis dengan KCKT, 2/3 durasi waktu adalah untuk penyiapan sampe

- Sampel harus representatif (mewakili) kondisi sebenarnya dan homogen

Penting dalam penentuan kesimpulan hasil analisis

Pemisahan

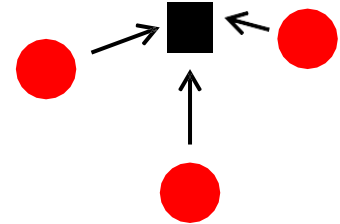
Proses mengisolasi salah satu atau beberapa komponen dari suatu campuran untuk keperluan analisis



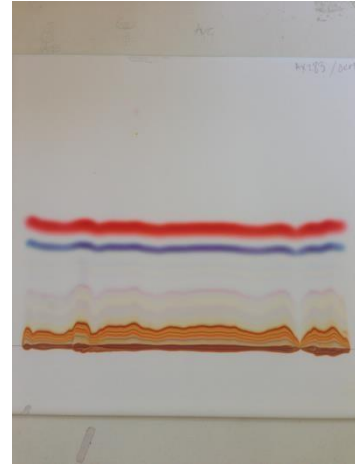
Isolasi analit target
(analyte of interest)

Menghilangkan interferen

Memekatkan analit (agar
bisa lebih terdeteksi)



Teknik pemisahan



Ekstraksi

Memindahkan analit secara selektif dari suatu matriks ke suatu fase



liquid-liquid extraction

Menggunakan kombinasi solven tak saling campur



Isolasi analit



Solid phase extraction

Menggunakan padatan penjerap (*solid sorbent*) dan eluen



Isolasi, pemekatan analit dan pembersihan dari matriks kompleks (cairan biologis)



solid-liquid extraction

Transfer analit dari sampel padat ke cairan



Isolasi analit



SPE cartridge

Berisi silika gel atau alumina atau polimer (polystyrene-divinylbenzene) atau reversed-phase (silika gel dicap dengan C18 adsorbent atau ion-exchange

Strategi pemisahan di SPE



Bind and elute

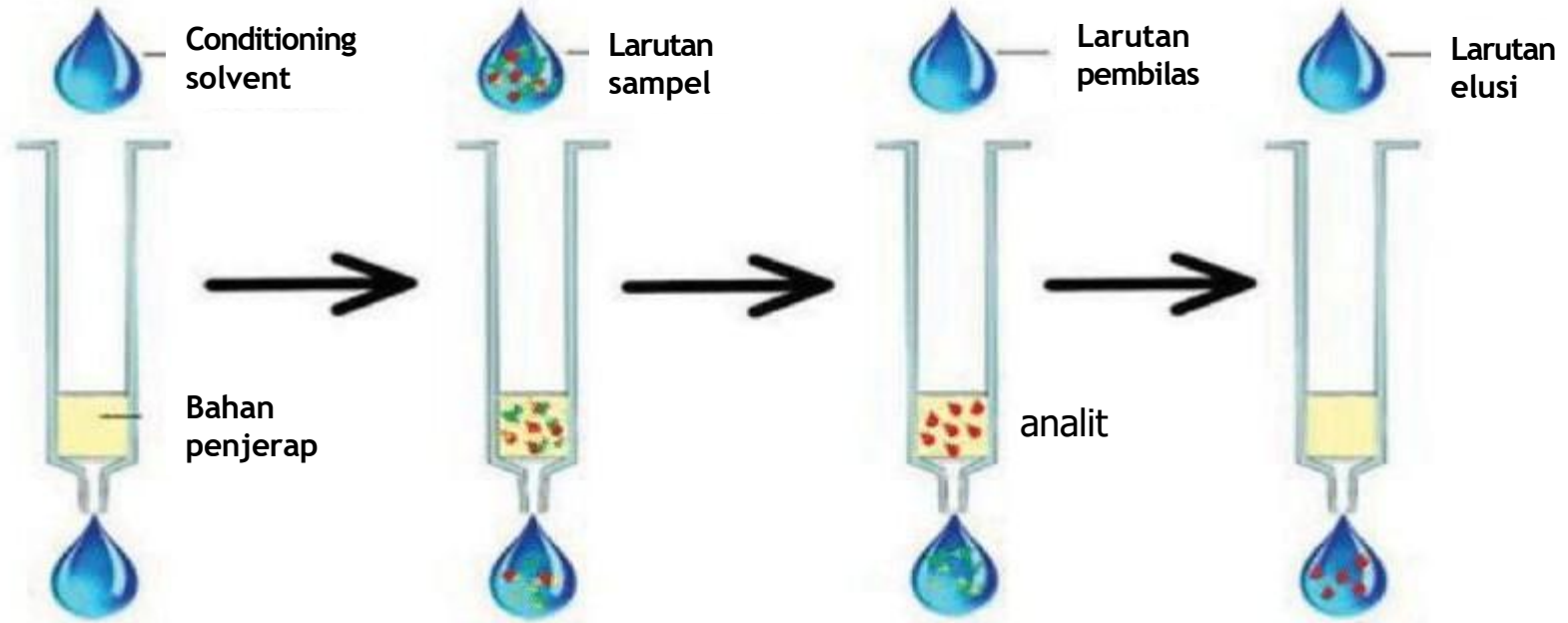
analit ditangkap oleh penjerap, matriks/interferen dibiarkan lolos



Trapping

matriks/interferen ditangkap oleh penjerap, analit dibiarkan lolos

Apa kelebihan SPE dibandingkan LLE?



Conditioning

Menggunakan solven yang akan digunakan untuk memperlakukan matriks

Loading

Washing

Dibilas dengan 100% H_2O untuk menghilangkan senyawa yang tidak tertangkap oleh penjerap

Elution

Menggunakan solven organik atau dapor

Penyimpanan

Sampel yang dikumpulkan mengalami kondisi yang berbeda dari kondisi awalnya



Harus tetap representatif sampai analisis selesai dilakukan



Teknik penyimpanan yang tepat

Cegah kontaminasi



Table 1.2. Figures of Merit for Instruments or Analytical Methods

No.	Parameter	Definition
1	Accuracy	Deviation from true value
2	Precision	Reproducibility of replicate measurements
3	Sensitivity	Ability to discriminate between small differences in concentration
4	Detection limit	Lowest measurable concentration
5	Linear dynamic range	Linear range of the calibration curve
6	Selectivity	Ability to distinguish the analyte from interferences
7	Speed of analysis	Time needed for sample preparation and analysis
8	Throughput	Number of samples that can be run in a given time period
9	Ease of automation	How well the system can be automated
10	Ruggedness	Durability of measurement, ability to handle adverse conditions
11	Portability	Ability to move instrument around
12	Greenness	Ecoefficiency in terms of waste generation and energy consumption
13	Cost	Equipment cost + cost of supplies + labor cost

To err is human, to forgive, divine

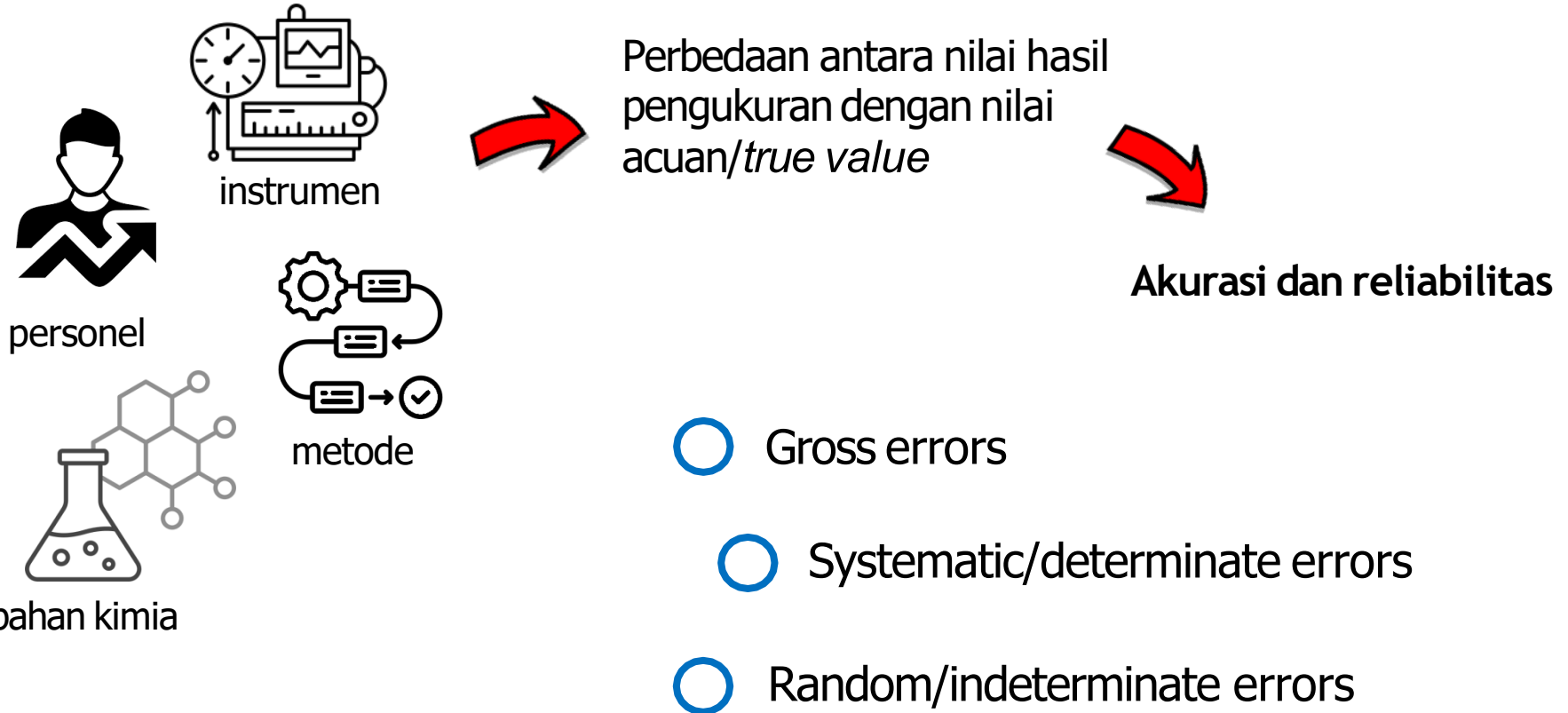
but



**let's fix and
minimise it**

Error

errare (Latin): *to stray*



Kesalahan besar

Gross error

- Berdampak fatal
- Mudah dideteksi
kesalahan personel atau kesalahan/kegagalan instrumen
- Solusi: ulangi eksperimen



Kesalahan sistematis bias

▶ menyebabkan *deviasi* dari *true value* atau *nilai acuan*

- Berasal dari ketidaksempurnaan **instrumen** maupun **rancangan eksperimen**
- Tetap akan terulang dan bersifat konsisten (memiliki trend tertentu)
- Diidentifikasi dan dikoreksi melalui kalibrasi, validasi metode, penggunaan *standard reference*, blanko, dan perbandingan hasil analisis menggunakan 2 metode yang berbeda

Beberapa mahasiswa melakukan pengukuran pH dari larutan. Sebelumnya telah dilakukan kalibrasi menggunakan dapar kalibrasi pH 7,00 dan didapatkan hasil yang sesuai.



namun

- ▶ Ketika digunakan untuk mengukur pH larutan asam (4,00), hasil yang muncul 4,20
- ▶ Ketika digunakan untuk mengukur pH larutan basa (10,00), hasil yang muncul 9,80

Sarankan solusi untuk mengatasi hal tersebut

Kesalahan acak



*berdampak pada **presisi** pengukuran*

- Selalu muncul, tidak ada trend teratur, dan tidak dapat dihilangkan
- Berasal dari variabel yang tidak dapat dikendalikan maupun bisa jadi dikendalikan selama pengukuran
- Dikurangi kejadiannya melalui penambahan jumlah replikasi pengukuran, pengendalian ketat proses dan kondisi lingkungan



STUDI KASUS

Seorang mahasiswa sedang menentukan kadar suatu asam organik menggunakan metode titrasi dengan larutan natrium hidroksida (NaOH) yang telah distandarisasi. Larutan asam yang sama dititrasi tiga kali

Hasil titrasi adalah 24,55 mL; 24,60 mL; 24,50 mL

Apa yang terjadi?

Apakah itu problem?

Bagaimana cara mengatasinya?



Sebuah peneliti menganalisis kadar timbal (Pb) dalam sampel tanah dari suatu lahan pertanian menggunakan spektrofotometer serapan atom. Mereka mengumpulkan 10 sampel dari lokasi yang berbeda.

Diketahui bahwa tidak ada sampel yang menunjukkan hasil yang sama (2,50; 2,47; 2,55; 2,50; 2,48; 2,52; 2,53; 2,49; 2,52; dan 2,50 ppb)



Apa yang terjadi?

Apakah itu problem?

Bagaimana cara mengatasinya?



Terima
Kasih



desyayuirma@gmail.com



082226572949

KULIAH 3

Kimia Analisis



**STIKES
NOTOKUSUMO
YOGYAKARTA**

PROFESIONAL, TERAMPIL, CERDAS, BERETIKA

Dasar-Dasar Pengukuran pada Kimia Analisis

Desy Ayu Irma P., M.Pharm.Sci.

Luaran Pembelajaran

1

Memahami prinsip rasio dalam hitungan kimia

2

Memahami aturan angka penting dan pembulatan

3

Mampu menyajikan hasil pengukuran dengan tepat

Mampu menganalisis kesalahan, menganalisis dan mengolah data analitik hasil pengujian, menyajikan data hasil pengukuran dan mengevaluasi metode analisis.

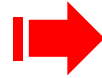


Fundamental

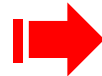


0,2 M

Dipipet 5,0 mL
berapa konsentrasi
yang terambil?



Dituang 2 mL berapa
konsentrasi yang
terambil?



Rasio

Menyatakan perbandingan *bagian sesuatu* terhadap *total*



Per **sen**

Per **mil**

Part(s) per **million**

Part(s) per **billion**

Karena bersifat *relatif*,
bisa dinyatakan dengan
banyak cara



$$\frac{2}{5} \text{ semakna dengan}$$

$$\frac{40}{100} \text{ semakna dengan}$$

40%

$$\frac{400000}{1000000} \text{ ppm}$$

Prinsip penting

Keterbatasan alat ukur
(sensitivitas) dan error dalam
melakukan pengukuran



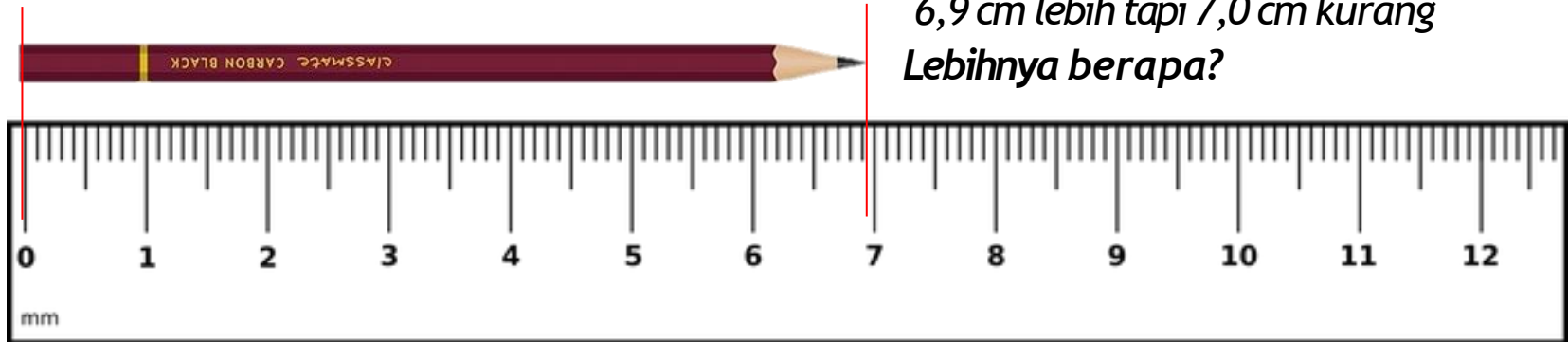
tidak ada pengukuran yang
sempurna



ketidakpastian (*uncertainty*)

Ketidakpastian dalam pengukuran penting
untuk dilaporkan sebagai bentuk

integritas ilmiah



6,9 cm lebih tapi 7,0 cm kurang
Lebihnya berapa?

Ketidakpastian

- ▶ Keraguan terhadap nilai atau rentang ($\pm$) nilai dari hasil pengukuran
- ▶ Mengkuantifikasi tingkat kepercayaan terhadap akurasi dan presisi pengukuran
- ▶ Dinyatakan dengan angka penting/**significant figures**.

contoh: Suatu neraca menunjukkan angka 12,3**4** g menunjukkan ada ketidakpastian pada digit kedua setelah desimal



Apa arti pentingnya?



Bukti integritas ilmiah

pengakuan keterbatasan proses pengukuran



Bentuk transparansi dan reliabilitas
pengukuran



Tidak boleh sembarangan memajang banyak angka di belakang koma

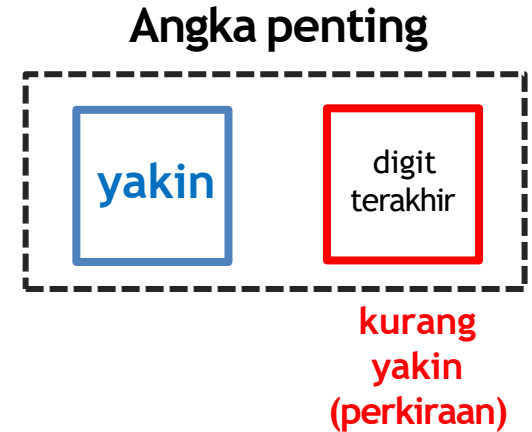
Kesalahan yang harus dihindari...

- ▶ **Berlebihan dalam melaporkan**
Instrumen hanya mampu mengukur 12,3 tapi dilaporkan 12,35 atau 12,345
- ▶ **Kurang teliti dalam melaporkan**
Instrumen menunjukkan hasil 12,30 tapi hanya dilaporkan 12,3
- ▶ **Tidak mengindahkan aturan pembulatan dalam perhitungan**

Angka penting

Digit penting (dicantumkan) dalam suatu angka yang menunjukkan presisi hasil pengukuran

- Indikator ketelitian pengukuran
- Mencegah *overclaim*
- Mendapatkan hasil perhitungan matematik yang realistis



$$1,427 \times 10^2 \quad \text{VS} \quad 1,4270 \times 10^2$$

Aturan

Digit

Nol

Bukan Nol *penting*

Diapit
bukan nol
penting

Persis di
kanan
atau kiri
koma
desimal
tidak penting

Tidak
persis di
kanan
atau kiri
koma
desimal
penting

106 (3 a.p.)

0,0106 (3 a.p.)

0,106 (3 a.p.)

0,1060 (4 a.p.)

Pembulatan

Lakukan ***hanya terhadap hasil akhir***, bukan hasil antara

Mencegah akumulasi error

Operasi matematika

Penjumlahan
dan
pengurangan

Bulatkan menuju angka yang paling kurang teliti (desimal paling sedikit)



Samakan terlebih dahulu eksponennya

Perkalian
dan
Pembagian

Bulatkan menuju angka dengan angka penting paling sedikit

$$1,021 + 2,69 = 3,711 \quad \times$$

$$4,34 \times 9,2 = 40 \quad \checkmark$$

$$\begin{aligned} &1.632 \times 10^5 \\ &+ 4.107 \times 10^3 \\ &+ 0.984 \times 10^6 \end{aligned}$$

?



**Dibulatkan
kemana?**

Perhatikan **semua digit** yang ada setelah digit terakhir yang kita inginkan sebagai **pemberhentian**

Yang menjadi patokan adalah perjalanan menuju digit berikutnya, bukan semata masalah >5 atau <5

121,79**4**8  121,795

121,79**4**2  121,794

121,79**4**5  ? *Jika angka terakhir tepat setengah jalan menuju digit berikutnya, bulatkan ke digit genap terdekat*

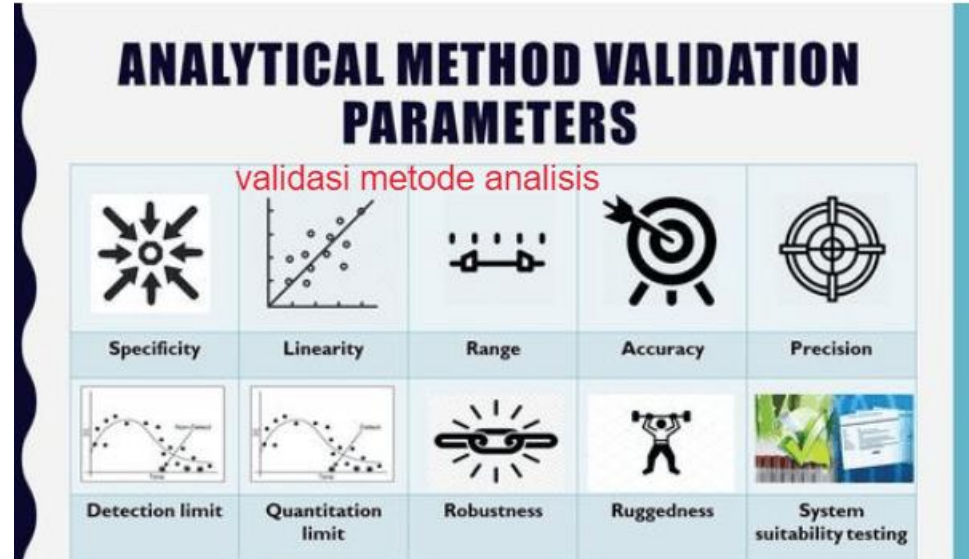
1,4**2**501  ?

*Petunjuk: 1,4**2**501 di antara 1,4**2** dan 1,4**3***

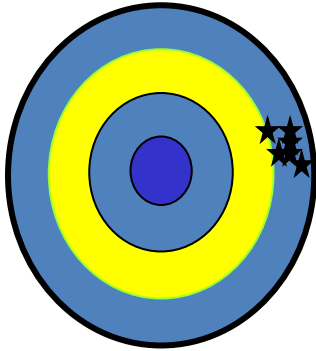
EVALUASI METODE ANALISIS

Serangkaian percobaan laboratorium untuk menunjukkan bahwa metode yang dipakai telah memenuhi beberapa persyaratan yang telah ditetapkan lebih dahulu

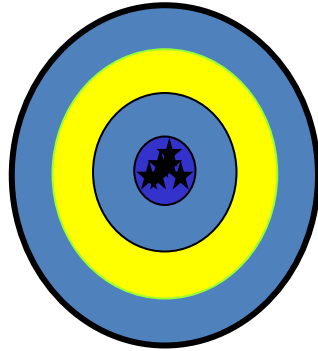
Merupakan sub bagian dari validasi proses



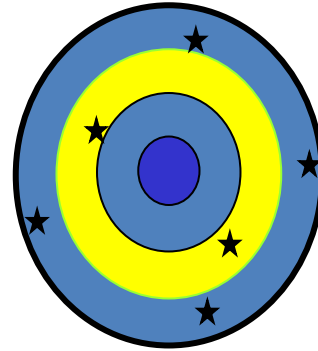
Akurasi dan Presisi Metode



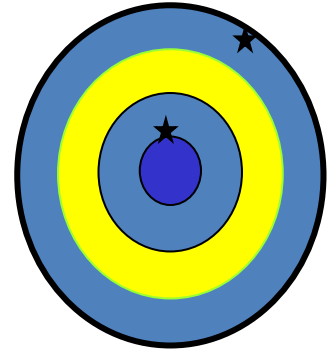
Akurasi
rendah
Presisi
tinggi



Akurasi
tinggi
Presisi
tinggi



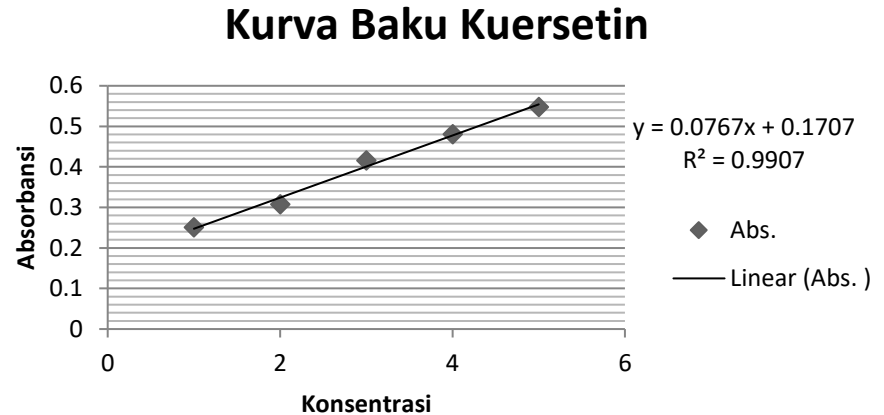
Akurasi
tinggi
Presisi
rendah



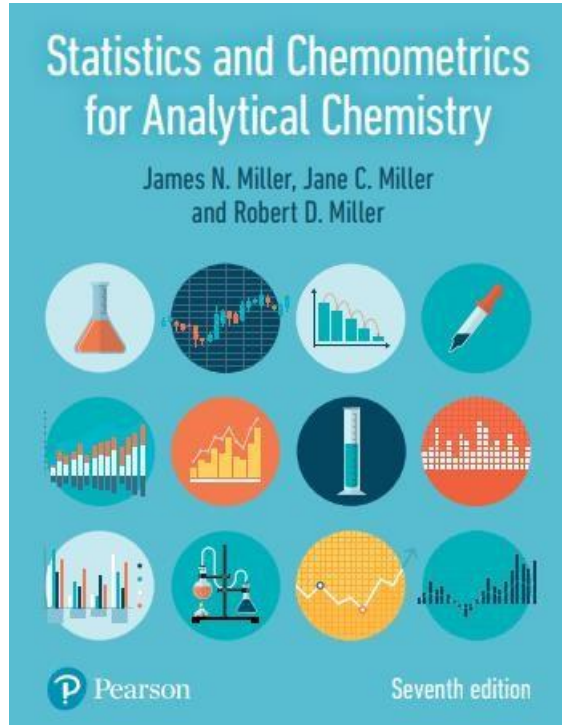
Akurasi
rendah
Presisi
rendah

LINEARITAS

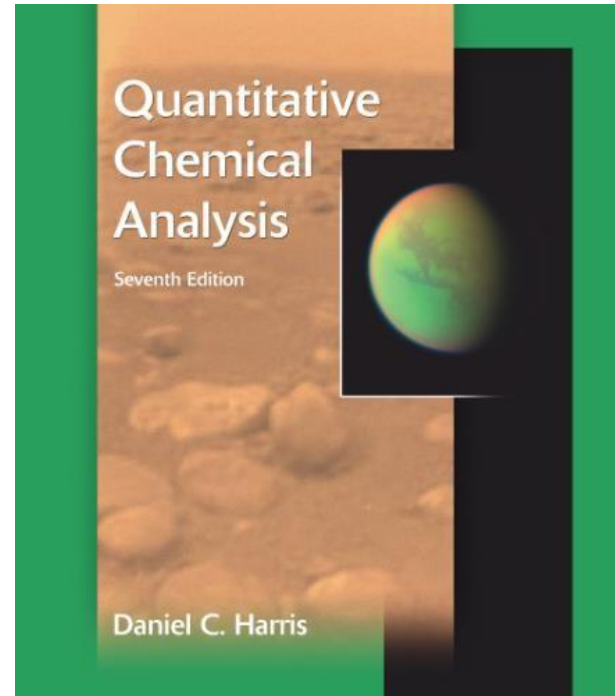
Melalui analisis statistik Linear
Regression ($y = mx + b$)
Correlation Coefficient, y-intercept (b),
slope (m), residual sum of squares
Disarankan menggunakan minimum 5
macam konsentrasi analit
Dilakukan terhadap sampel yang
independen, bukan dari sampel
hasil pengenceran



Bacaan lebih lanjut...



Chapter 2: Statistics of repeated measurements



Chapter 1 dan 3: Measurements, Experimental Error

terima
kasih

M desyayuirma@gmail.com



082226572949

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

VOLUMETRI

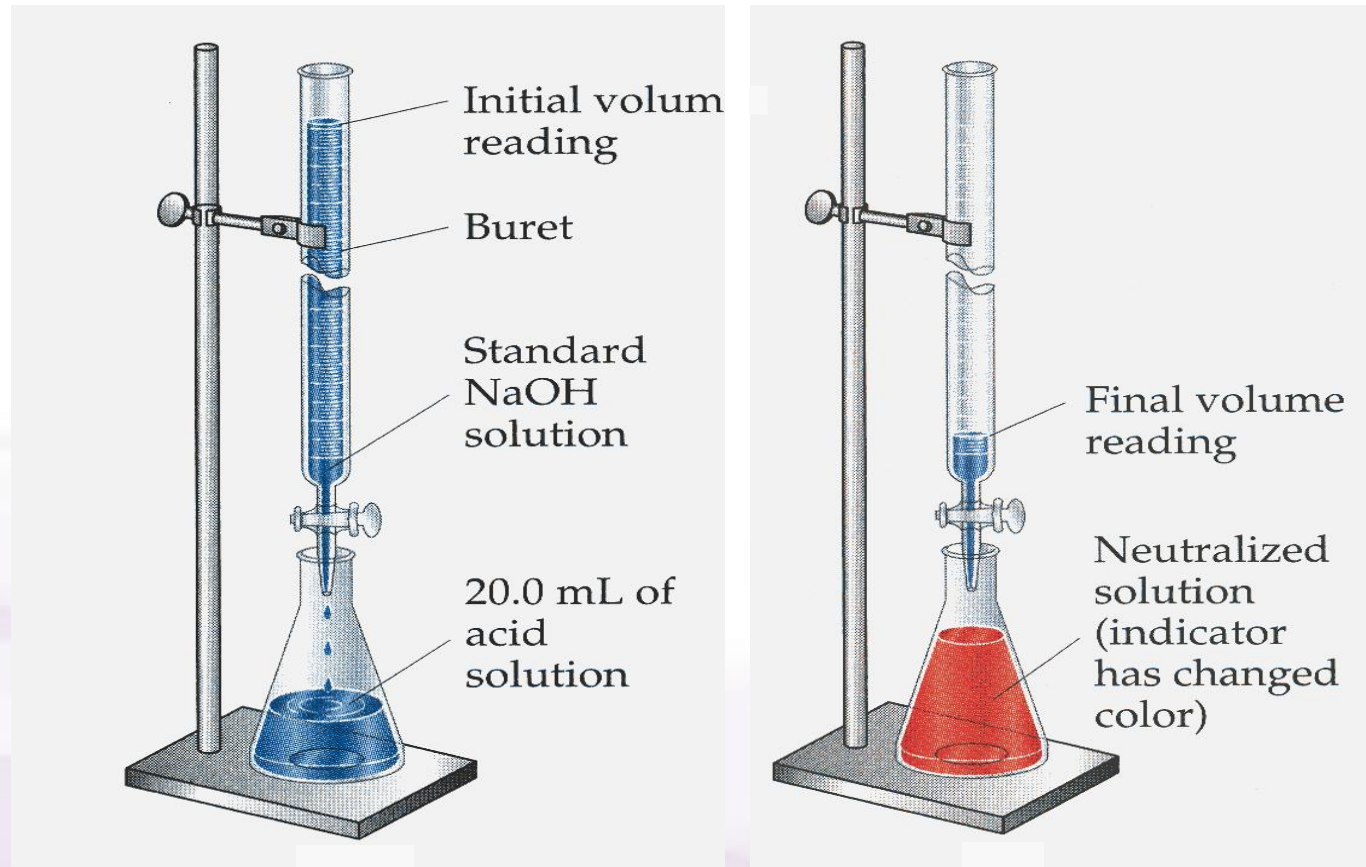
Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.

Beberapa METODE TITRASI yang relevan dalam ANALISIS KIMIA OBAT.

- TITRASI ASAM BASA
- TITRASI BEBAS AIR
- TITRASI REDOKS
 - TITRASI PERMANGANOMETRI
 - TITRASI IODOMETRI IODIMETRI
- TITRASI ARGENTOMETRI
- TITRASI KOMPLEKSOMETRI
- TITRASI POTENSIOMETRI

Pengantar

- ⑩ Dasar Pembagian met. Volumetri : jenis reaksi kimia antara larutan standar dengan analit



Jenis Volumetri

- Netralisasi (asidi-alkalimetri) : reaksi asam basa
- Redoksimetri : reaksi oksidasi-reduksi (misal: Permanganometri, Iodimetri, Iodometri)
- Kompleksometri : reaksi pembentukan senyawa kompleks
- Presipitimetri: reaksi pembentukan endapan (misal: Argentometri)

TITRASI

Titration: measuring the volume of titrant that reacts with the analyte/sample.

Accuracy/Precision is influenced by the accuracy of the volume that reacts.

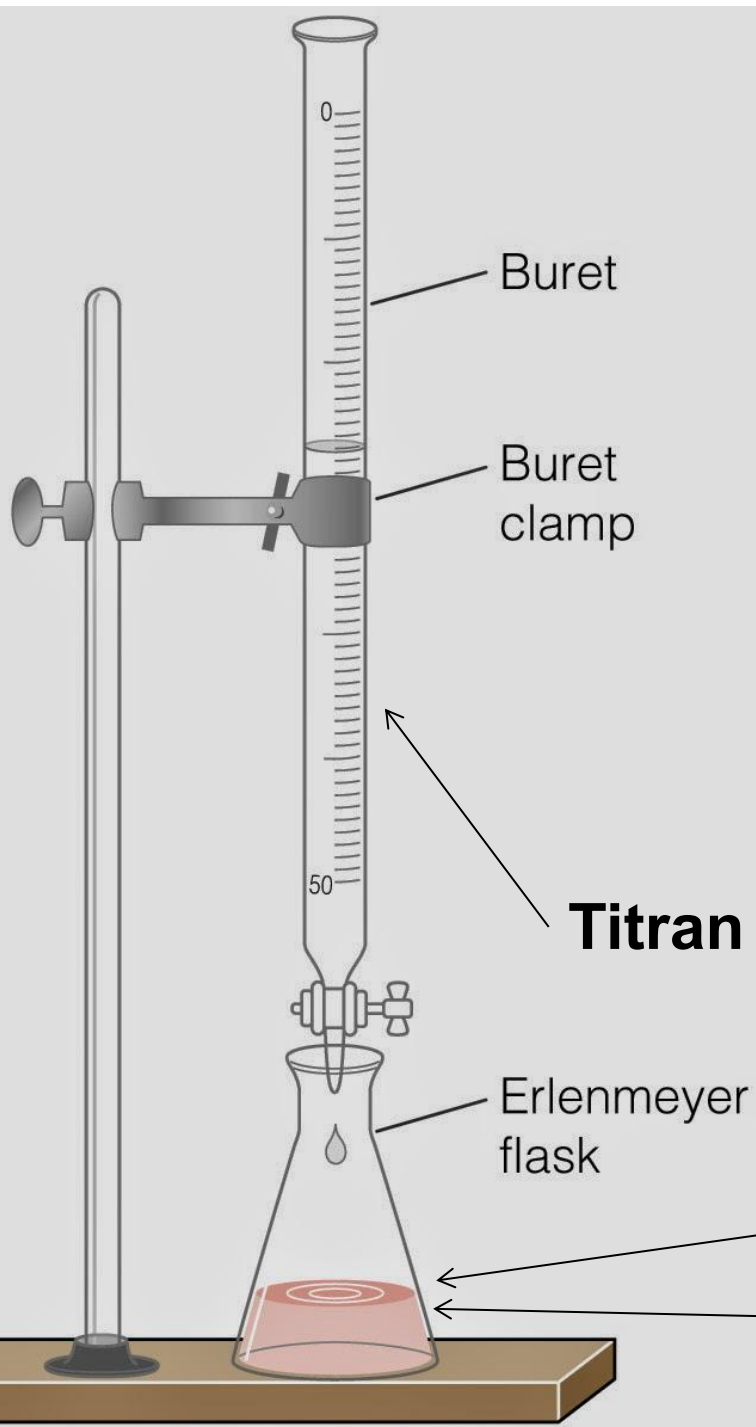
Accuracy/Precision is influenced by the number of volume changes in the analysis.

Therefore, titration is performed on the principle that it is done with **drop by drop** titrant on the analyte. Each drop must be measured and accurate at the end of the reaction, so that accuracy and precision are good.

Excess drops of titrant, meaning the volume is too much, which causes the analysis to be less accurate.

Sampel/analit

Added a few drops of indicator to show the end point of the reaction.



PERHITUNGAN DASAR PADA TITRASI

Mol ekuivalen **analit** = Mol ekuivalen **titran**

$$\frac{\text{massa analit}}{BE \text{ analit}} = \text{normalitas} \times \text{volume titran}$$

$$\text{massa analit} = \text{normalitas} \times \text{vol titran} \times BE \text{ analit}$$

$$\% \text{ massa analit} = \frac{\text{normalitas} \times \text{vol titran} \times BE \text{ analit}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

- Konsentrasi titran biasa dinyatakan dalam N (normalitas)

- $N = \text{mol ekuivalen/L.} \quad N = \frac{\text{moleq}}{\text{volume}} = \frac{\text{moleq}}{\text{Liter}}$

- $\text{mol ekuivalen} = \text{gram} / BE$
- $BE = BM / \text{valensi}$

$$\text{moleq} = \frac{\text{massa(gram)}}{BE}$$

TITRASI

- Titrasi langsung: metode di mana titran standar bereaksi langsung dengan analit hingga mencapai titik akhir.
- Titrasi tidak langsung (titrasi balik): melibatkan penambahan reagen berlebih yang diketahui konsentrasinya ke dalam sampel, lalu sisa reagen yang tidak bereaksi dititrasi dengan titran kedua.

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI ASAM BASA

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi asam basa.

TITRASI ASAM BASA

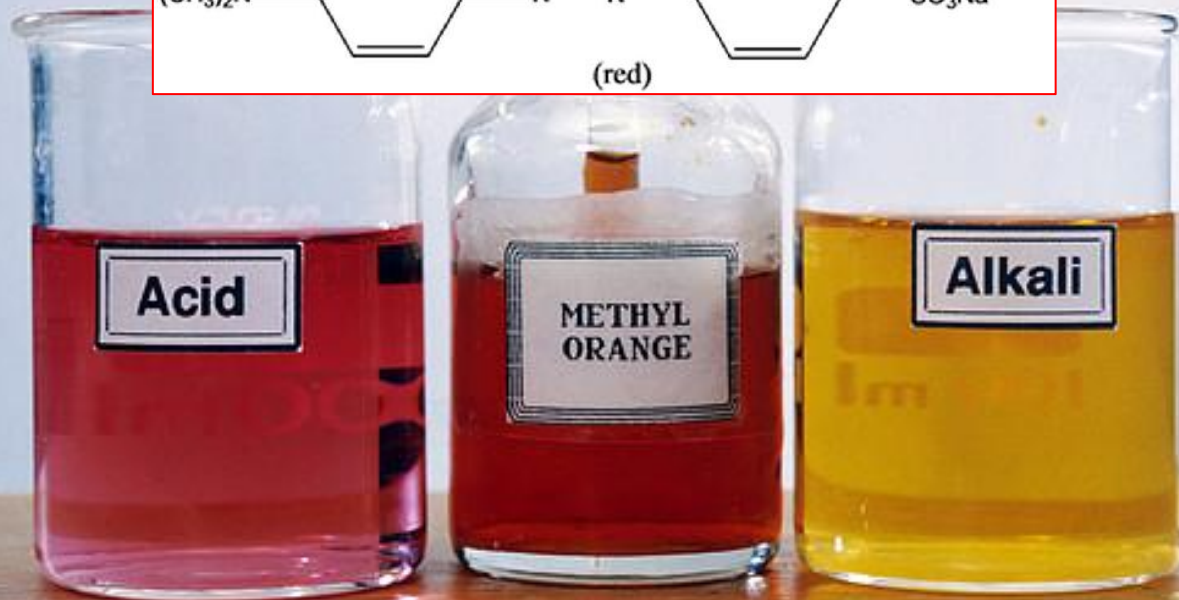
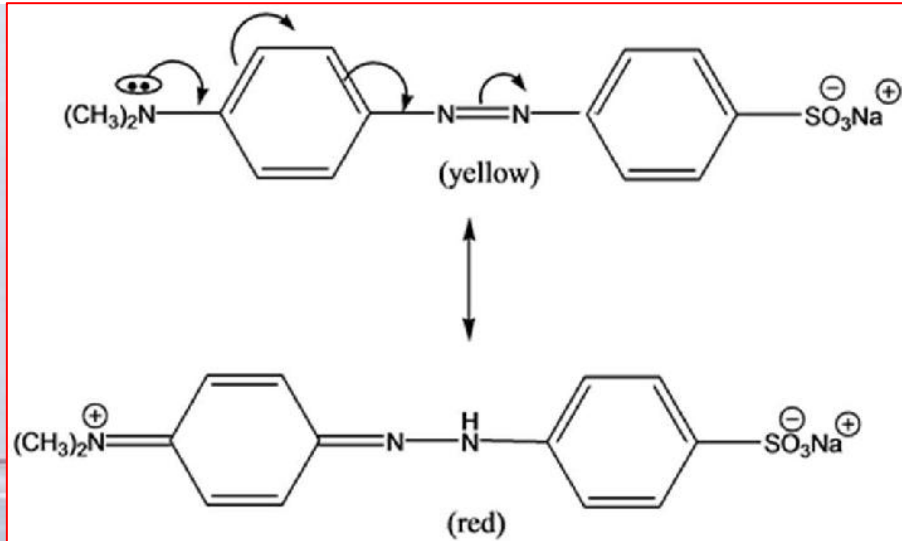
- **Asidimetri** : Titrasi asam- basa dimana yang bertindak sebagai **larutan standar adalah asam kuat**.
- **Alkalimetri** : Titrasi asam- basa dimana yang bertindak sebagai **larutan standar adalah Basa kuat**.

Faktor yang mempengaruhi titrasi

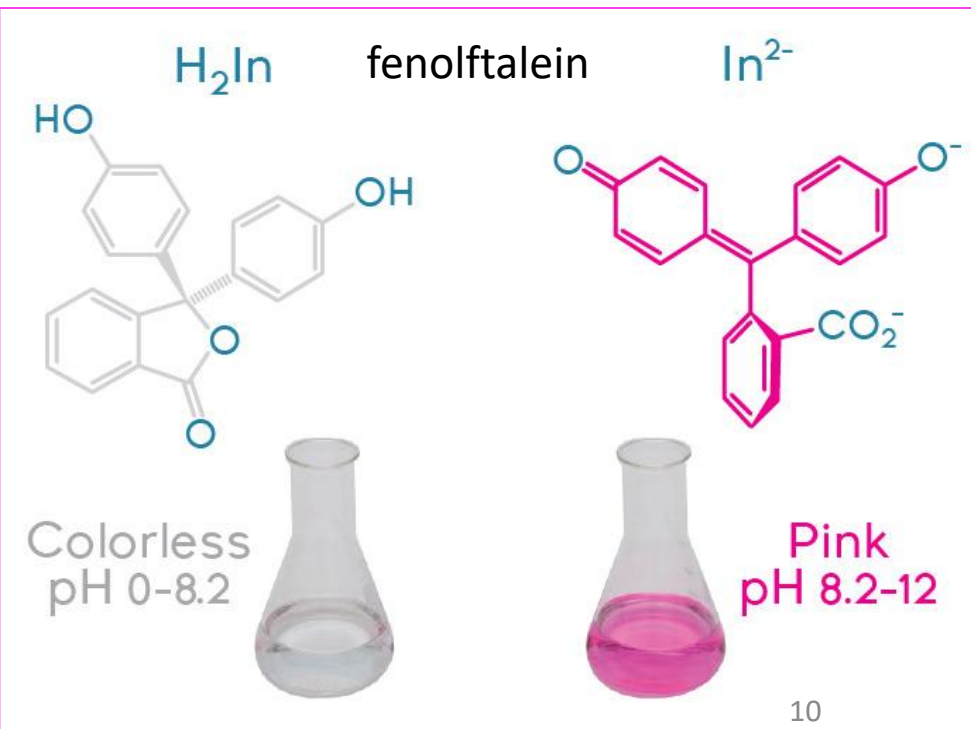
- **Konsentrasi analit dan titrant**: makin besar konsentrasinya, maka perubahan pH dalam daerah titik ekuivalent makin besar sehingga makin mudah menentukan indikator yg sesuai.
- **Kekuatan asam lemah atau basa lemah**: kesempurnaan reaksi pada asam / basa lemah dengan basa / asam kuat ditentukan oleh harga K_a atau K_b analit. Makin besar harga K_a atau K_b maka reaksi makin besar daerah perubahan pH pada titik ekuivalent, sehingga makin menentukan indikator yang sesuai.
- **Pemilihan indikator**: indikator yang digunakan perubahan pHnya harus berada pada daerah pH titik ekuivalen.

INDIKATOR ASAM DAN BASA

Indikator adalah zat yang dapat memberikan warna yang berbeda dalam larutan yang bersifat asam maupun basa



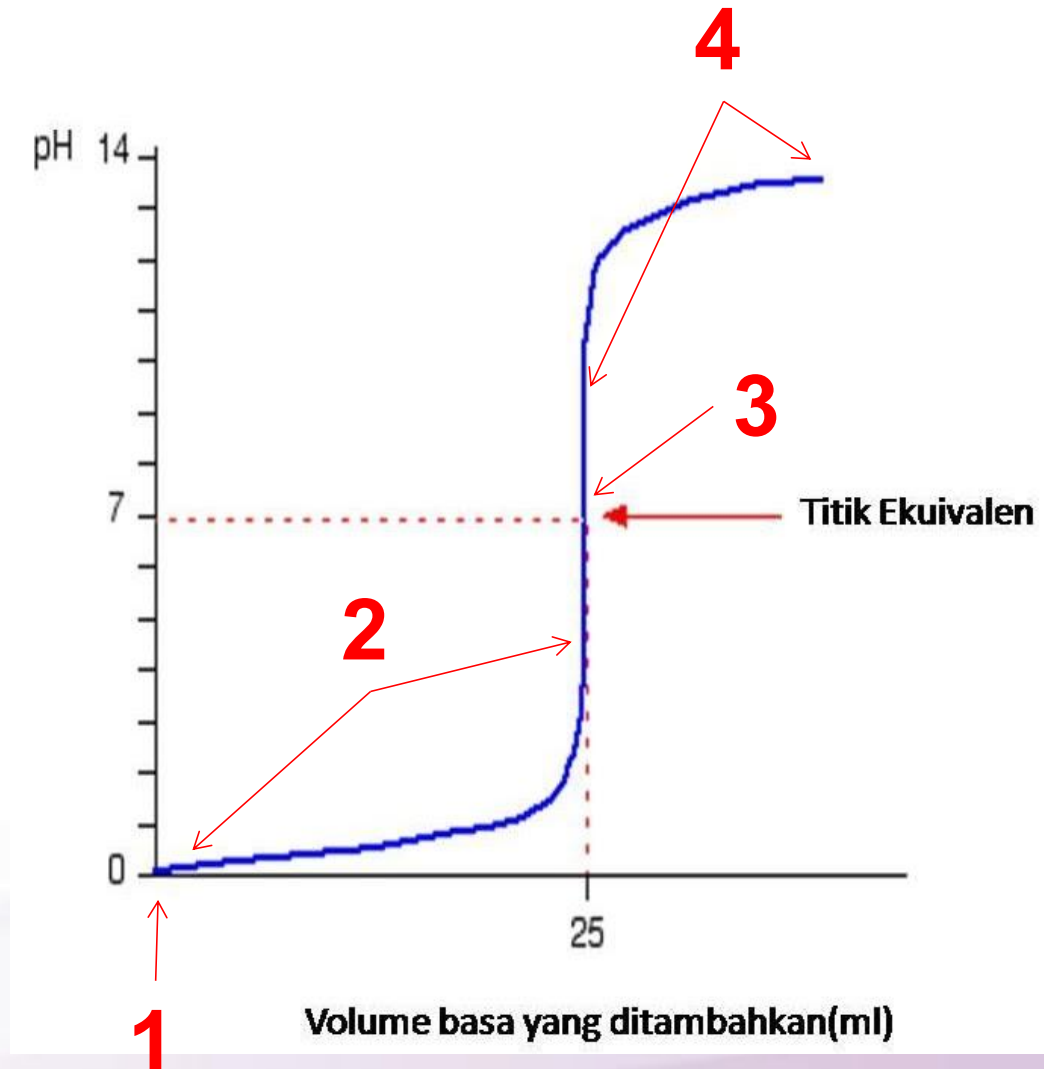
Indikator	Trayek pH	Perubahan Warna
Lakmus	5,5 – 8,0	merah – biru
Metil jingga	2,9 – 4,0	merah – kuning
Metil merah	4,2 – 6,3	merah – kuning
BTB	6,0 – 7,6	kuning – biru
Fenolftalein	8,3 – 10	tak warna – merah



pH pada titrasi asam basa

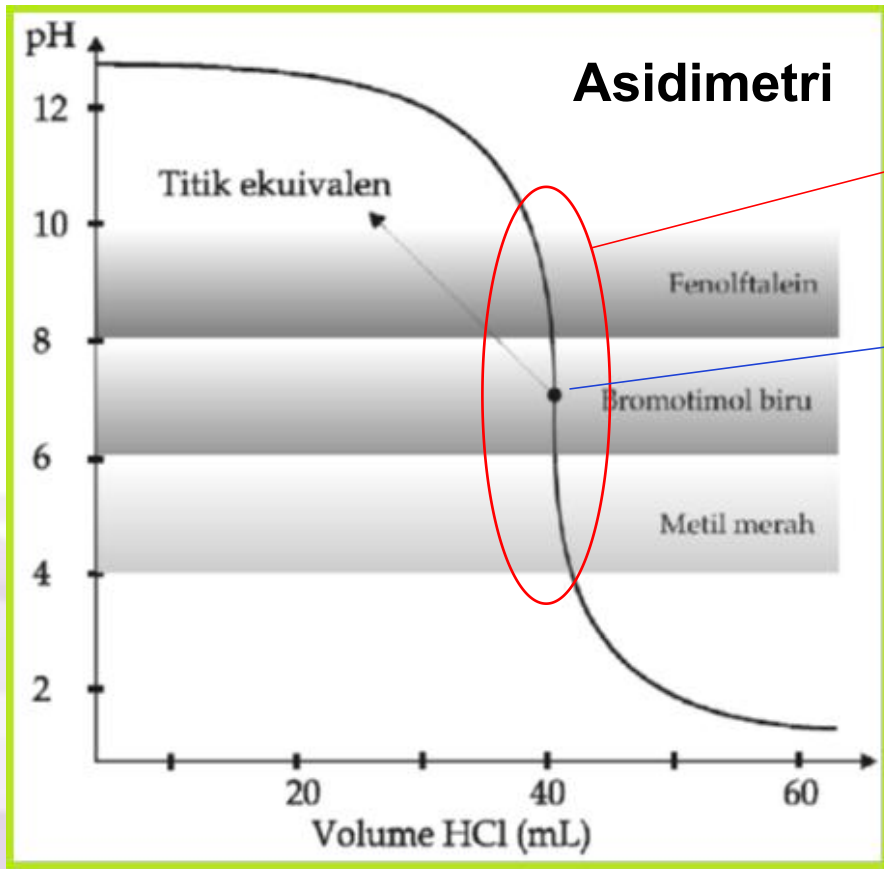
Ada 4 daerah perhitungan pH untuk titrasi asam basa yaitu:

1. **pH mula mula**: ditentukan dari konsentrasi analit.
2. **pH sebelum Titik Ekuivalen**: ditentukan dari setelah penambahan titran tetapi belum mencapai ekuivalen dgn analit.
3. **pH Titik Ekuivalen**: ditentukan saat titik ekuivalent tercapai.
4. **pH setelah Titik Ekuivalen**: ditentukan setelah kelebihan titran setelah mencapai titik ekuivalent.



KURVA TITRASI ASAM BASA

- Kurva titrasi asam basa biasa disajikan sbg hubungan volume titran (sumbu x), dan pH (sumbu y).



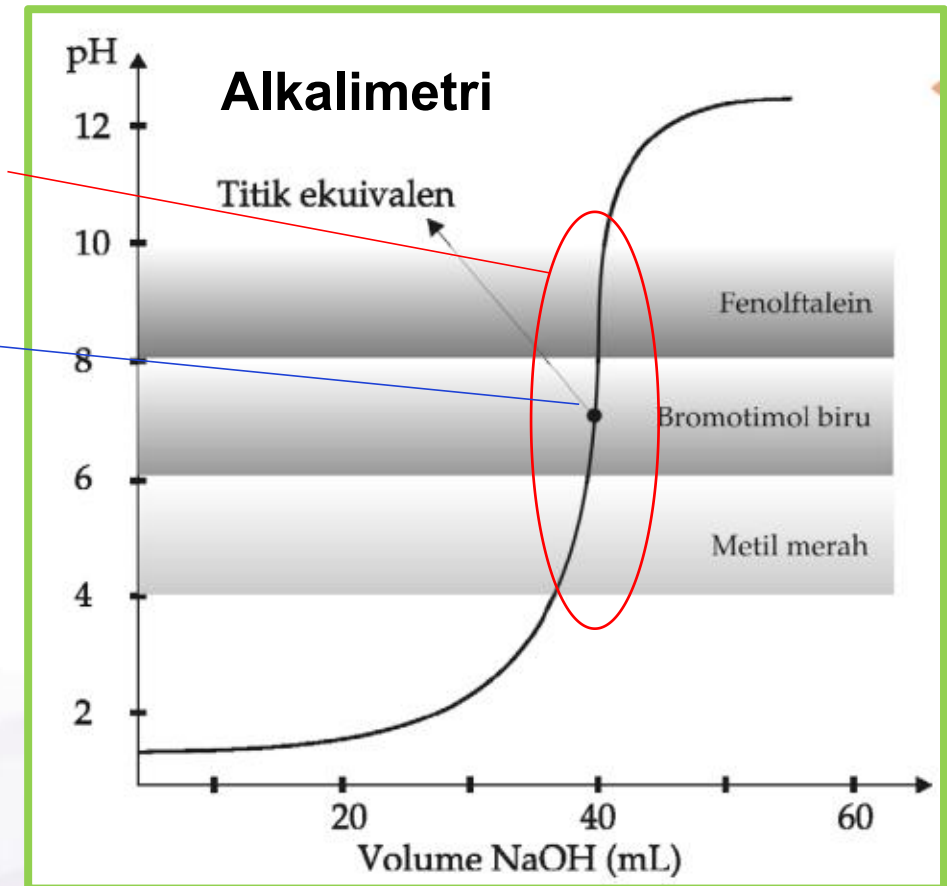
Analit basa ($\text{pH} >$), dititrasi dengan asam kuat, pH turun dengan pola sigmoid.

daerah perubahan pH drastis dengan penambahan sedikit titran

titik ekuivalen reaksi

pola kurva selalu berbentuk sigmoid, namun perubahan pH terhadap volume titran tergantung sifat asam/basa analit,

dan asam/basa titran

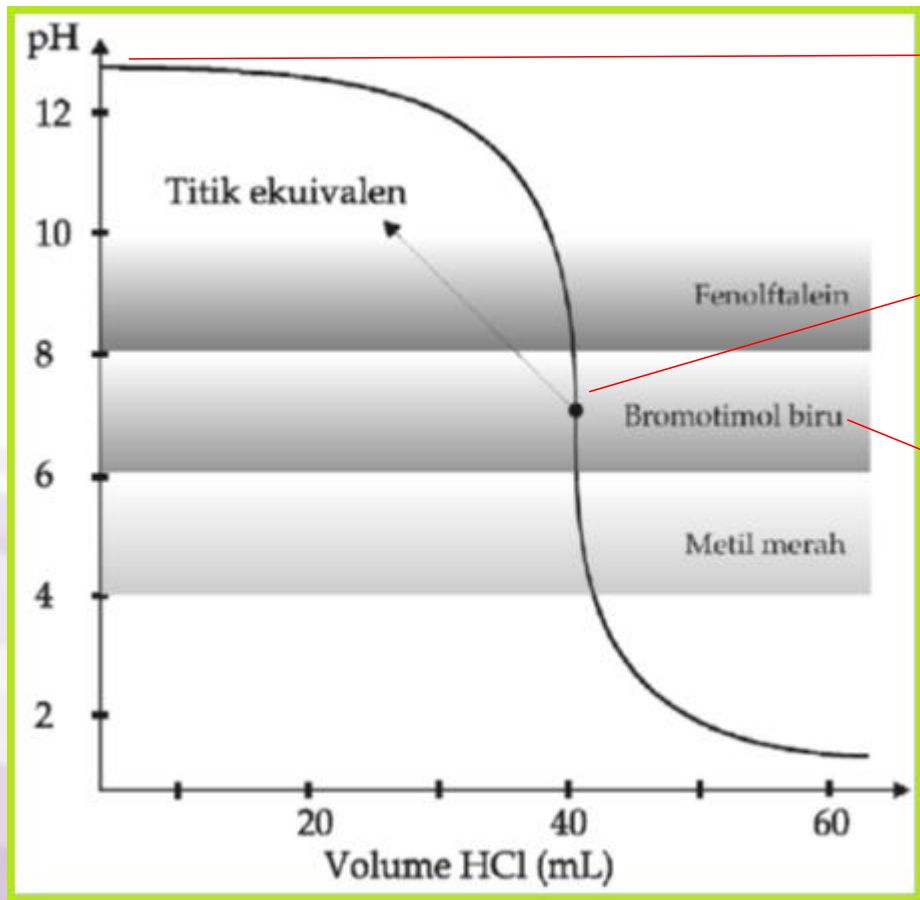


Analit asam ($\text{pH} <$), dititrasi dengan basa kuat, pH naik dengan pola sigmoid.¹²

pola kurva selalu berbentuk sigmoid, namun perubahan pH terhadap volume titran tergantung sifat asam/basa analit, dan asam/basa titran

Contoh kurva analit 40 mL NaOH 0,1 M
dititrasi dengan HCl 0,1 M

Analit **basa kuat** dan titran **asam kuat** →
netralisasi, titik akhir di sekitar pH netral



pH awal analit

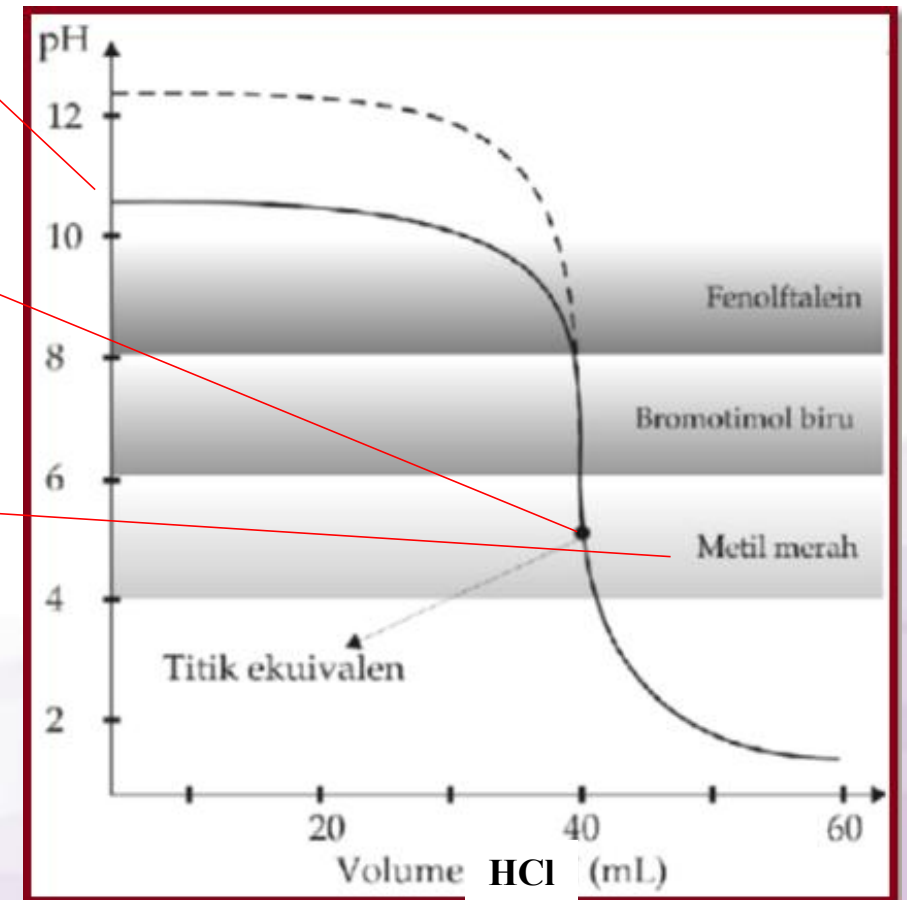
titik ekuivalen

indikator

pilih indikator sesuai
trayek pH titik ekuivalen

Contoh kurva analit 50 mL NH_4OH 0,1 M
dititrasi dengan HCl 0,1 M

Analit **basa lemah** dan titran **asam kuat** → titik akhir pH relatif asam < 7.



titrasi asam basa

pertimbangan pemilihan indikator titrasi

Analit	Titran	pH titik akhir	hitung pH
Basa kuat	Asam kuat	pH netral	mol asam kuat = mol basa kuat $[H_3O^+] = (\text{mol asam kuat}) / \text{Vol. total}$ $[OH^-] = (\text{mol basa kuat}) / \text{Vol. total}$ $pOH = -\log [OH^-]$ $pH = 14 - pOH$
Basa lemah	Asam kuat	pH asam, < 7	mol basa lemah = mol asam kuat $[H_3O^+] = \sqrt{\frac{K_w}{K_b} \times [garam]}$ $pH = -\log [H_3O^+]$
Asam kuat	Basa kuat	pH netral	mol asam kuat = mol basa kuat $[H_3O^+] = (\text{mol asam kuat}) / \text{Vol. total}$ $[OH^-] = (\text{mol basa kuat}) / \text{Vol. total}$ $pH = -\log [H_3O^+]$
Asam lemah	Basa kuat	pH basa, > 7	mol asam lemah = mol basa kuat $[OH^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \times [garam]}$ $pOH = -\log [OH^-]$ $pH = 14 - pOH$

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI BEBAS AIR

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi bebas air atau menggunakan solven organik.

NON AQUEOUS TITRATION

- Titrasi bebas air: titrasi yang tidak menggunakan pelarut air, digunakan untuk analit yang memiliki kelarutan rendah dalam air.
- Digunakan solven non-aqueous, misal: metanol, etanol, asam asetat glasial, metil isobutil keton.

Titration with water:

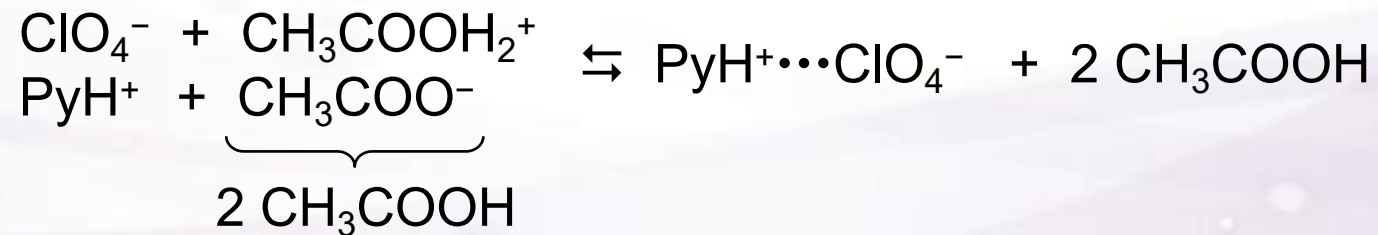
- Keuntungan: murah, tersedia melimpah.
- Kekurangan: senyawa semi-polar dan non-polar sukar/tidak larut.
- Maka, alternatif dengan TBA (titration bebas air) untuk senyawa/analit yang sukar/tak larut air.

klasifikasi pelarut/solven

- Berdasar kemampuan disosiasi:
 - Dapat terdisosiasi, misal: air, asam asetat.
 - Tidak dapat terdisosiasi, misal: eter, kloroform (CHCl_3), karbon tetraklorida (CCl_4), benzen, toluen.
- Berdasar karakter keasaman/kebasaan:
 1. Protogenik (menghasilkan proton H^+), misal: HCl , HNO_3 , H_2SO_4
 2. Protofilik (menangkap proton), misal: etilen diamin, piridin.
 3. Ampiprotik (dapat menghasilkan dan menangkap proton), misal: air (H_2O), metanol (CH_3OH), asam asetat (CH_3COOH), amonia (NH_3).
 4. Aprotik (tidak dapat menghasilkan/menangkap proton), misal: SO_2 cair.

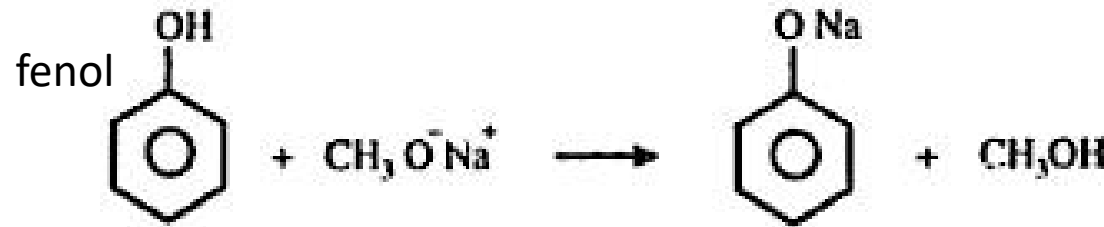
Contoh reaksi dalam medium non-air

- Pada umumnya menggunakan persamaan **Brönsted**.
- Reaksi berlangsung melalui reaksi asam atau basa dengan pelarut organik.
- Contoh
- $\text{HClO}_4 + \text{pyridine (Py)}$ dalam asam asetat glasial
- $K = [\text{CH}_3\text{COOH}_2^+][\text{CH}_3\text{COO}^-] = 10^{-13}$



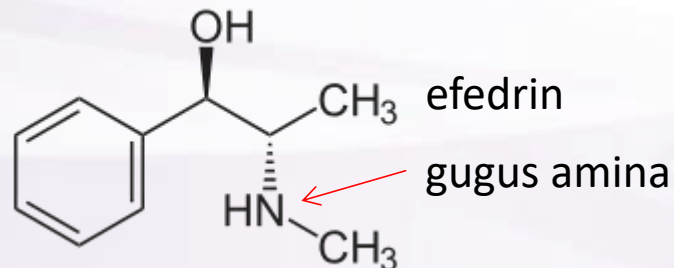
Contoh TBA

- Asam lemah/garam dari asam lemah,
 - Menggunakan pelarut protofilik/basa
 - Disosiasi meningkat
 - Contoh: analit **Fenol** yang merupakan asam lemah, dilarutkan dalam piridin sehingga bisa berdisosiasi dengan sempurna. Dititrasi dengan metoksida atau Na-metoksida.



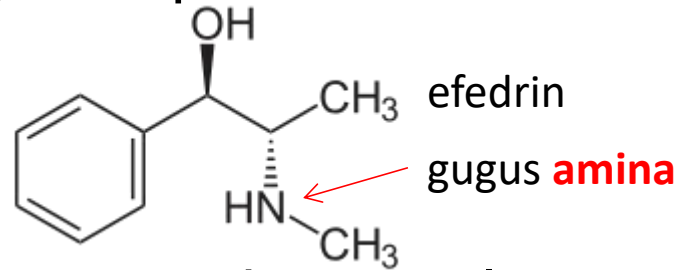
Coba identifikasi dari reaksi di samping, mana yang bersifat asam dan mana yang merupakan basa?

- Basa lemah/garam dari basa lemah
 - Menggunakan pelarut protogenik/asam
 - Disosiasi meningkat
 - Contoh: **Efedrin** yang merupakan basa lemah dititrasi menggunakan asam perklorat.

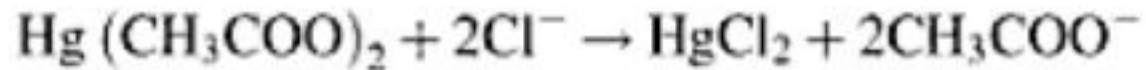


Contoh TBA

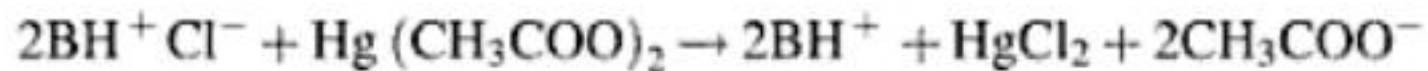
- Contoh: **Efedrin** yang merupakan basa lemah dititrasi menggunakan asam perklorat.



- Amina tidak dapat terprotonasi secara langsung dengan asam kuat. Sampel harus diperlakukan dengan merkuri asetat terlebih dahulu sebelum dititrasi. Merkuri asetat akan bereaksi dengan ion klorida membentuk kompleks merkuri klorida.



- Ion asetat selanjutnya dititrasi dengan asam perklorat yang dalam hal ini asetat dititrasi dengan asam asetat terprotonasi di dalam larutan asam perklorat. Reaksi secara keseluruhan adalah:



garam dari basa lemah
garam HCl dari efedrin



KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI REDOKS

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi.

TITRASI REDUKSI OKSIDASI (REDOKS)

- Titrasi redoks: titrasi yang dilakukan dengan prinsip reaksi oksidasi-reduksi antara analit dengan titran.

Contoh:

- Titrasi **Permanganometri**: titrasi dengan senyawa permanganat (KMnO_4) sebagai titran, digunakan untuk menetapkan kadar senyawa/analit yang bersifat sebagai reduktor.
- Titrasi **Iodometri**: titrasi dengan prinsip reaksi ion iodida (I^-) sebagai reduktor.
- Titrasi **Iodimetri**: titrasi dengan prinsip reaksi iodium (I_2) digunakan sebagai oksidator.

TITRASI REDUKSI OKSIDASI (REDOKS)

- Perhitungan terkait titrasi redoks:
- Berat ekuivalen (BE) dalam titrasi redoks adalah berat dalam gram dari zat yang diperlukan untuk menyediakan atau bereaksi dengan 1 mol elektron dalam reaksi redoks.
- Valensi: jumlah elektron yg dilepas atau diikat
- $BE = \text{berat molekul atau ion} / \text{jumlah elektron yg dilepas atau diikat}$.

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

PERMANGANOMETRI

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi dengan titran senyawa permanganat.

PERMANGANOMETRI

- Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi dengan titran senyawa permanganat.
- KMnO_4 (kalium permanganat) merupakan oksidator kuat dan telah digunakan secara luas, mudah diperoleh dan tidak memerlukan indikator.
- *ingat kembali contoh reaksi redoks pada kuliah KFD semester 1, saat itu dipelajari kinetika-nya, saat ini dipelajari aplikasinya pd analisis kuantitatif.*
- Kalium permanganat dapat mengalami reaksi yang bermacam-macam, karena Mn dapat berada dalam keadaan dengan bilangan oksidasi +2, +3, +4, +6 dan +7.
- Reaksi dalam suasana sangat asam: MnO_4^- direduksi menjadi Mn^{2+}
$$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$$

PERMANGANOMETRI

- Reaksi dalam suasana asam sedang:



- ▶ Reaksi yang paling banyak dijumpai di laboratorium adalah reaksi yang berlangsung dalam suasana sangat asam.
- ▶ $\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e} \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4 \text{H}_2\text{O}$
- ▶ 1 mol MnO_4^- memerlukan 5 elektron, sehingga
- ▶ $\text{BE KMnO}_4 = \text{Mr KMnO}_4 / 5 = 1/5 \text{ BM KMnO}_4$



PERMANGANOMETRI

- Tidak perlu larutan indikator, karena KMnO_4 merupakan senyawa berwarna (ungu) yang dapat sekaligus menjadi indikator.



- Analit yang tidak berwarna, dititrasi dengan KMnO_4 .
- Selama reaksi: Analit mengalami oksidasi, KMnO_4 mengalami reduksi (kehilangan warna ungu). Campuran reaksi tidak berwarna.
- Reaksi berakhir saat tambahan setetes titran KMnO_4 tidak mengalami reduksi atau sudah tidak mengoksidasi analit, dan tetap berwarna ungu sehingga memberi warna pada campuran reaksi.

PERMANGANOMETRI

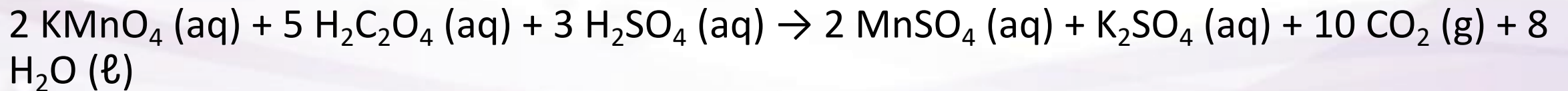
Contoh sampel/analit yang dapat dianalisis dengan permanganometri:

- Senyawaan besi (ferro / ferri): Besi (II) dapat ditentukan kadarnya dengan menggunakan titrasi permanganometri dalam larutan asam. Besi (III) juga dapat ditentukan kadarnya dengan titrasi permanganometri setelah direduksi menjadi besi (II). Titik akhir titrasi terjadi apabila terbentuk warna ungu muda yang konstan.

$$\text{Kadar Fe} = \frac{(V_{\text{KMnO}_4} \times N_{\text{KMnO}_4}) \times \text{BE}_{\text{Fe}}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

1 ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan 27,80 mg ferro sulfat

- Asam organik, seperti asam oksalat.



$$\text{Kadar Asam Oksalat} = \frac{(V_{\text{KMnO}_4} \times N_{\text{KMnO}_4}) \times \text{BE}_{\text{Asam Oksalat}}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

THE END

THANK YOU

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

VOLUMETRI

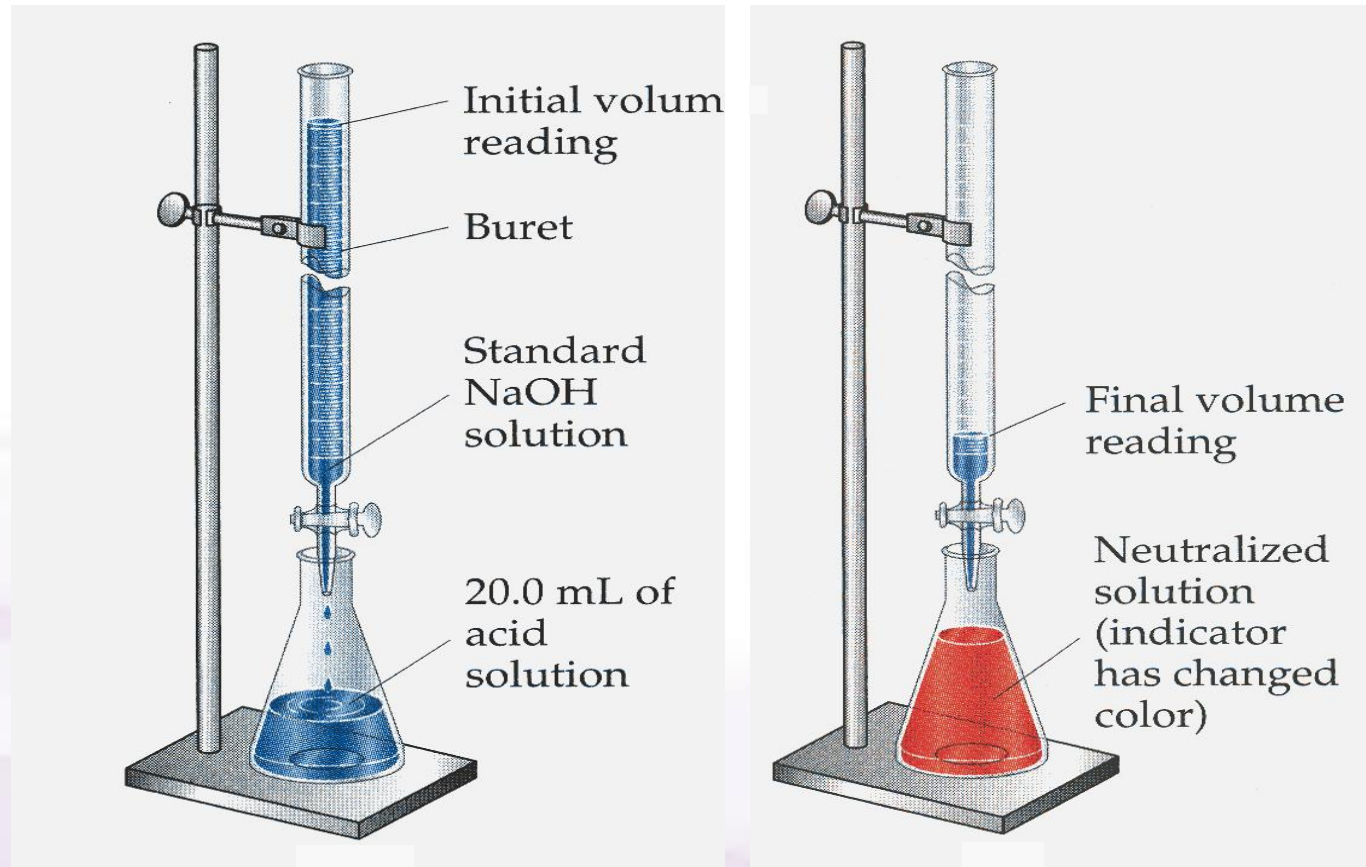
Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.

Beberapa METODE TITRASI yang relevan dalam ANALISIS KIMIA OBAT.

- TITRASI ASAM BASA
- TITRASI BEBAS AIR
- TITRASI REDOKS
 - TITRASI PERMANGANOMETRI
 - TITRASI IODOMETRI IODIMETRI
- TITRASI ARGENTOMETRI
- TITRASI KOMPLEKSOMETRI
- TITRASI POTENSIOMETRI

Pengantar

- ⑩ Dasar Pembagian met. Volumetri : jenis reaksi kimia antara larutan standar dengan analit



Jenis Volumetri

- Netralisasi (asidi-alkalimetri) : reaksi asam basa
- Redoksimetri : reaksi oksidasi-reduksi (misal: Permanganometri, Iodimetri, Iodometri)
- Kompleksometri : reaksi pembentukan senyawa kompleks
- Presipitimetri: reaksi pembentukan endapan (misal: Argentometri)

TITRASI

Titration: measuring the volume of titrant that reacts with the analyte/sample.

Accuracy/Precision is influenced by the accuracy of the volume that reacts.

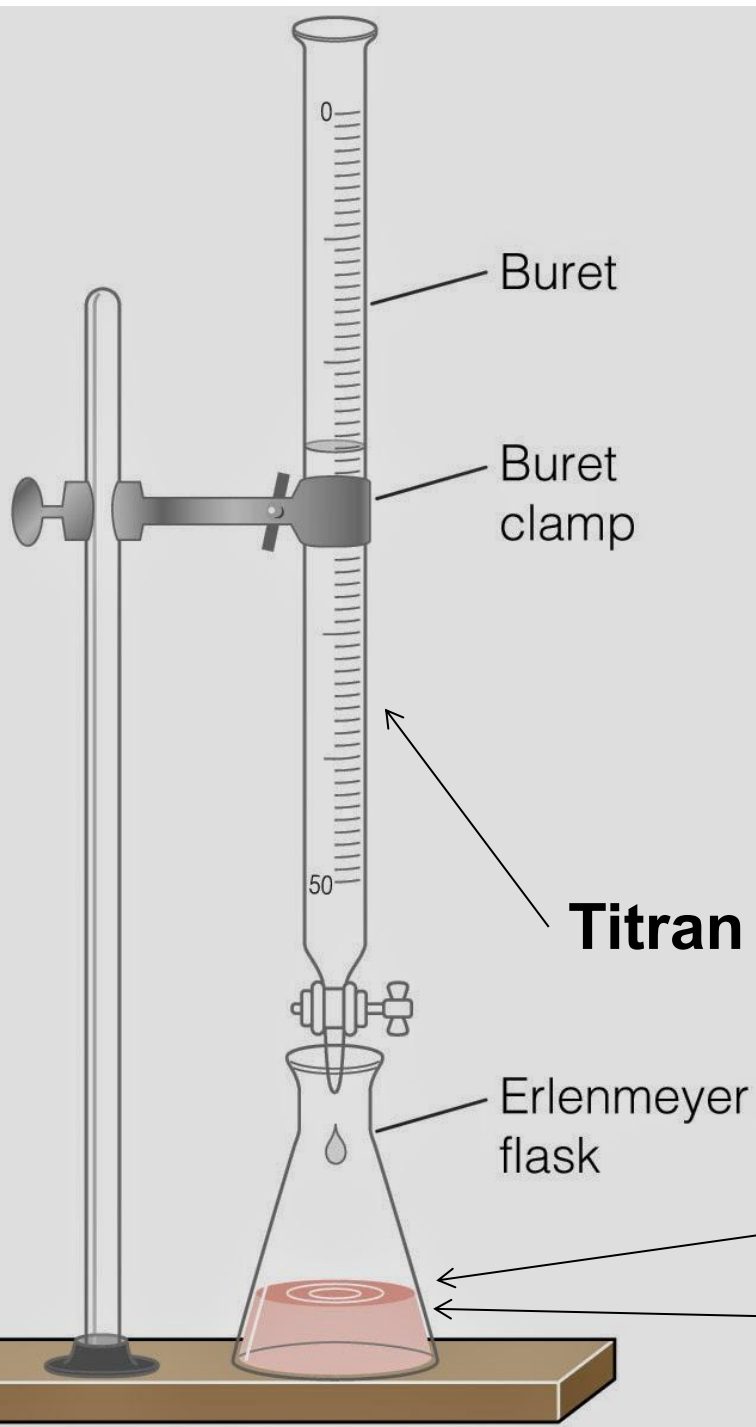
Accuracy/Precision is influenced by the number of volume changes in the analysis.

Therefore, titration is performed on the principle that it is done with **drop by drop** titrant on the analyte. Each drop must be measured and accurate at the end of the reaction, so that accuracy and precision are good.

Excess drops of titrant, meaning the volume is too much, which causes the analysis to be less accurate.

Sampel/analit

Added a few drops of indicator to show the end point of the reaction.



PERHITUNGAN DASAR PADA TITRASI

Mol ekivalen *analit* = Mol ekivalen *titran*

- Konsentrasi titran biasa dinyatakan dalam N (normalitas)
- $N = \text{mol ekivalen/L}$.
- $\text{mol ekivalen} = \text{gram} / \text{BE}$
- $\text{BE} = \text{BM} / \text{valensi}$

TITRASI

- Titrasi langsung: metode di mana titran standar bereaksi langsung dengan analit hingga mencapai titik akhir.
- Titrasi tidak langsung (titrasi balik): melibatkan penambahan reagen berlebih yang diketahui konsentrasinya ke dalam sampel, lalu sisa reagen yang tidak bereaksi dititrasi dengan titran kedua.

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI ASAM BASA

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi asam basa.

TITRASI ASAM BASA

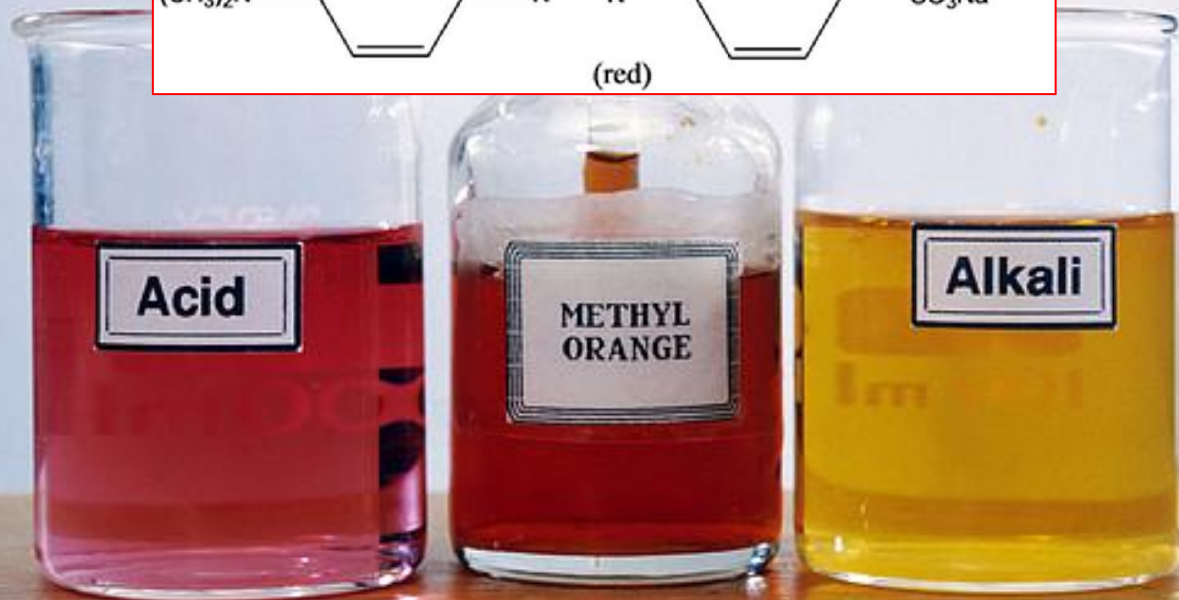
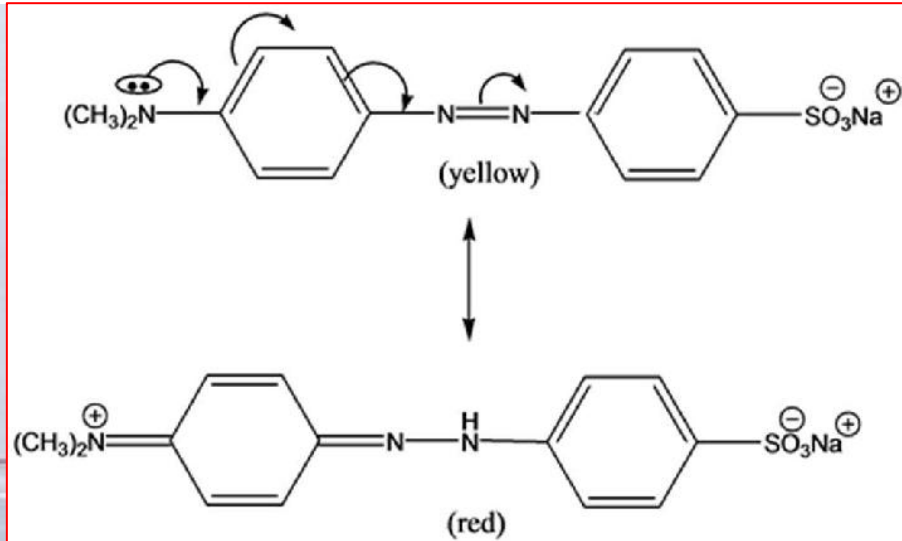
- **Asidimetri** : Titrasi asam- basa dimana yang bertindak sebagai **larutan standar adalah asam kuat**.
- **Alkalimetri** : Titrasi asam- basa dimana yang bertindak sebagai **larutan standar adalah Basa kuat**.

Faktor yang mempengaruhi titrasi

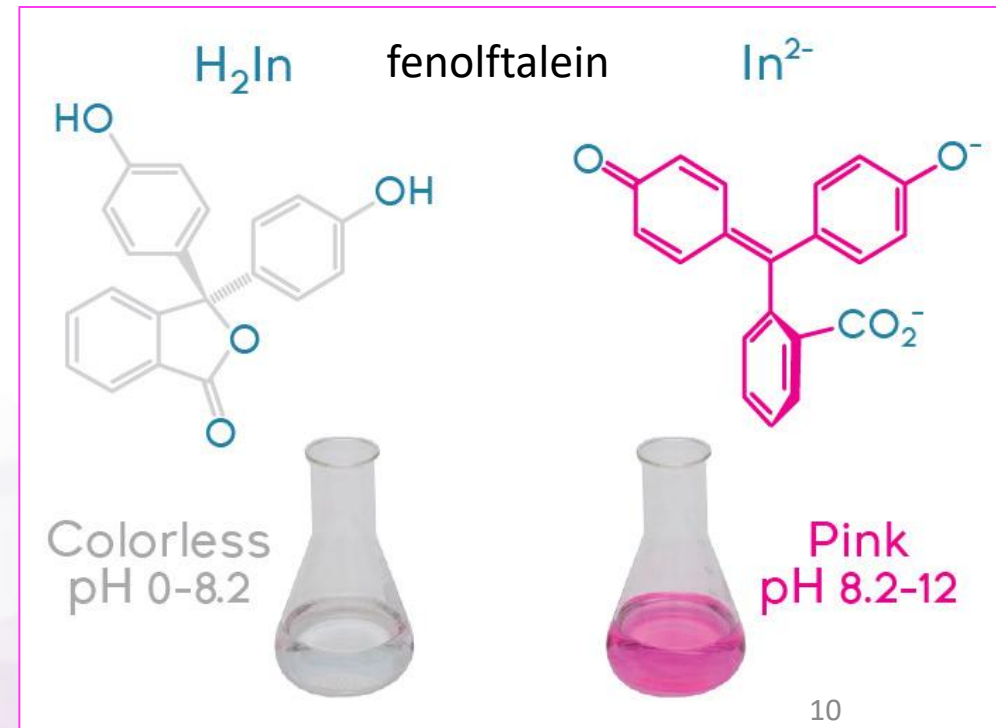
- **Konsentrasi analit dan titrant**: makin besar konsentrasinya, maka perubahan pH dalam daerah titik ekuivalent makin besar sehingga makin mudah menentukan indikator yg sesuai.
- **Kekuatan asam lemah atau basa lemah**: kesempurnaan reaksi pada asam / basa lemah dengan basa / asam kuat ditentukan oleh harga K_a atau K_b analit. Makin besar harga K_a atau K_b maka reaksi makin besar daerah perubahan pH pada titik ekuivalent, sehingga makin menentukan indikator yang sesuai.
- **Pemilihan indikator**: indikator yang digunakan perubahan pHnya harus berada pada daerah pH titik ekuivalen.

INDIKATOR ASAM DAN BASA

Indikator adalah zat yang dapat memberikan warna yang berbeda dalam larutan yang bersifat asam maupun basa



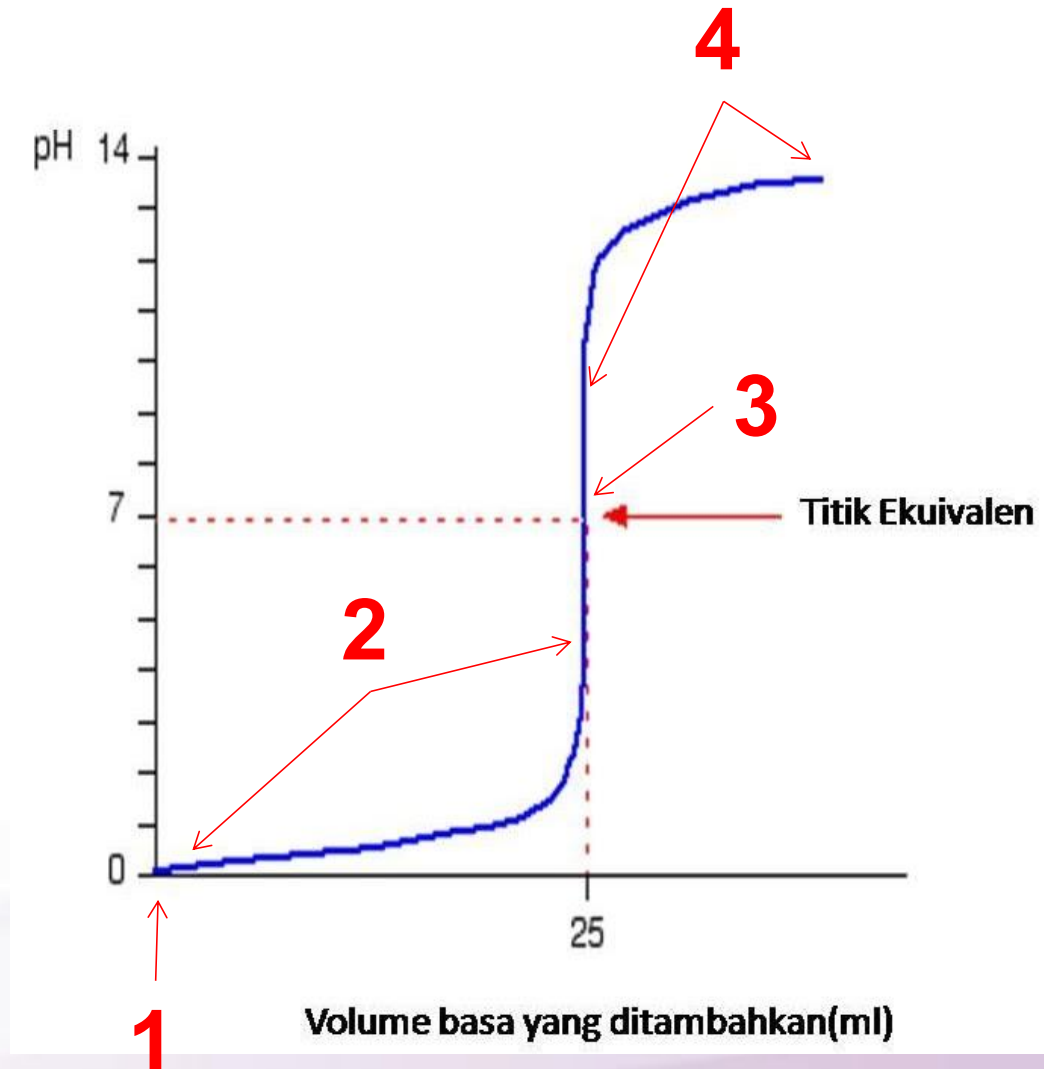
Indikator	Trayek pH	Perubahan Warna
Lakmus	5,5 – 8,0	merah – biru
Metil jingga	2,9 – 4,0	merah – kuning
Metil merah	4,2 – 6,3	merah – kuning
BTB	6,0 – 7,6	kuning – biru
Fenolftalein	8,3 – 10	tak warna – merah



pH pada titrasi asam basa

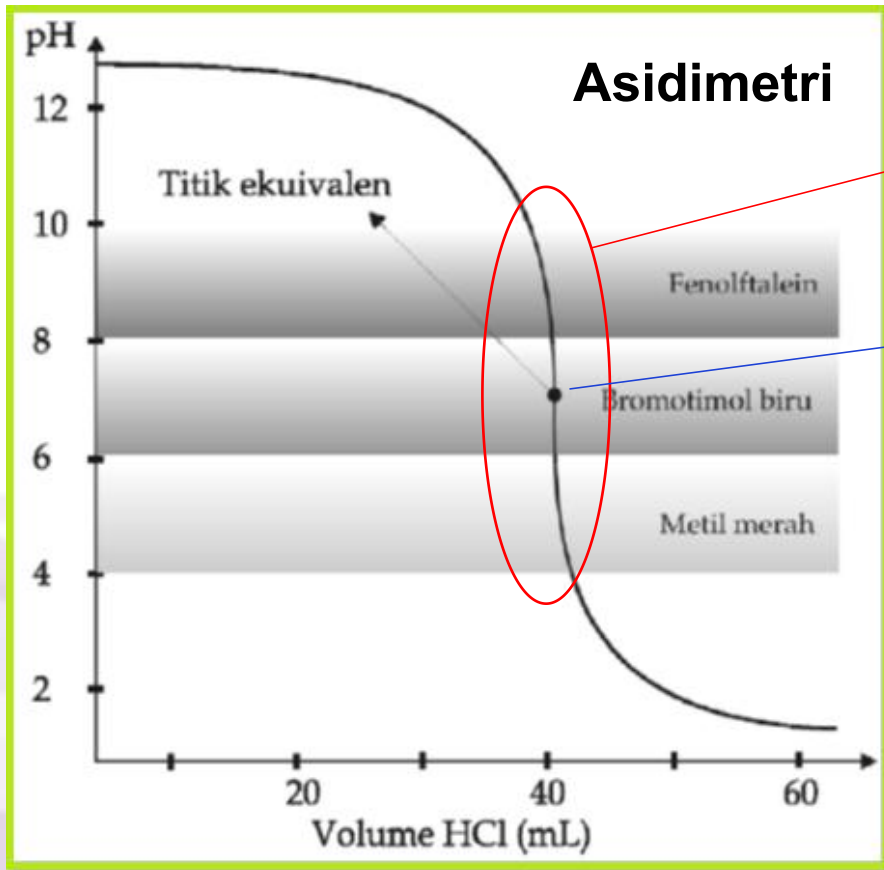
Ada 4 daerah perhitungan pH untuk titrasi asam basa yaitu:

1. **pH mula mula**: ditentukan dari konsentrasi analit.
2. **pH sebelum Titik Ekuivalen**: ditentukan dari setelah penambahan titran tetapi belum mencapai ekuivalen dgn analit.
3. **pH Titik Ekuivalen**: ditentukan saat titik ekuivalent tercapai.
4. **pH setelah Titik Ekuivalen**: ditentukan setelah kelebihan titran setelah mencapai titik ekuivalent.



KURVA TITRASI ASAM BASA

- Kurva titrasi asam basa biasa disajikan sbg hubungan volume titran (sumbu x), dan pH (sumbu y).



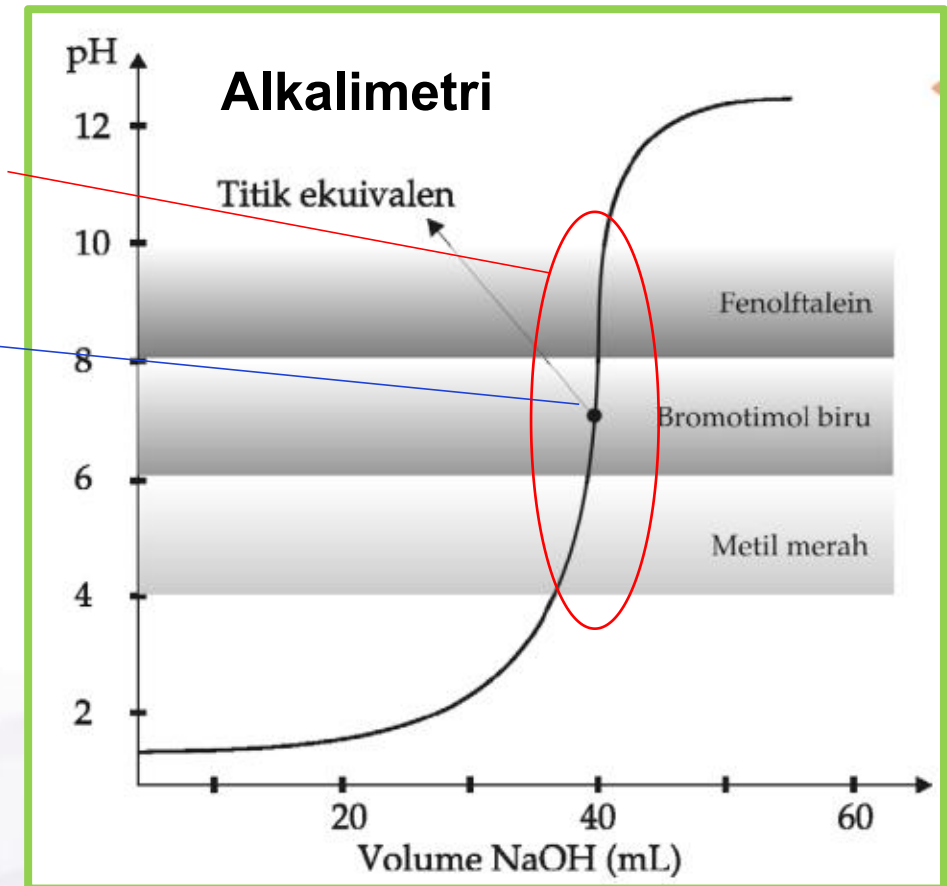
Analit basa ($\text{pH} >$), dititrasi dengan asam kuat, pH turun dengan pola sigmoid.

daerah perubahan pH drastis dengan penambahan sedikit titran

titik ekuivalen reaksi

pola kurva selalu berbentuk sigmoid, namun perubahan pH terhadap volume titran tergantung sifat asam/basa analit,

dan asam/basa titran

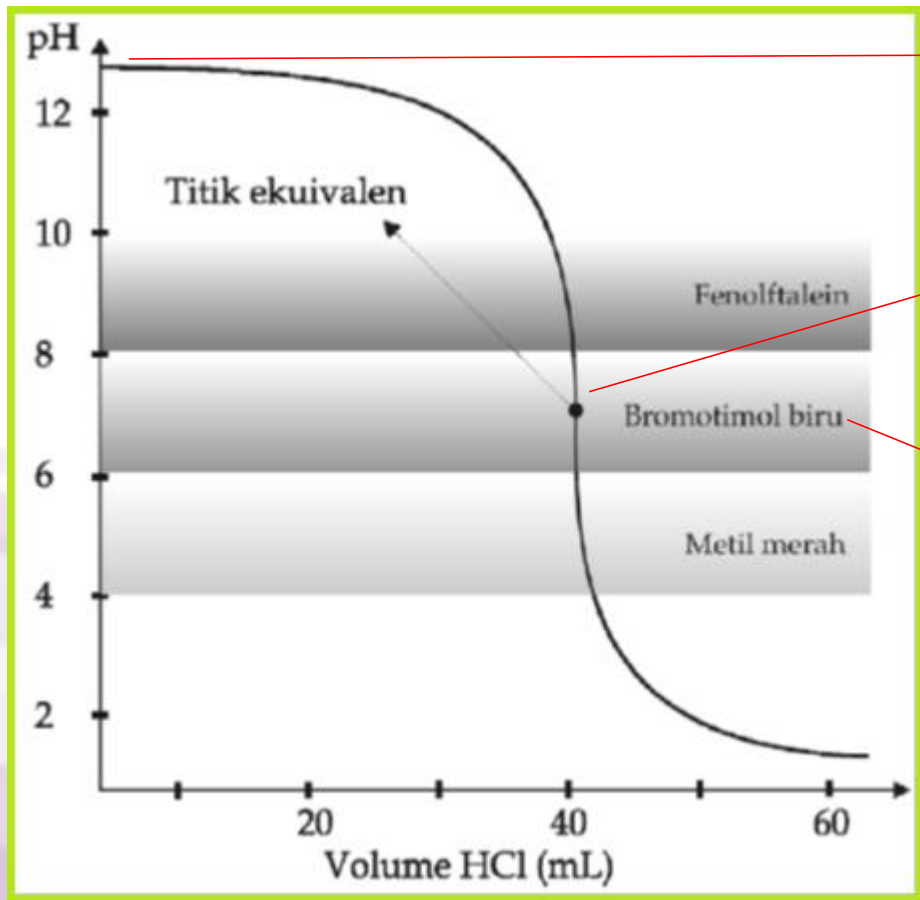


Analit asam ($\text{pH} <$), dititrasi dengan basa kuat, pH naik dengan pola sigmoid.¹²

pola kurva selalu berbentuk sigmoid, namun perubahan pH terhadap volume titran tergantung sifat asam/basa analit, dan asam/basa titran

Contoh kurva analit 40 mL NaOH 0,1 M
dititrasi dengan HCl 0,1 M

Analit **basa kuat** dan titran **asam kuat** →
netralisasi, titik akhir di sekitar pH netral



pH awal analit

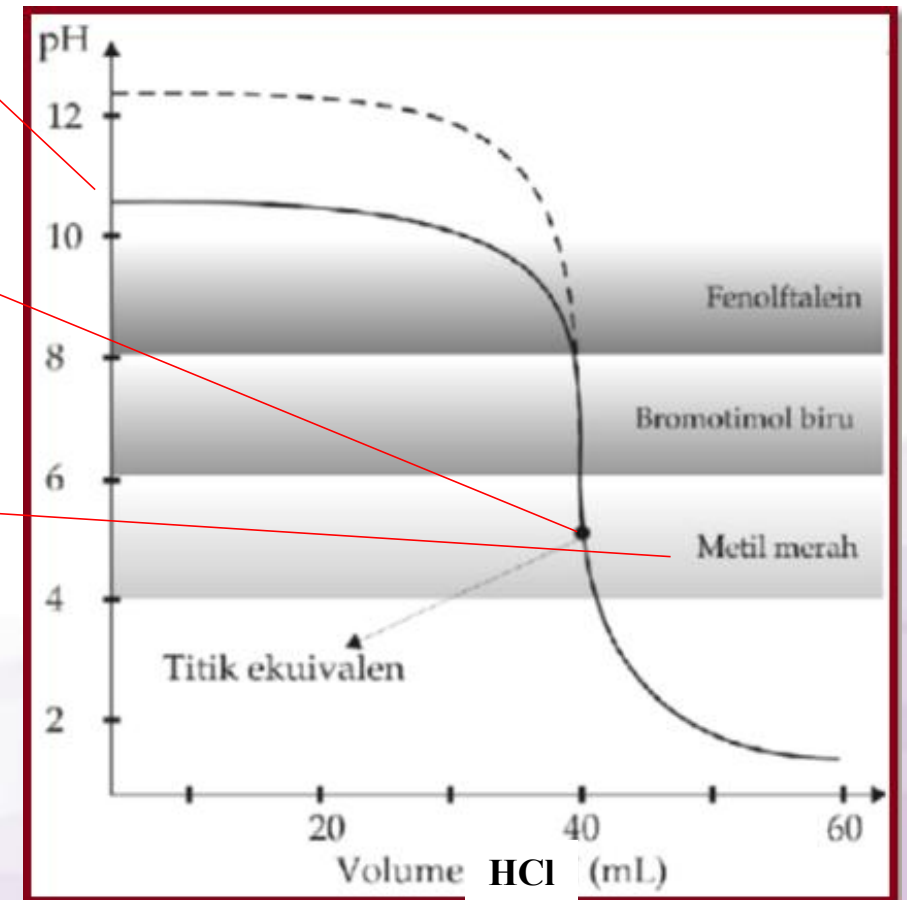
titik ekuivalen

indikator

pilih indikator sesuai
trayek pH titik ekuivalen

Contoh kurva analit 50 mL NH_4OH 0,1 M
dititrasi dengan HCl 0,1 M

Analit **basa lemah** dan titran **asam kuat** → titik akhir pH relatif asam < 7.



titrasi asam basa

pertimbangan pemilihan indikator titrasi

Analit	Titran	pH titik akhir	hitung pH
Basa kuat	Asam kuat	pH netral	mol asam kuat = mol basa kuat $[H_3O^+] = (\text{mol asam kuat}) / \text{Vol. total}$ $[OH^-] = (\text{mol basa kuat}) / \text{Vol. total}$ $pOH = -\log [OH^-]$ $pH = 14 - pOH$
Basa lemah	Asam kuat	pH asam, < 7	mol basa lemah = mol asam kuat $[H_3O^+] = \sqrt{\frac{K_w}{K_b} \times [garam]}$ $pH = -\log [H_3O^+]$
Asam kuat	Basa kuat	pH netral	mol asam kuat = mol basa kuat $[H_3O^+] = (\text{mol asam kuat}) / \text{Vol. total}$ $[OH^-] = (\text{mol basa kuat}) / \text{Vol. total}$ $pH = -\log [H_3O^+]$
Asam lemah	Basa kuat	pH basa, > 7	mol asam lemah = mol basa kuat $[OH^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \times [garam]}$ $pOH = -\log [OH^-]$ $pH = 14 - pOH$

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI BEBAS AIR

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi bebas air atau menggunakan solven organik.

NON AQUEOUS TITRATION

- Titrasi bebas air: titrasi yang tidak menggunakan pelarut air, digunakan untuk analit yang memiliki kelarutan rendah dalam air.
- Digunakan solven non-aqueous, misal: metanol, etanol, asam asetat glasial, metil isobutil keton.

Titration with water:

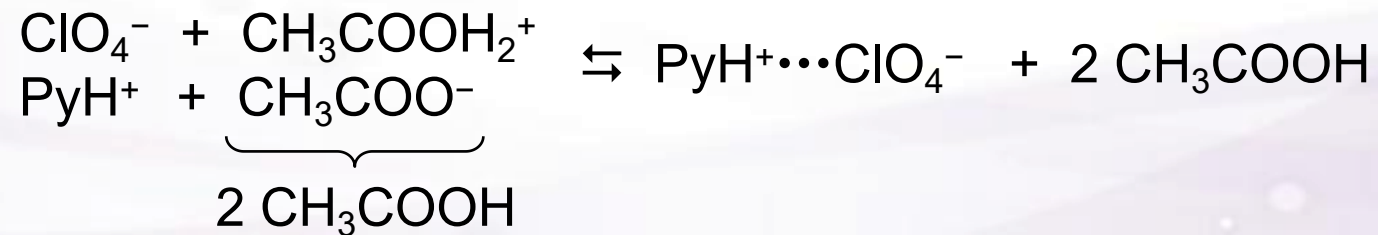
- Keuntungan: murah, tersedia melimpah.
- Kekurangan: senyawa semi-polar dan non-polar sukar/tidak larut.
- Maka, alternatif dengan TBA (titration bebas air) untuk senyawa/analit yang sukar/tak larut air.

klasifikasi pelarut/solven

- Berdasar kemampuan disosiasi:
 - Dapat terdisosiasi, misal: air, asam asetat.
 - Tidak dapat terdisosiasi, misal: eter, kloroform (CHCl_3), karbon tetraklorida (CCl_4), benzen, toluen.
- Berdasar karakter keasaman/kebasaan:
 1. Protogenik (menghasilkan proton H^+), misal: HCl , HNO_3 , H_2SO_4
 2. Protofilik (menangkap proton), misal: etilen diamin, piridin.
 3. Ampiprotik (dapat menghasilkan dan menangkap proton), misal: air (H_2O), metanol (CH_3OH), asam asetat (CH_3COOH), amonia (NH_3).
 4. Aprotik (tidak dapat menghasilkan/menangkap proton), misal: SO_2 cair.

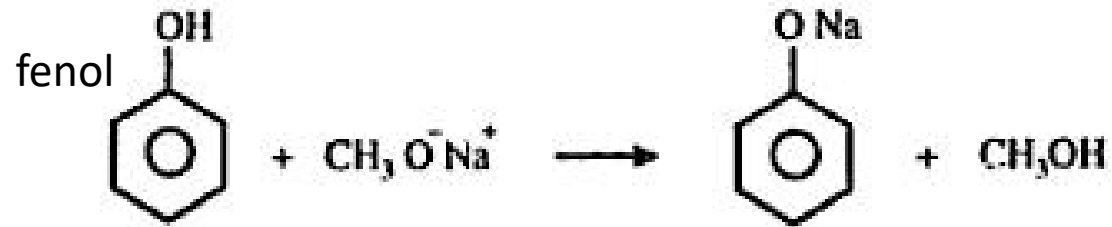
Contoh reaksi dalam medium non-air

- Pada umumnya menggunakan persamaan **Brönsted**.
- Reaksi berlangsung melalui reaksi asam atau basa dengan pelarut organik.
- Contoh
- $\text{HClO}_4 + \text{pyridine (Py)}$ dalam asam asetat glasial
- $K = [\text{CH}_3\text{COOH}_2^+][\text{CH}_3\text{COO}^-] = 10^{-13}$



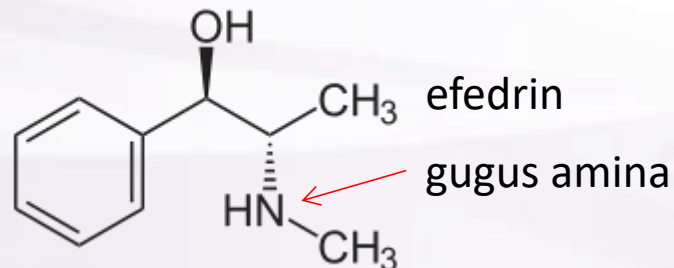
Contoh TBA

- Asam lemah/garam dari asam lemah,
 - Menggunakan pelarut protofilik/basa
 - Disosiasi meningkat
 - Contoh: analit **Fenol** yang merupakan asam lemah, dilarutkan dalam piridin sehingga bisa berdisosiasi dengan sempurna. Dititrasi dengan metoksida atau Na-metoksida.



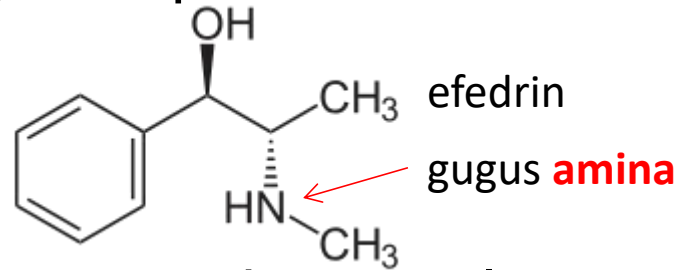
Coba identifikasi dari reaksi di samping, mana yang bersifat asam dan mana yang merupakan basa?

- Basa lemah/garam dari basa lemah
 - Menggunakan pelarut protogenik/asam
 - Disosiasi meningkat
 - Contoh: **Efedrin** yang merupakan basa lemah dititrasi menggunakan asam perklorat.

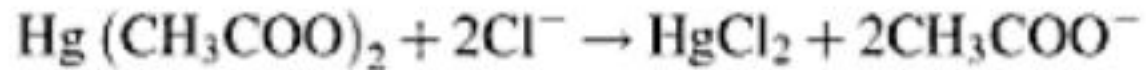


Contoh TBA

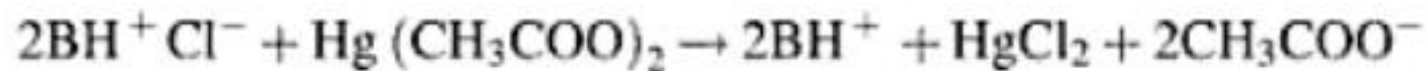
- Contoh: **Efedrin** yang merupakan basa lemah dititrasi menggunakan asam perklorat.



- Amina tidak dapat terprotonasi secara langsung dengan asam kuat. Sampel harus diperlakukan dengan merkuri asetat terlebih dahulu sebelum dititrasi. Merkuri asetat akan bereaksi dengan ion klorida membentuk kompleks merkuri klorida.



- Ion asetat selanjutnya dititrasi dengan asam perklorat yang dalam hal ini asetat dititrasi dengan asam asetat terprotonasi di dalam larutan asam perklorat. Reaksi secara keseluruhan adalah:



garam dari basa lemah
garam HCl dari efedrin

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

TITRASI REDOKS

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi.

TITRASI REDUKSI OKSIDASI (REDOKS)

- Titrasi redoks: titrasi yang dilakukan dengan prinsip reaksi oksidasi-reduksi antara analit dengan titran.

Contoh:

- Titrasi **Permanganometri**: titrasi dengan senyawa permanganat (KMnO_4) sebagai titran, digunakan untuk menetapkan kadar senyawa/analit yang bersifat sebagai reduktor.
- Titrasi **Iodometri**: titrasi dengan prinsip reaksi ion iodida (I^-) sebagai reduktor.
- Titrasi **Iodimetri**: titrasi dengan prinsip reaksi iodium (I_2) digunakan sebagai oksidator.

TITRASI REDUKSI OKSIDASI (REDOKS)

- Perhitungan terkait titrasi redoks:
- Berat ekuivalen (BE) dalam titrasi redoks adalah berat dalam gram dari zat yang diperlukan untuk menyediakan atau bereaksi dengan 1 mol elektron dalam reaksi redoks.
- Valensi: jumlah elektron yg dilepas atau diikat
- $BE = \text{berat molekul atau ion} / \text{jumlah elektron yg dilepas atau diikat}$.

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

PERMANGANOMETRI

Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi dengan titran senyawa permanganat.

PERMANGANOMETRI

- Analisis kuantitatif volumetri dengan prinsip reaksi reduksi oksidasi dengan titran senyawa permanganat.
- KMnO_4 (kalium permanganat) merupakan oksidator kuat dan telah digunakan secara luas, mudah diperoleh dan tidak memerlukan indikator.
- *ingat kembali contoh reaksi redoks pada kuliah KFD semester 1, saat itu dipelajari kinetika-nya, saat ini dipelajari aplikasinya pd analisis kuantitatif.*
- Kalium permanganat dapat mengalami reaksi yang bermacam-macam, karena Mn dapat berada dalam keadaan dengan bilangan oksidasi +2, +3, +4, +6 dan +7.
- Reaksi dalam suasana sangat asam: MnO_4^- direduksi menjadi Mn^{2+}
$$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$$

PERMANGANOMETRI

- Reaksi dalam suasana asam sedang:



- ▶ Reaksi yang paling banyak dijumpai di laboratorium adalah reaksi yang berlangsung dalam suasana sangat asam.
- ▶ $\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e} \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4 \text{H}_2\text{O}$
- ▶ 1 mol MnO_4^- memerlukan 5 elektron, sehingga
- ▶ $\text{BE KMnO}_4 = \text{Mr KMnO}_4 / 5 = 1/5 \text{ BM KMnO}_4$



PERMANGANOMETRI

- Tidak perlu larutan indikator, karena KMnO_4 merupakan senyawa berwarna (ungu) yang dapat sekaligus menjadi indikator.



- Analit yang tidak berwarna, dititrasi dengan KMnO_4 .
- Selama reaksi: Analit mengalami oksidasi, KMnO_4 mengalami reduksi (kehilangan warna ungu). Campuran reaksi tidak berwarna.
- Reaksi berakhir saat tambahan setetes titran KMnO_4 tidak mengalami reduksi atau sudah tidak mengoksidasi analit, dan tetap berwarna ungu sehingga memberi warna pada campuran reaksi.

PERMANGANOMETRI

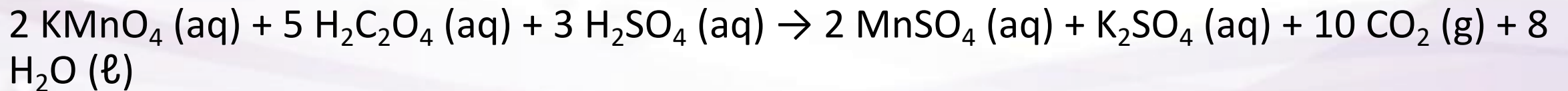
Contoh sampel/analit yang dapat dianalisis dengan permanganometri:

- Senyawaan besi (ferro / ferri): Besi (II) dapat ditentukan kadarnya dengan menggunakan titrasi permanganometri dalam larutan asam. Besi (III) juga dapat ditentukan kadarnya dengan titrasi permanganometri setelah direduksi menjadi besi (II). Titik akhir titrasi terjadi apabila terbentuk warna ungu muda yang konstan.

$$\text{Kadar Fe} = \frac{(V_{\text{KMnO}_4} \times N_{\text{KMnO}_4}) \times \text{BE}_{\text{Fe}}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

1 ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan 27,80 mg ferro sulfat

- Asam organik, seperti asam oksalat.



$$\text{Kadar Asam Oksalat} = \frac{(V_{\text{KMnO}_4} \times N_{\text{KMnO}_4}) \times \text{BE}_{\text{Asam Oksalat}}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

THE END

THANK YOU

KIMIA ANALISIS KUANTITATIF
IODIMETRI
IODOMETRI

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.

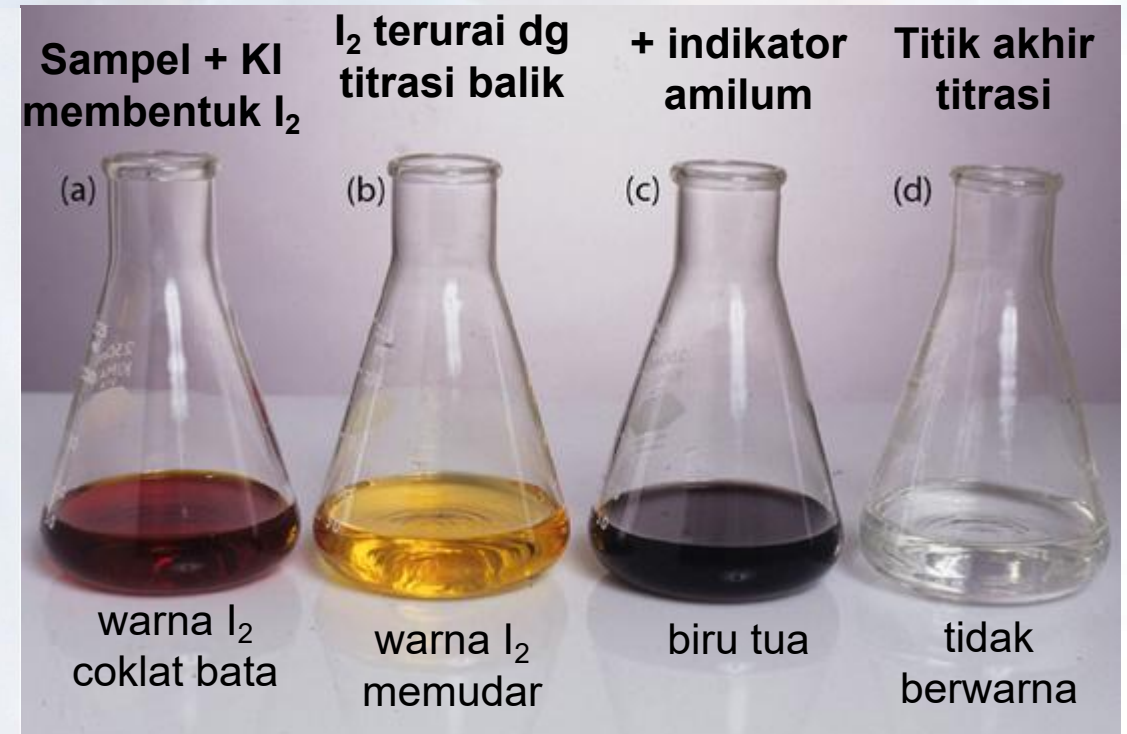
TITRASI IODIMETRI - IODOMETRI

- Merupakan jenis titrasi berbasis reaksi oksidasi reduksi (redoks).
- Melibatkan **iodium/yodium** (I_2).
- Indikator: larutan amilum/kanji.

IODIMETRI



IODOMETRI



Komparasi metode **IODI** - **ODO**

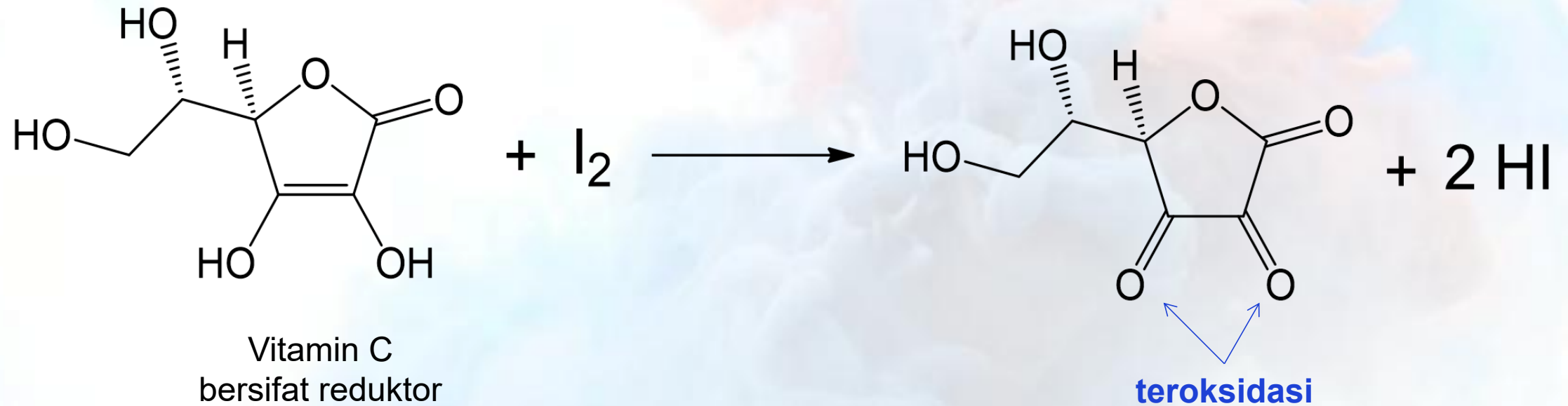
No.	Aspek	Iodometri	Iodimetri
1.	Jenis	Titration tidak langsung (dg penambahan KI berlebih)	Titration langsung
2.	Tujuan	Menentukan kadar oksidator	Menentukan kadar reduktor
3.	Titran	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (reduktor)	I_2 (oksidator)
4.	Indikator	Amilum (menjelang titik akhir titration)	Amilum (diawal sebelum titration)
5.	Titik Akhir Titration (TAT)	Biru menjadi tidak berwarna	Tak berwarna menjadi biru

TITRASI IODIMETRI

- Prinsip dasar: Titrasi langsung yang menggunakan penitrasi I_2
- Kegunaan: Untuk menetapkan kadar senyawa reduktor.
- Reduktor yang akan ditetapkan kadarnya langsung dititrasi dengan larutan iodium (I_2)
- Contoh senyawa analit: vitamin C, antalgin, tiosulfat, arsenit, sulfide, sulfit, stibium (III), timah (II), dan ferosianida.
- Digunakan untuk analisis kuantitatif senyawa-senyawa yang mempunyai potensial oksidasi lebih kecil daripada sistem iodium-iodida
- **Reduktor $\rightarrow$ oksidator + e** (reaksi suasana asam)
- **$I_2 + 2e \rightarrow 2I^-$**
- Titik akhir titrasi : terbentuk warna biru

contoh iodimetri untuk analisis vit C

- Contoh reaksi vitamin C dan iodium



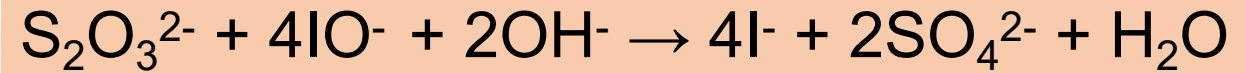
- Vit C: asam askorbat
- Dalam tablet, suplemen, buah-buahan, bahan alam.

TITRASI IODOMETRI

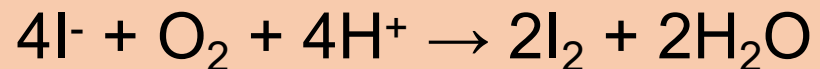
- Prinsip dasar: Titrasi tidak langsung yang menghasilkan I_2 , lalu dititrasi dg $Na_2S_2O_3$ (Natrium tiosulfat)
- Kegunaan: Untuk menetapkan kadar senyawa oksidator
- Semua oksidator yang akan ditetapkan kadarnya direaksikan terlebih dahulu dengan ion iodide berlebih (I^-) sehingga terbentuk I_2 .
- **$Oksidator + I^- + H^+ \rightarrow I_2 + \text{hasil reduksi}$**
- Selanjutnya I_2 yang dibebaskan ini dititrasi dengan larutan standar sekunder $Na_2S_2O_3$
- **$S_2O_3^{2-} + I_2 \rightarrow S_4O_6^{2-} + I^-$**
- Titik akhir titrasi : biru $\rightarrow$ hilang (bening)
- Ex : penentuan $Cu(II)$, $Ca(OCl)_2$ dalam pemutih, kaporit

Syarat dalam Titrasi IODO-IODIMETRI

1. Titrasi harus dilakukan dalam keadaan dingin, karena I_2 bersifat relatif volatil.
2. Titrasi tidak dapat dilakukan dalam kondisi basa kuat, karena iod bereaksi dengan alkali. pH dijaga ≤ 8 .

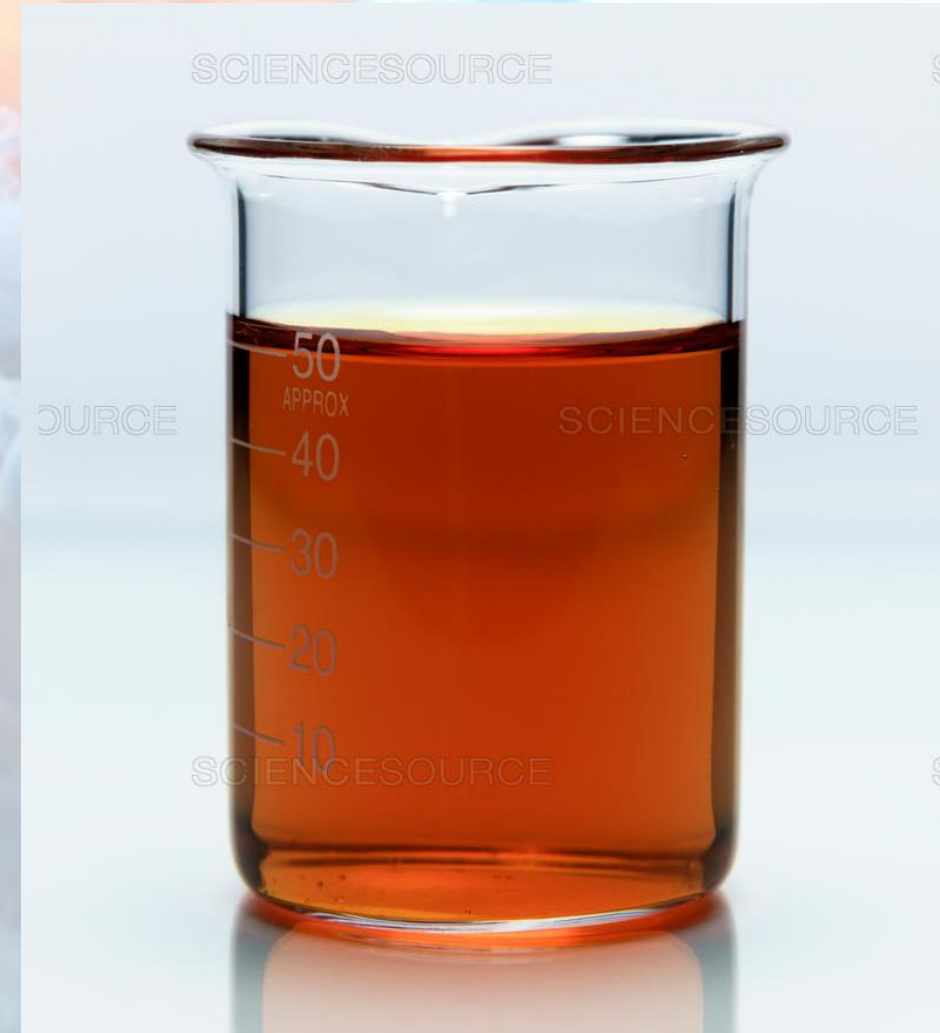


3. Karena kelarutan iod di dalam air sangat kecil (0,00134 mol/L) menyebabkan KI yang digunakan harus berlebih
4. Penambahan indikator kanji
Iodometri : Sebaiknya dilakukan saat menjelang titik akhir titrasi (larutan berwarna kuning)
Iodimetri : dapat ditambahkan sejak awal titrasi
5. Titrasi harus dilakukan dengan cepat untuk meminimalisir terjadinya oksidasi iodida oleh udara bebas



LARUTAN BAKU IODIUM

- Iod (I_2) : zat padat sukar larut dalam air
- Kelarutannya: 0,0013 mol/L, pada 25°C
- Sebagai pelarut digunakan KI, membentuk kompleks: $I_2 + I^- \rightarrow I_3^-$
- Larutan iod tidak stabil, sebagai baku sekunder sehingga perlu distandarisasi, dengan As_2O_3 atau $Na_2S_2O_3$



Standar primer untuk iodin

Arsen (III) oksida, As_2O_3

Arsen (III) oksida merupakan standar primer yang baik dan paling sering dipergunakan. Senyawa ini stabil, nonhigroskopis dan tersedia dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Reaksi antara zat ini dan iodium adalah reaksi reversible :



Natrium Tiosulfat

Natrium tiosulfat ini terlebih dahulu distandarisasi dengan kalium iodat atau kalium dikromat.



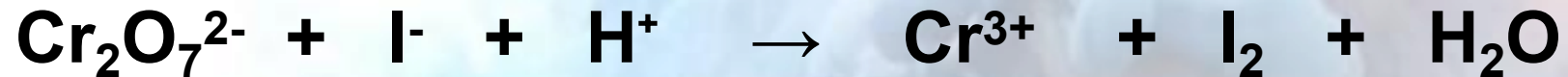
LARUTAN BAKU Na-TIOSULFAT

- Tiosulfat stabil dalam suasana sedikit basa atau netral. Jika terlalu asam akan membentuk hidrogen sulfit. Jika terlalu basa akan membentuk natrium sulfit dan natrium sulfida.
- Tiosulfat mudah teroksidasi oleh udara sehingga sedapat mungkin dilarutkan menggunakan air bebas O_2
- Untuk mencegah aktivitas bakteri → dipakai air yang sudah dididihkan, ditambah pengawet (kloroform, natrium karbonat, natrium benzoat, HgI_2)
- Natrium tiosulfat adalah baku sekunder yang perlu distandarisasi, dengan kalium dikromat dan kalium iodat.

Standar Primer untuk Natrium tiosulfat

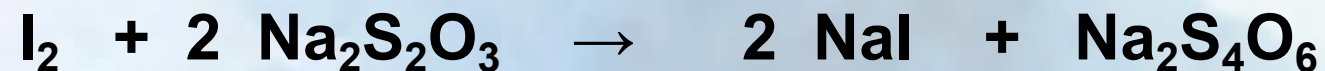
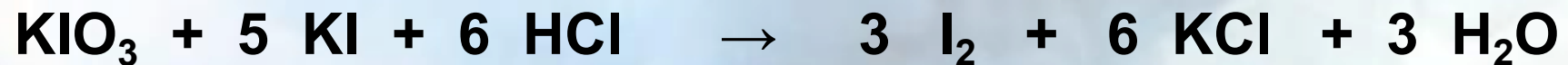
Kalium Dikromat

Kalium dikromat direduksi oleh larutan kalium iodida yang asam dan ion dibebaskan.



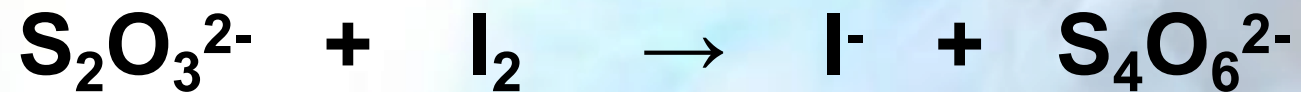
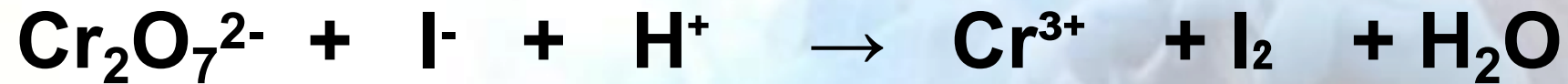
Kalium Iodat

Pada pembakuan di atas reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Latihan untuk memahami kesetaraan reaksi dalam iodi-iodometri.

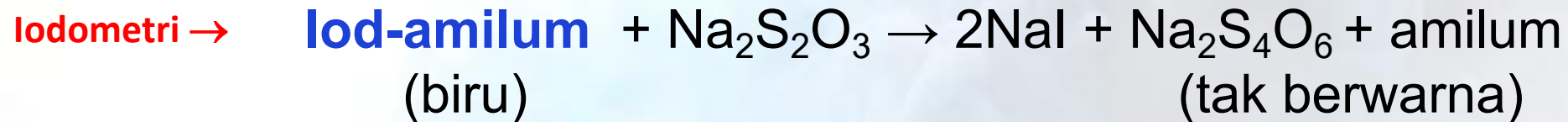
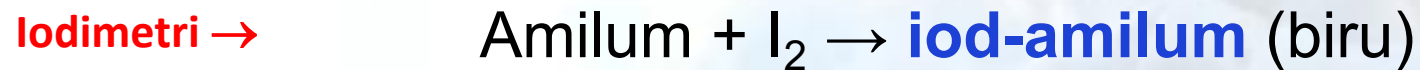
Setarakan reaksi redoks berikut!



INDIKATOR TITRASI IODI-IODOMETRI

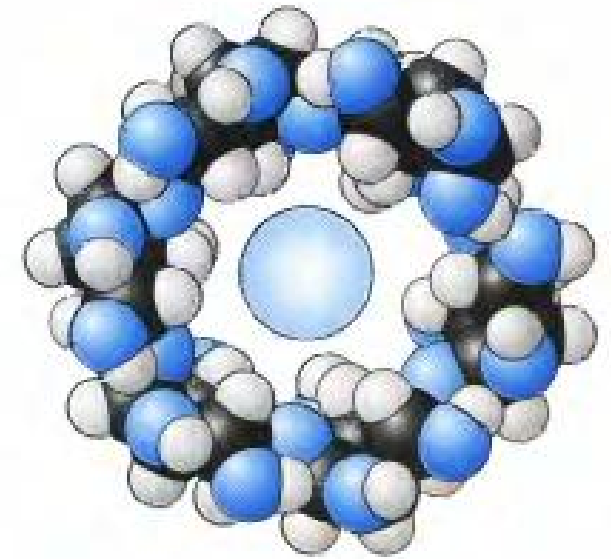
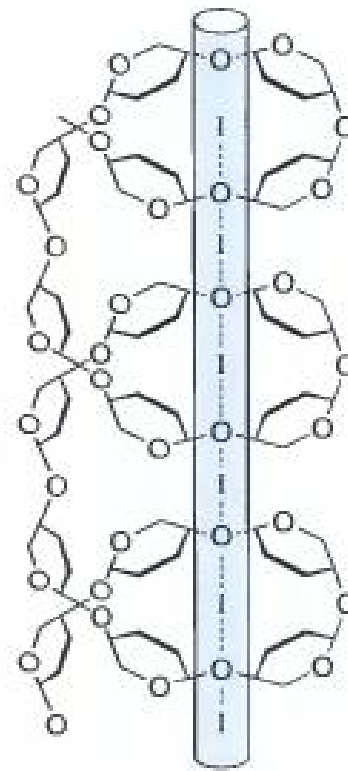
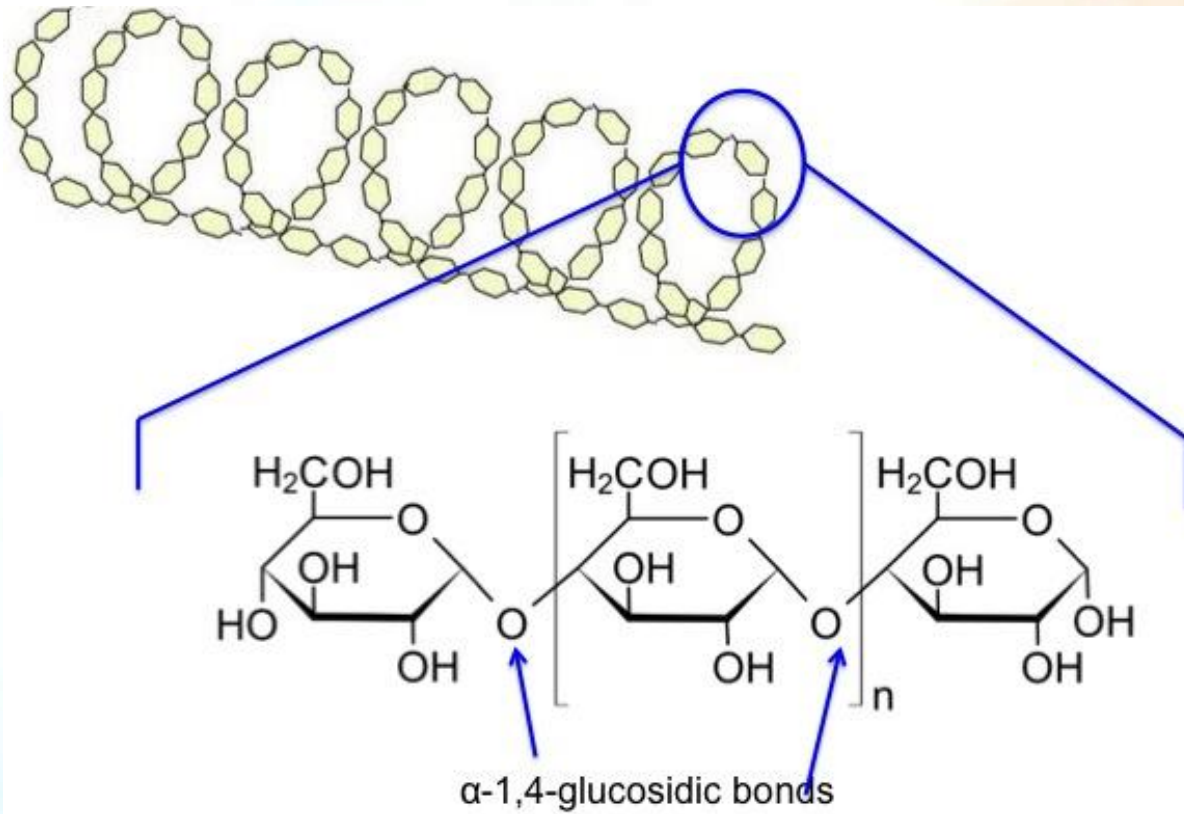
Kanji bereaksi dengan iod, dengan adanya iodida membentuk suatu kompleks yang berwarna biru kuat, yang akan terlihat pada konsentrasi iod yang sangat rendah.

Mekanisme reaksi indikator kanji adalah sebagai berikut :



Keunggulan pada pemakaian kanji ini yaitu bahwa harganya murah, namun terdapat kelemahan-kelemahan yaitu sebagai berikut :

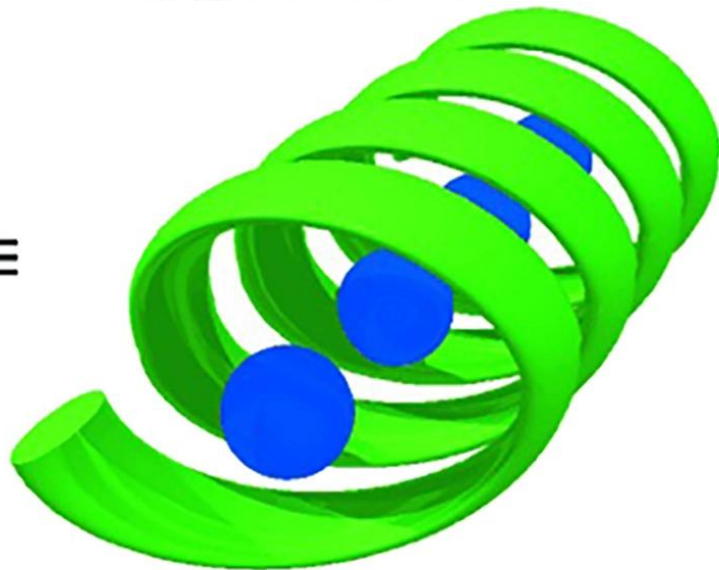
- bersifat tidak dapat larut dalam air dingin;
- ketidakstabilan suspensinya dalam air;
- dengan iod memberi suatu kompleks yang tak dapat larut dalam air, sehingga kanji tidak boleh ditambahkan terlalu dini dalam titrasi (pada iodometri: hendaknya tak ditambahkan sampai tepat sebelum titik akhir, ketika warna iod mulai memudar).



(A)

Blue
Amylose
Iodine
Complex

≡



contoh penerapan iodi-iodometri

- Penentuan klor aktif dalam bubuk pemutih
- Penentuan kadar Vit. C
- Penentuan tembaga dalam tembaga sulfat
- Penentuan arsen dalam larutan sodium arsenit



THE END

THANK YOU



KIMIA ANALISIS KUANTITATIF

KOMPLEKSOMETRI

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.

KOMPLEKSOMETRI

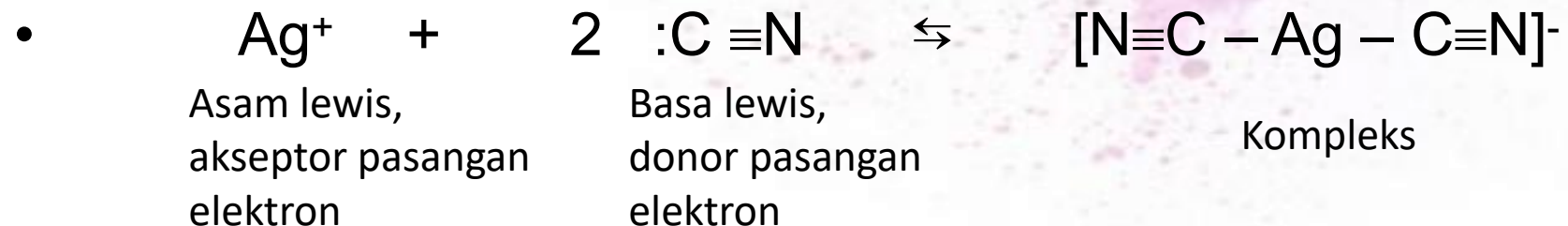
- Analisis volumetri yang melibatkan **pembentukan kompleks** yang stabil pada reaksi antara titrat dengan titran.
- Biasanya dalam kefarmasian digunakan untuk penetapan senyawaan ion logam (mineral) yang biasa diformulasikan sebagai suplemen/obat. Mineral merupakan nutrisi mikro dalam proses metabolisme tubuh, dan atau dapat berfungsi dalam pengobatan tertentu.

Contoh reaksi kompleks/khelat:

- Reaksi antara ion perak dengan ion sianida: $\text{Ag}^+ + 2 \text{CN}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{CN})_2^-$
- Reaksi antara ion kalsium dengan EDTA: $\text{Ca}^{2+} + \text{EDTA} \rightleftharpoons \text{Ca-EDTA} + 2\text{H}^+$
- Reaksi pada dasarnya terjadi antara: **Atom pusat** + **Ligan**
- **Atom pusat** biasanya adalah ion logam
- **Ligan** adalah senyawa donor pasangan-elektron, biasanya berupa senyawa polidentat.

CONTOH REAKSI KOMPLEKS

- Ag^+ merupakan **atom pusat** dengan bilangan koordinasi dua.
- CN^- (sianida) adalah **ligannya**.
- Ion logam dapat menerima pasangan elektron dari donor elektron membentuk senyawa koordinasi atau ion kompleks.
- Banyaknya ikatan yang dibentuk oleh atom pusat disebut **bilangan koordinasi**.
- Reaksi pembentukan kompleks antara ion logam dengan ligan dapat dianggap sebagai suatu **reaksi asam basa Lewis** dimana **ligan bertindak sebagai basa** dengan **menyumbangkan sepasang elektronnya** kepada **kation** yang merupakan **asamnya**.
- Contoh:



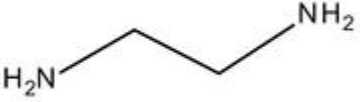
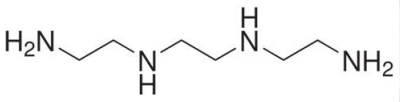
Contoh beberapa kompleks

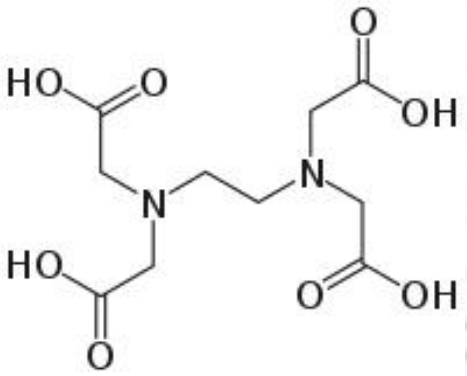
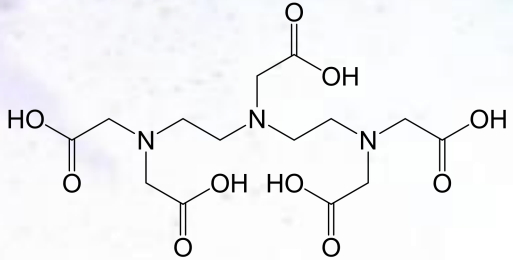
Ion logam	Ligan	Kompleks	Nama Kompleks	Bilangan Koordinasi Logam
Ag^+	NH_3	$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$	Diamin argentat (I)	2
Cu^{2+}	NH_3	$\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$	Tetramin kuprat (II)	4
Fe^{3+}	CN^-	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	Heksasiano ferat (III)	6

LIGAN

- Ligan atau **donor pasangan elektron** harus mempunyai paling sedikit sepasang elektron bebas untuk membentuk ikatan dengan ion logam. Ada ligan **monodentat (unidentat)**, **bidentat** maupun **multidentat (polidentat)**.
- Contoh ligan monodentat atau unidentat :
 - Netral: H_2O , NH_3
 - Anion (ion bermuatan negatif): halida (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), tiosianat (SCN^-), sianida (CN^-), hidroksida (OH^-), sulfida (S^{2-}).
- **Ion sianida** disebut ligan **monodentat** karena berikatan dengan ion logam melalui **satu** atom (atom karbon).
- Sedangkan **etilen diamin** ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) merupakan contoh ligan **bidentat** karena berikatan dengan ion logam melalui **dua** ion ligan.

Contoh Ligan Polidentat

Jenis	Struktur	Nama
Bidentat		Etilen diamin
Tetradentat		Trietilen tetramin

Heksadentat		Asam etilen diamintetra asetat (EDTA)
Oktadentat		Asam dietilentriamin penta asetat

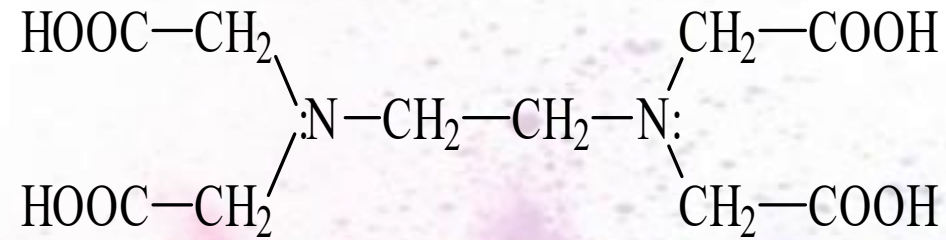
TITRASI dengan ligan MONODENTAT

- Untuk titrasi ion-ion logam, ligan unidentat atau monodentat jarang digunakan tetapi ada beberapa contoh titrasi yang penting antara lain:
 1. Titrasi menurut metode Liebig (titrasi dengan ligan sianida).
 2. Titrasi ion klorida oleh ion merkuri (II).

Titrasi sianida dengan ion perak (Metode Liebig)

- Ke dalam larutan yang mengandung sianida ditambahkan larutan perak nitrat (AgNO_3), maka pertama-tama akan timbul endapan putih dari perak sianida yang akan melarut kembali membentuk kompleks disiano argentat.
- $\text{Ag}^+ + \text{CN}^- \rightleftharpoons \text{AgCN}$
- $\text{Ag}^+ + 2\text{CN}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{CN})_2^-$
- Setelah reaksi di atas terjadi dengan sempurna, pada penambahan perak nitrat selanjutnya akan terbentuk endapan perak sianoargentat.
- $\text{Ag}^+ + \text{Ag}(\text{CN})_2^- \rightleftharpoons \text{Ag}[\text{Ag}(\text{CN})_2]$, atau
- $\text{Ag}^+ \text{Ag}(\text{CN})_2^- \rightleftharpoons 2 \text{AgCN}$
- Terjadinya kekeruhan/endapan tersebut dapat merupakan indikasi bahwa titrasi sudah berakhir (titik akhir titrasi, TAT)

TITRASI dengan ligan EDTA



- Terdapat contoh berbagai ligan polidentat tetapi yang lazim adalah titrasi ion logam dengan ligan asam etilendiamin tetra asetat (EDTA).
- Beberapa gugus EDTA sering disingkat H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} , dan Y^{4-} . H_4Y menyatakan EDTA sebagai asam bebasnya. H_4Y ini dalam air terionisasi melalui tahapan sebagai berikut:
 - $\text{H}_4\text{Y} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{H}_3\text{Y}^- \quad K_1 = 1,02 \times 10^{-2}$
 - $\text{H}_3\text{Y}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \quad K_2 = 2,14 \times 10^{-3}$
 - $\text{H}_2\text{Y}^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{HY}^{3-} \quad K_3 = 6,92 \times 10^{-7}$
 - $\text{HY}^{3-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{Y}^{4-} \quad K_4 = 5,50 \times 10^{-11}$
- Ion-ion mana terdapat dalam larutan, tergantung pada pH larutan. Spesi Y^{4-} terdapat dalam larutan dengan $\text{pH} > 10$.

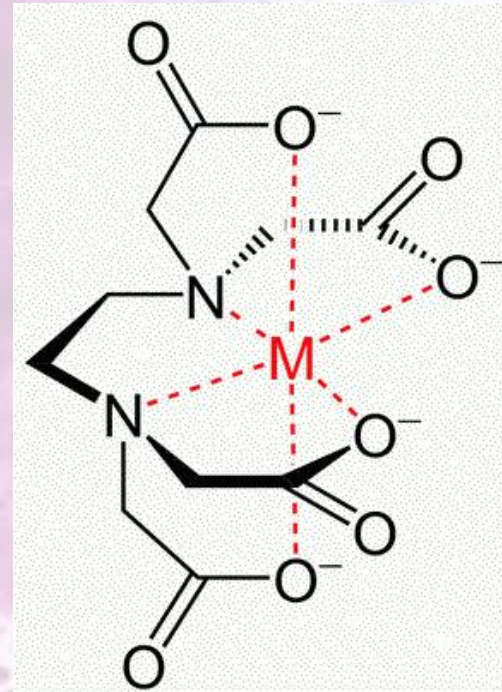
TITRASI dengan ligan EDTA

- EDTA dalam bentuk asam sukar larut dalam air, oleh karena itu pada umumnya digunakan garam dinatriumnya yaitu $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang larut dengan baik dalam air.
- Selama titrasi ion logam dengan $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ selalu **terbentuk ion hidrogen** (asam), contoh:
 - $\text{Mg}^{2+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightleftharpoons \text{MgY}^{2-} + 2 \text{H}^+$
 - $\text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightleftharpoons \text{CaY}^{2-} + 2 \text{H}^+$
 - $\text{Al}^{3+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightleftharpoons \text{AlY}^- + 2 \text{H}^+$
- Reaksi-reaksi tersebut secara umum ditulis: $\text{M}^{n+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightleftharpoons \text{MY}^{(n-4)+} + 2 \text{H}^+$
- Oleh karena selama titrasi terbentuk ion H^+ maka **untuk mencegah perubahan pH digunakan larutan buffer**.

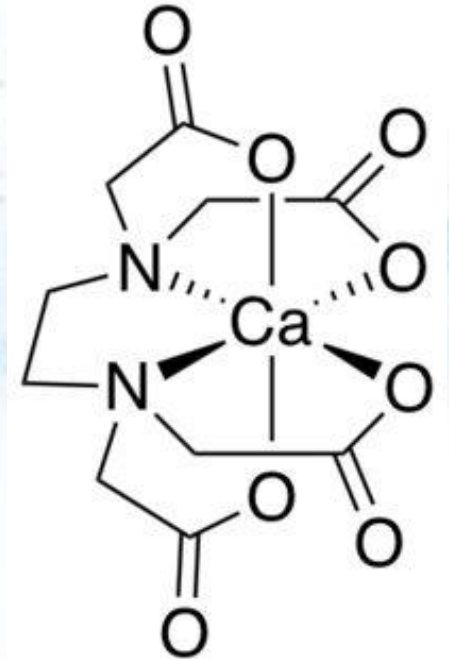
Kompleks EDTA dengan Ion Logam

- Larutan EDTA sangat penting sebagai titran karena EDTA bergabung dengan ion logam dengan perbandingan 1 : 1 tanpa memperdulikan muatan kation. Contoh:
 - $\text{Ag}^+ \rightleftharpoons \text{AgY}^{3-}$
 - $\text{Al}^{3+} \rightleftharpoons \text{AlY}^-$
- EDTA adalah pereaksi yang sangat baik karena membentuk kelat dengan semua kation dan kelat ini cukup stabil.

- Bentuk ion kompleks EDTA dengan ion logam bervalensi dua diperlihatkan dalam gambar sebagai berikut, misal dengan kalsium (Ca^{2+}):



Struktur umum EDTA
mengikat ion logam.
M: logam



APLIKASI TITRASI DENGAN EDTA

- **Titrasi Langsung**

- Larutan ion logam yang akan dititrasi diberi buffer untuk pH tertentu (misalnya pH = 10), kemudian dititrasi, secara langsung dengan larutan standar EDTA.
- Titik akhir titrasi dapat ditentukan dengan mempergunakan indikator logam.

- **Titrasi kembali**

- Dalam beberapa hal, ada logam yang tidak dapat dititrasi secara langsung. Logam-logam ini dapat mengendap pada pH yang sesuai untuk titrasi, atau pembentukan kompleks sangat lambat terjadi, ataupun tidak ada suatu indikator logam yang cocok.
- Untuk hal yang demikian **ke dalam larutan logam tersebut ditambahkan larutan standar EDTA yang berlebih, kemudian diberi larutan buffer, lalu kelebihan EDTA dititrasi dengan larutan standar ion logam.**
- Biasanya dipergunakan larutan standar seng (II) klorida atau sulfat, atau magnesium (II) klorida atau sulfat.

- **Titrasi substitusi**

- Titrasi ini digunakan untuk ion logam yang tak bereaksi (kurang bereaksi) dengan indikator logam, atau ion logam yang membentuk kompleks EDTA yang lebih stabil jika dibandingkan dengan logam lain misalnya magnesium (II) atau kalsium (II).
- Ion logam ini dapat ditentukan dengan mereaksikannya dengan kompleks magnesium-EDTA.
- $M^{n+} + MgY^{2-} \rightleftharpoons (MY)^{(n-4)+} + Mg^{2+}$
- Jumlah magnesium (II) yang dibebaskan ekuivalen dengan ion logam tersebut, yang dapat dititrasi dengan larutan standar EDTA.

APLIKASI TITRASI DENGAN EDTA

- **CONTOH:**

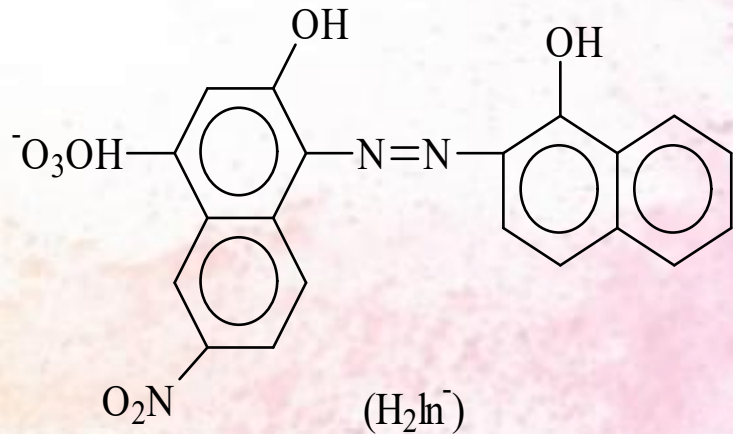
- Salah satu penggunaan dari titrasi EDTA adalah penentuan **kesadahan total dari air**.
- Kesadahan air adalah kandungan mineral-mineral tertentu di dalam air, umumnya ion kalsium (Ca) dan magnesium (Mg) dalam bentuk garam karbonat.
- Kesadahan menyatakan konsentrasi total ion alkali tanah dalam air.
- Karena konsentrasi **Ca^{2+} dan Mg^{2+}** biasanya jauh lebih besar dari pada konsentrasi ion alkali tanah lainnya maka kesadahan dapat dikatakan $= [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}]$.
- Kesadahan biasanya dinyatakan sebagai jumlah miligram CaCO_3 per liter.
- Bila $[\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}] = 1 \text{ nM}$, dikatakan bahwa kesadahan adalah 100 mg CaCO_3 per liter karena $100 \text{ mg } \text{CaCO}_3 = 1 \text{ mmol } \text{CaCO}_3$.
- Air yang kesadahannya kurang dari 60 mg CaCO_3 per liter dikatakan “lunak”.

INDIKATOR TITRASI

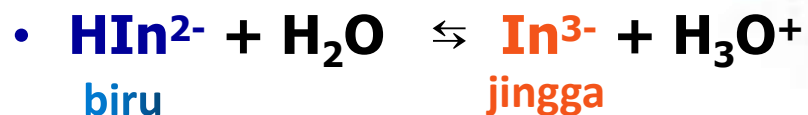
- Indikator adalah suatu zat warna organik yang membentuk kelat berwarna dengan ion logam.
- Beberapa kriteria yang perlu dijadikan acuan dalam memilih indikator ion logam antara lain:
 1. Ikatan zat warna dengan ion logam harus lebih lemah daripada ikatan ion logam dengan EDTA.
 2. Perubahan warna harus mudah diamati mata.
 3. Reaksi warna harus spesifik atau selektif
 4. Harus ada perbedaan jelas antara warna indikator dan warna kompleks iondikator logam

INDIKATOR TITRASI

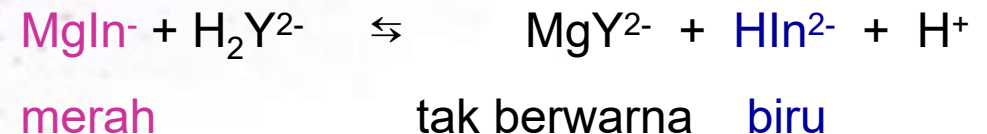
- Salah satu indikator ion logam yang paling banyak digunakan adalah *eriochrome black T* (EBT) yang mempunyai struktur molekul berikut:

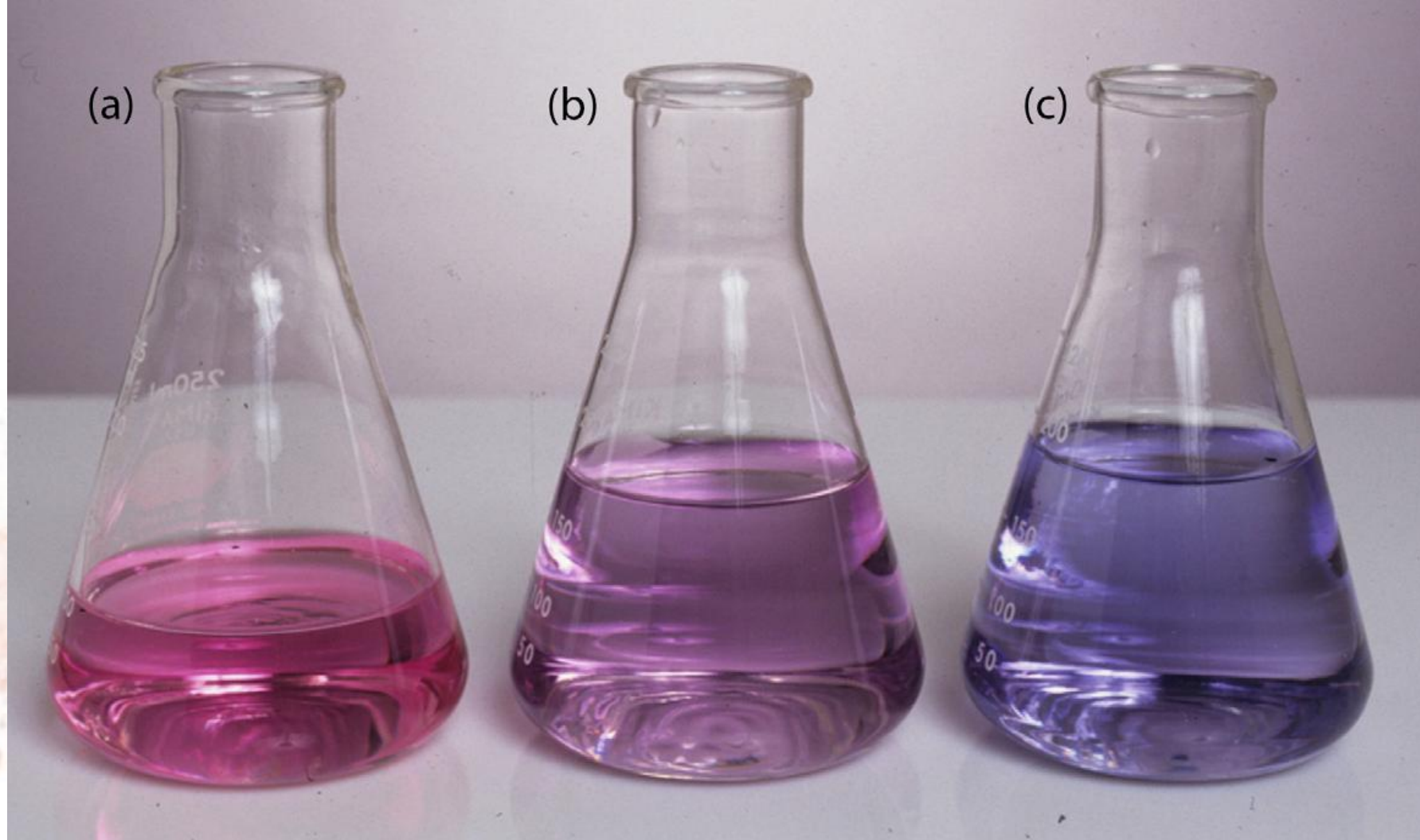


- Molekul EBT biasanya disimbolkan H_3In (asam tripotik)



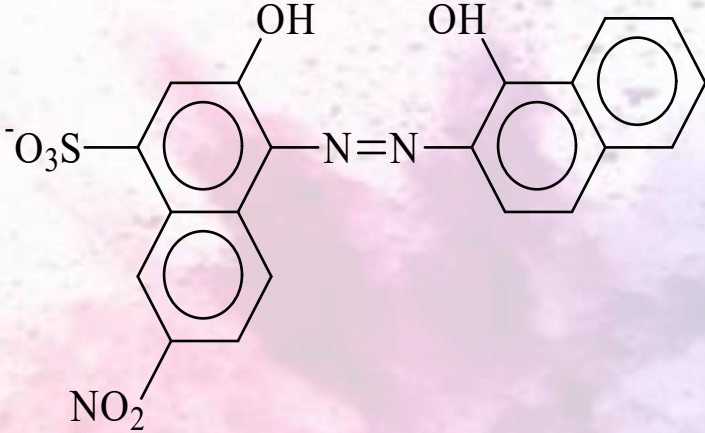
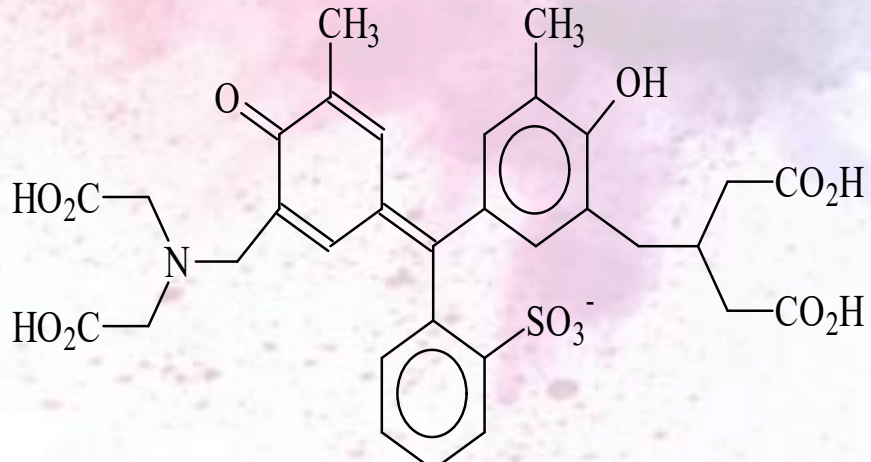
- Kompleks EBT-logam umumnya berwarna **merah**. Setelah penambahan larutan EDTA dimulai, indikator EBT sedikit demi sedikit dibebaskan. Akibatnya warna merah semakin berkurang sedangkan **warna biru semakin dominan**.
 - Bila semua ion logam telah diikat oleh EDTA dan semua EBT telah terbebaskan maka larutan akan berwarna **biru**.
 - Contoh:
 - Pada pH 10, EBT berwarna biru. Jika bereaksi dengan Mg^{2+} maka terbentuk kompleks berwarna merah.
- $$Mg^{2+} + \underset{\text{biru}}{HIn^{2-}} \rightleftharpoons \underset{\text{merah}}{MgIn^-} + H^+$$
- Kompleks $MgIn^-$ lebih lemah dari MgY^{2-} sehingga penambahan EDTA berlebih ke dalam larutan yang mengandung $MgIn^-$ dapat menyebabkan pembentukan kompleks MgY^{2-} .

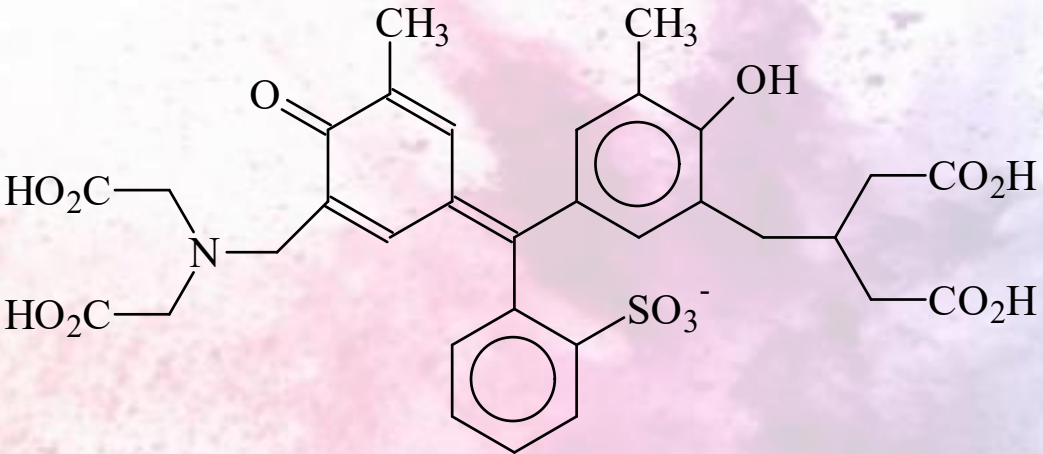


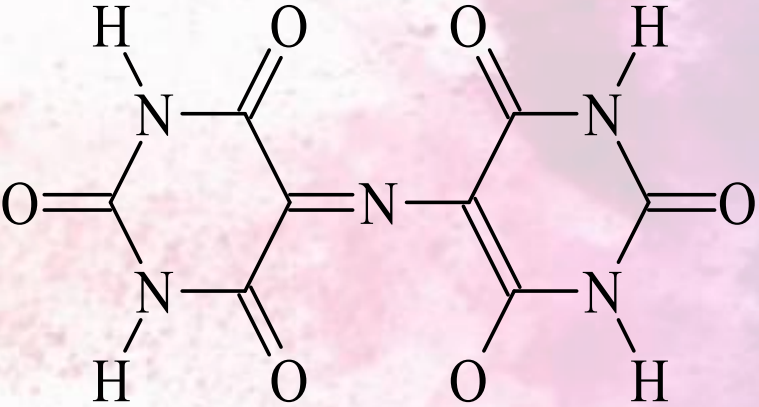


End point for the titration of hardness with EDTA using calmagite as an indicator; the indicator is: (a) red prior to the end point due to the presence of the Mg^{2+} –indicator complex; (b) purple at the titration's end point; and (c) blue after the end point due to the presence of uncomplexed indicator.

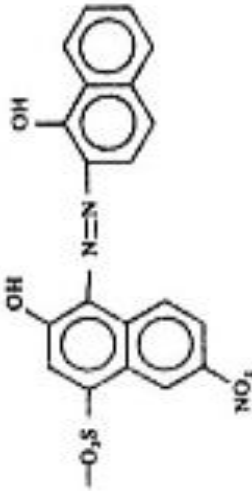
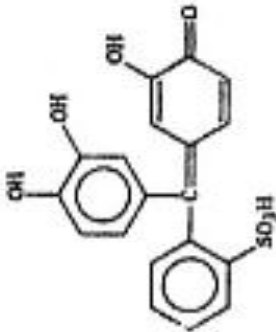
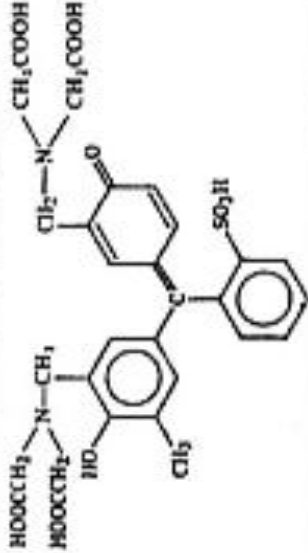
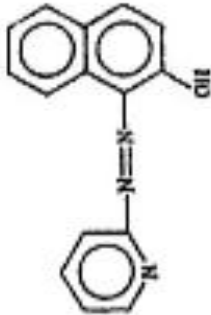
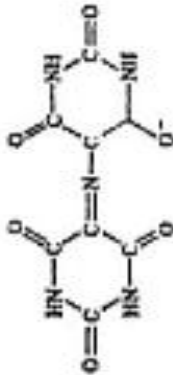
Beberapa Indikator Ion Logam

Nama	Struktur	pKa
Eriochrome Black T		$\text{HIn}^{2-} \xrightleftharpoons{pK_{a_2} = 6,3} \text{H}_2\text{In}^-$ merah biru $\text{HIn}^{2-} \xrightleftharpoons{pK_{a_3} = 11,6} \text{In}^{3-}$ Biru jingga
Calmagite		$\text{H}_2\text{In}^- \xrightleftharpoons{pK_{a_1} = 8,1} \text{HIn}^{2-}$ merah biru $\text{HIn}^{2-} \xrightleftharpoons{pK_{a_3} = 12,4} \text{In}^{3-}$ Biru jingga

Nama	Struktur	pKa
Xylenol Orange		H_5In^- $\xrightleftharpoons{pK_{a_2} = 2,32}$ H_4In^{2-} kuning kuning H_4In^{2-} $\xrightleftharpoons{pK_{a_3} = 2,85}$ H_3In^{3-} Kuning kuning H_3In^{3-} $\xrightleftharpoons{pK_{a_4} = 6,70}$ H_2In^{4-} kuning ungu H_2In^{4-} $\xrightleftharpoons{pK_{a_5} = 10,47}$ HIn^{3-} ungu ungu

Nama	Struktur	pKa
Murexide		$\text{H}_4\text{In}^- \xrightleftharpoons{pK_{a_2} = 9,2} \text{H}_3\text{In}^{2-}$ merah ungu violet $\text{H}_3\text{In}^{2-} \xrightleftharpoons{pK_{a_3} = 10,9} \text{H}_2\text{In}^{3-}$ Ungu biru

Beberapa indikator logam untuk beberapa logam

Indicator	Metal determined in direct titration	
eriochrome black T  (used as its sodium salt)	Ba Cd Ca In Pb Mn rare earths widely used in back titrations and replacement titrations	Sc Sr Zn
pyrocatechol violet 	Al Bi Cd Co Cu Ga Fe Pb	Mg Mn Ni Th Ti Zn
xyleneol orange 	Bi Cd Pb Sc Th Zn	
pyridylazonaphthol (PAN) 	Ch Cu In Sc Zn widely used in back titrations and re-placement titrations	
murexide 	Ca Co Cu Ni mainly of historical interest	



THE END

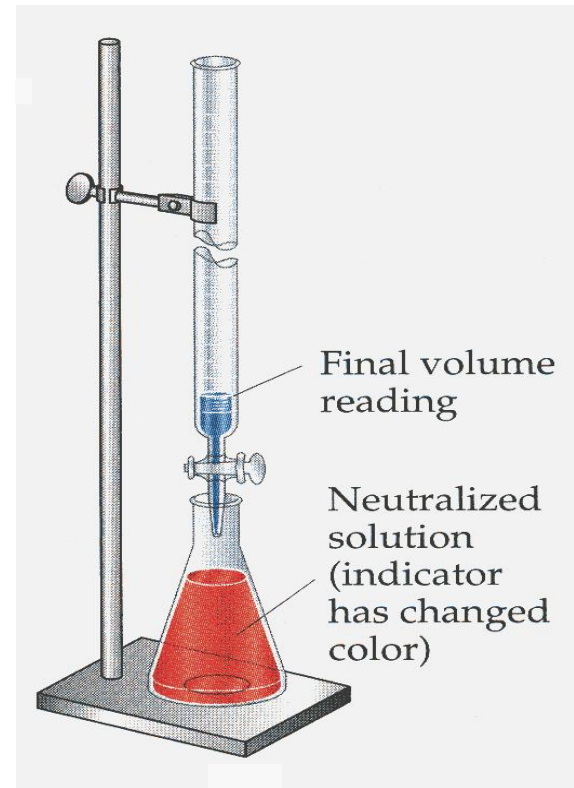
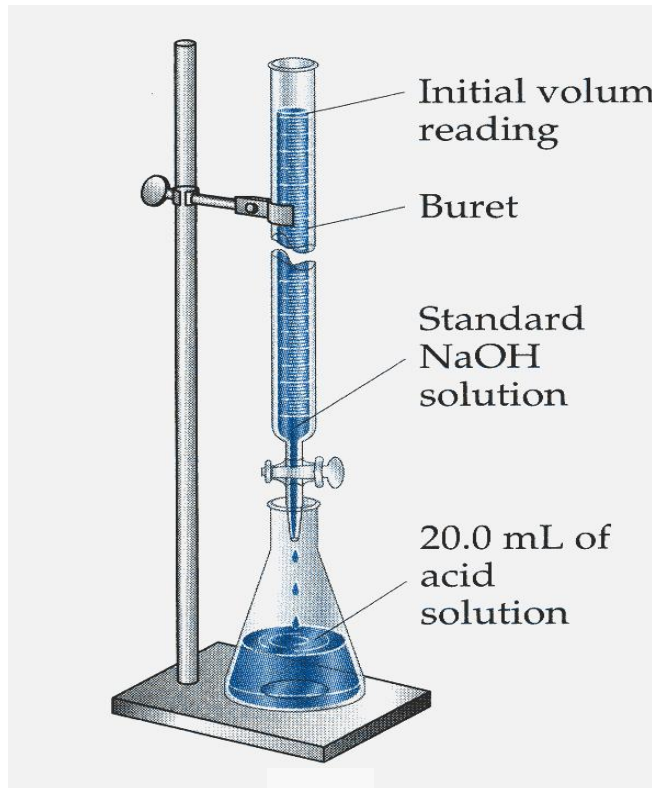
THANK YOU

ARGENTOMETRI

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.

I. Pengantar

- ⑩ Dasar Pembagian met. Volumetri : jenis reaksi kimia antara larutan standar dengan analit



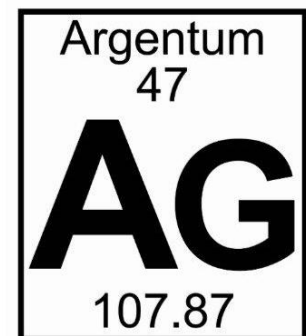
Jenis Volumetri

- Netralisasi (asidi-alkalimetri) : reaksi asam basa
- Redoksimetri : reaksi oksidasi-reduksi (misal: Permanganometri, Iodimetri, Iodometri)
- Kompleksometri : reaksi pembentukan senyawa kompleks
- Presipitimetri: reaksi pembentukan endapan (misal: Argentometri)

Presipitimetri

- Titrasi terhadap analit dengan larutan standar yang ditandai oleh **pembentukan endapan**.
- Syarat endapan :
 - tidak larut
 - pembentukannya cepat
 - hasil titrasi tidak dipengaruhi oleh proses adsorpsi dan kopresipitasi
 - Titik ekuivalen mudah ditentukan
- Larutan standar : **AgNO₃** (perak nitrat) sebagai lar standar primer. Disebut **Argentometri**.
- Larutan analit : Cl⁻, Br⁻, CN⁻, Ag⁺
- Teori dasar :
 - Kelarutan
 - Ksp (tetapan hasil kali kelarutan)
 - Pengendapan bertingkat

kopresipitasi: ikut mengendapnya satu atau lebih zat asing bersama endapan dari komponen zat uji



Pembagian metode Argentometri

Metode	Mohr	Volhard	Leibig
Lar. Standar	AgNO_3	NH_4CNS dan AgNO_3	AgNO_3
Analit	Cl^- , Br^-	Ag^+ , Cl^- , Br^-	CN^- , Ni^{2+}
Indikator	K_2CrO_4 atau bisa dengan pengukuran potensmetri	Fe^{3+}	- KI / I_2
Titik ekuivalen	Endapan merah Ag_2CrO_4	Larutan berwarna merah	Endapan permanen

1. Metode Mohr

- Reaksi :



Endapan merah terbentuk setelah endapan putih selesai terbentuk/bereaksi.

Ini terjadi karena tetapan hasil kelarutan adalah sebagai berikut :

$$K_{sp} \text{ AgCl} = [\text{Ag}^+] [\text{Cl}^-] = 1,1 \times 10^{-10}$$

$$K_{sp} \text{ Ag}_2\text{CrO}_4 = [\text{Ag}^+]^2 [\text{CrO}_4^{2-}] = 1,7 \times 10^{-12}$$

$$\text{Misal } [\text{Cl}^-] = [\text{Ag}^+] = 0,1 \text{ N}$$

- *) Tetapan hasil kali kelarutan: adalah hasil kali konsentrasi ion- ion dari larutan jenuh garam yang sukar larut dalam air, setelah masing- masing konsentrasi dipangkatkan dengan koefisien menurut persamaan ionisasinya

1. Metode Mohr

Cara :

Untuk mengendapkan ion Cl^- :

- $[\text{Ag}^+] = 1,1 \times 10^{-10} / 10^{-1} = 1,1 \times 10^{-9} \text{ M}$

jauh lebih mudah
bereaksi presipitasi
dibanding

Untuk mengendapkan ion CrO_4^{2-} :

- $[\text{Ag}^+] = \sqrt{1,7 \times 10^{-12} / 10^{-1}} = 0,41 \times 10^{-5} \text{ M}$

Endapan putih terbentuk lebih dulu, karena ion Ag^+ yang diperlukan oleh ion Cl^- lebih sedikit daripada oleh ion CrO_4^{2-}

1. Metode Mohr

Penggunaan :

- Penentuan konsentrasi ion Cl^- sebagai garam dalam larutan

Cara perhitungan :

$$\text{Mol } \text{Cl}^- \approx \text{Mol } \text{Ag}^+$$

$$V. M (\text{Cl}^-) \approx V. M (\text{Ag}^+)$$

Data diketahui : Vol. larutan Cl^- , N larutan Ag^+

Data pengamatan : Vol. larutan Ag^+

Contoh : Metode Mohr

- Sebanyak 50 ml air laut ditentukan kandungan NaCl nya dengan cara menitrasiya menggunakan larutan standar AgNO_3 0,2M. Jika diperlukan 32 ml AgNO_3 , maka tentukan berapa g/L kandungan NaCl
- Suatu sampel yang mengandung 0,5 gram campuran LiCl ($M_r = 42,5$) dan BaBr_2 ($M_r = 297$) diititrasi dengan larutan standar AgNO_3 0,1M memerlukan 50,5 ml. Tentukan % masing-masing

2. Metode Volhard

- **Penentuan larutan Ag^+ :**

Langsung dititrasi dengan lar. standar CNS^- , indikator lar. Fe^{3+}

Reaksi :



Cara perhitungan :

mol larutan $\text{Ag}^+ \approx$ mol larutan CNS^-

- $V. M (\text{larutan } \text{Ag}^+) \approx V.M (\text{larutan } \text{CNS}^-)$

2. Metode Volhard

- **Penentuan larutan ion Cl^- :**

- Larutan standar Ag^+ ditambahkan ke dalam lar. sampel secara berlebihan kemudian sisanya dititrasi dengan lar. standar CNS^- , Indikator Fe^{3+}

- Reaksi :



2. Metode Volhard

- **Cara perhitungan :**

$\text{Mol Cl}^- = \text{Mol Ag}^+$ yang bereaksi

$\text{Mol Ag}^+ \text{ yb} = \text{mol Ag}^+ \text{ awal} - \text{mol Ag}^+ \text{ sisa}$

$\text{Mol Ag}^+ \text{ sisa} \approx \text{Mol CNS}^-$

Contoh: Metode Volhard

- Suatu sampel mineral SrCl_2 kotor akan ditentukan kemurniannya dengan met. Volhard. Untuk itu 0,5 g sampel dilarutkan dalam akuades dan ditambah lar. AgNO_3 0.2M 50 ml. Jika larutan tersebut dapat dititrasi dengan 24,6 ml lar. NH_4CNS 0,25M maka tentukan kadar (%) SrCl_2 ($M_r = 158,6$) dalam sampel tersebut

3. Metode Leibig

- Penentuan ion CN^-

Jika lar. AgNO_3 ditambahkan ke dalam larutan CN^- mula-mula akan terjadi endapan, yang jika diaduk, endapan akan larut karena membentuk $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$

Jika semua reaksi tsb telah sempurna maka dengan adanya sedikit ion Ag akan terbentuk endapan $\text{Ag}[\text{Ag}(\text{CN})_2]$ yang permanen

3. Metode Leibig

- **Reaksi :**



----- +



3. Metode Leibig

- **Cara perhitungan :**
 $1 \text{ mol Ag}^+ = 2 \text{ mol CN}^-$

Contoh :

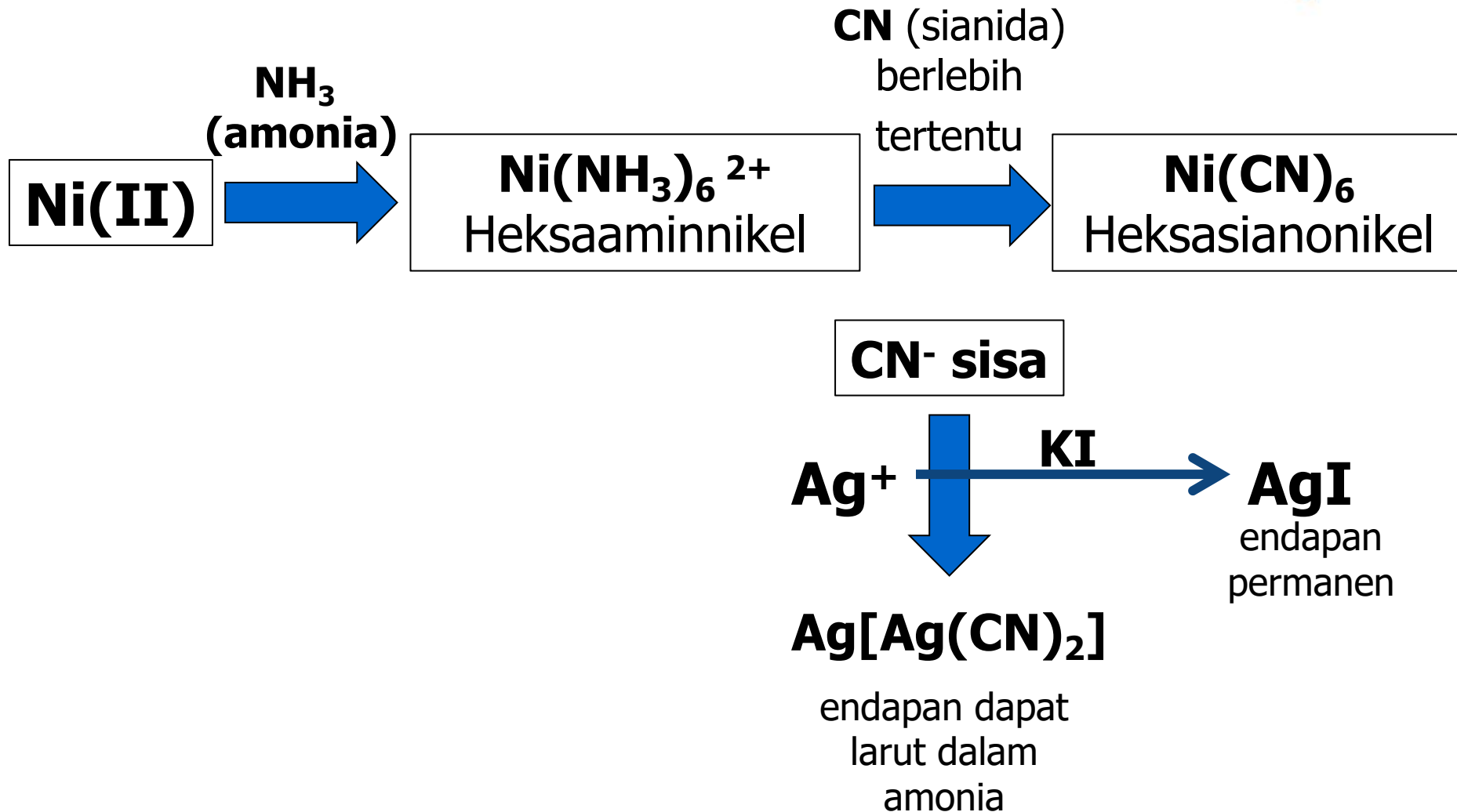
- Jika 1 gram garam KCN kotor dilarutkan dalam 50 ml air kemudian dititrasi dengan lar. AgNO_3 0,1M memerlukan 24 ml, maka tentukan berapa % kemurnian garam tersebut?

3. Metode Leibig

- Penentuan Ni(II) :

Larutan yang mengandung ion Ni(II) direaksikan dengan amonia membentuk kompleks heksaaminnikel. Kemudian direaksikan dengan larutan standar CN yang berlebihan, sehingga terbentuk kompleks siano. Kelebihan ion CN selanjutnya dititrasi dengan larutan standar AgNO_3 sampai terbentuk endapan permanen $\text{Ag}[\text{Ag}(\text{CN})_2]$. Karena endapan tersebut dapat larut dalam amonia maka indikator yang digunakan adalah KI, dimana TE ditandai oleh endapan AgI

3. Metode Leibig



Reaksi yang terjadi (belum sempurna) :

- $\text{Ni}^{2+} + \text{NH}_4\text{OH} \rightarrow \{\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\}^{2+} + \text{H}_2\text{O}$
 - $\{\text{Ni}(\text{NH}_3)_6\}^{2+} + \text{CN}^- \rightarrow \{\text{Ni}(\text{CN})_4\}^{2-} + \text{NH}_4\text{OH}$
 - $\text{CN}^- + \text{Ag}^+ \rightarrow \{\text{Ag}(\text{CN})_2\}^+$
 - $\text{Ag}^+ + \{\text{Ag}(\text{CN})_2\}^+ \rightarrow \text{Ag}\{\text{Ag}(\text{CN})_2\}$
 - $\text{Ag}^+ + \text{I}^- \rightarrow \text{AgI}$ (endp kuning)
-
- 1 mol Ni(II) = 4 mol CN
 - 1 mol Ag = 2 mol CN
 - Mol Ni(II) $\approx$ mol CN - mol Ag

Contoh 1 : Metode Leibig

- Kandungan Ni dalam suatu larutan basa akan ditentukan secara argentometri.
- Ke dalam sampel Ni amoniakal ditambahkan 50 ml KCN yang mengandung 13mg KCN/ml. Jika kelebihan ion CN dapat dititrasi dengan 6 ml lar. AgNO_3 0,1M, maka tentukan berapa gram Ni yang terdapat dalam sampel tersebut

Contoh 2: Metode Leibig

- Hitunglah berapa % Ni terdapat dalam bijih nikel, jika 1 gram sampel dilarutkan dan direaksikan dengan amonia kemudian ditambah dengan 3,25 gram KCN. Kelebihan KCN dapat dititrasi dengan 50 ml lar. AgNO_3 0,1M dengan indikator KI



THE END

Titration Nitrimetri

apt. Dian Purwita Sari, M.Biotech.

Pengertian

- ▶ Nitrimetri adalah metoda titrasi yang menggunakan NaNO_2 (natrium nitrit) sebagai titran dalam suasana asam.
- ▶ Pada suasana asam, NaNO_2 berubah menjadi HNO_2 (asam nitrit) yang akan bereaksi dengan sampel yang dititrasi membentuk **garam diazonium**. Seringkali disebut reaksi diazotasi.



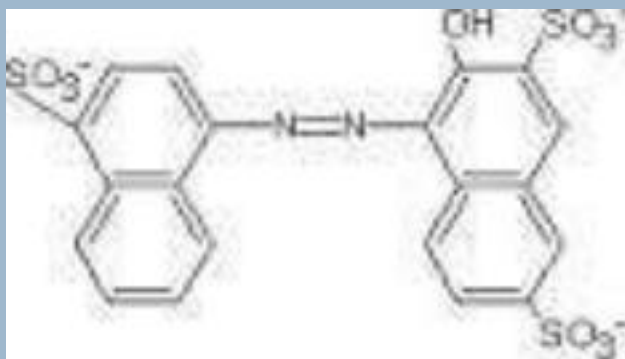
Perbedaan Azo dan Aza

AZO:

Nitrogen present & linked in open chain



Aromatic & Aliphatic amines

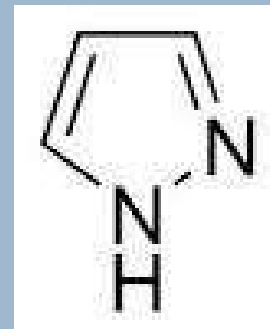
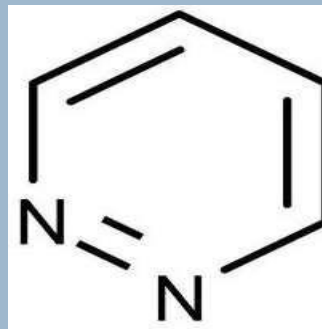


Eg: Amarant

AZA:

Nitrogen present & linked in inside chain.

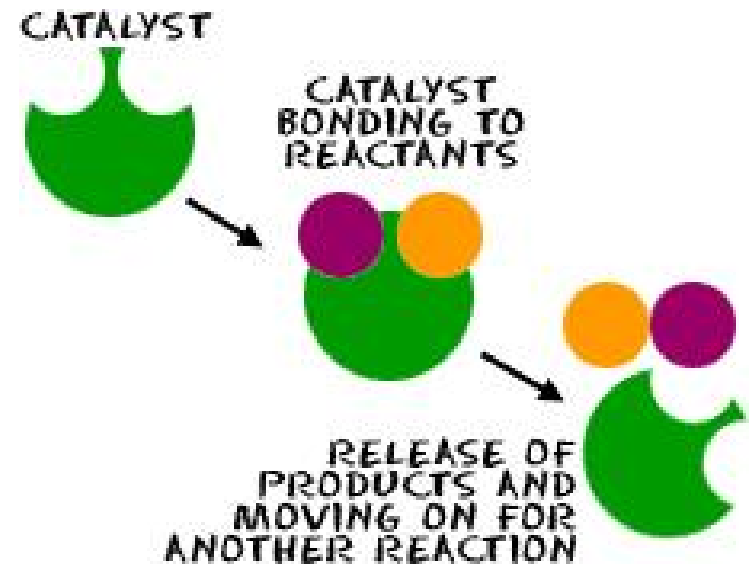
Eg: Nitrogen containing Heterocyclic compounds



Eg: Pyridiazine, Pyrazole.

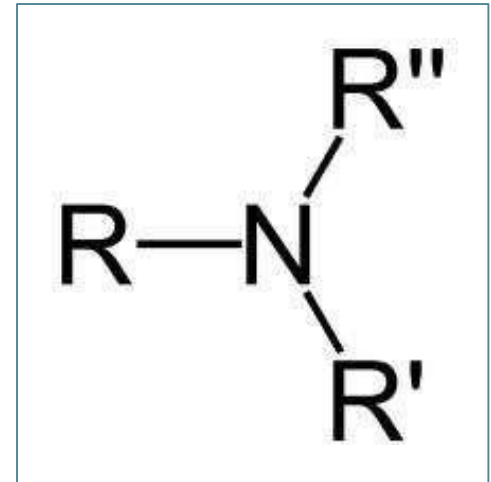
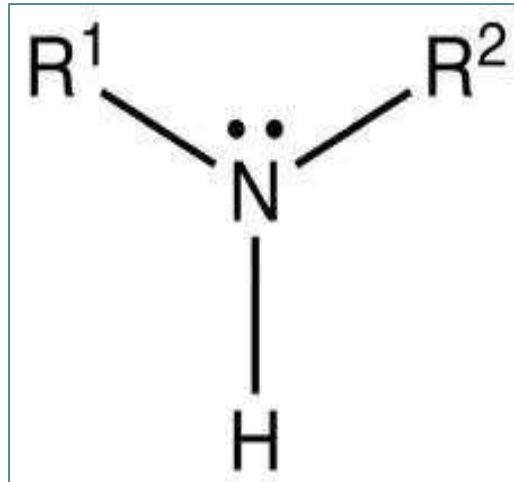
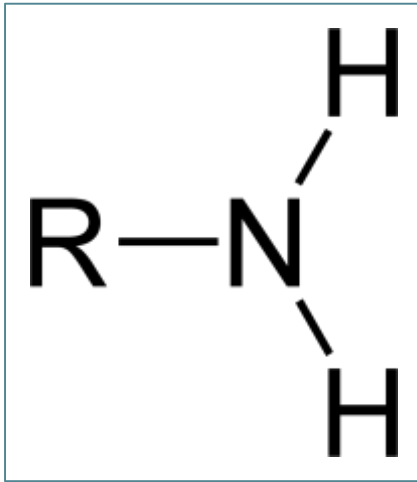
Katalis

- ▶ Pembentukan garam diazonium berjalan lambat, oleh karena itu untuk mempercepatnya dapat ditambahkan **KBr** (kalium bromida) sebagai katalis.



Sample

- ▶ Zat yang dapat dititrasi dengan nitrimetri adalah zat yang mengandung gugus -NH_2 (amin) aromatis primer atau zat lain yang dapat dihidrolisis/direduksi menjadi amin aromatis primer.



Penentuan titik akhir titrasi

- ▶ Visual
- ▶ Elektrometri (potensiometri)



Penentuan TAT

► Visual

► Indikator Dalam

- dengan tropeolin-oo (5 tetes) dan metilen blue (3 tetes).

► Indikator Luar

- dengan pasta kanji-KI atau kertas kanji-iodida.



Indikator Dalam

- ▶ Indikator dalam adalah indikator yang dimasukkan ke dalam Erlenmeyer (campuran reaksi),
Penggunaan indikator dalam mempunyai kelebihan dan kekurangan, yaitu :
 - ▶ Kelebihan :
 - ▶ cara kerja cepat dan praktis
 - ▶ dapat dilakukan pada suhu kamar
 - ▶ Kekurangan :
 - ▶ penggunaan terbatas hanya untuk beberapa zat saja, untuk beberapa zat lainnya perubahannya tidak jelas



Indikator Luar

Indikator luar diletakkan diluar Erlenmeyer.

Campuran reaksi diteteskan pada indikator di luar erlenmeyer.

▶ Kelebihan :

- ▶ untuk beberapa zat lebih tepat dipakai karena perubahan warna lebih jelas

▶ Kekurangan :

- ▶ cara kerja tidak praktis
- ▶ terlalu sering menotol menyebabkan adanya kemungkinan zat terbuang
- ▶ titrasi harus dilakukan pada suhu dibawah 15°C



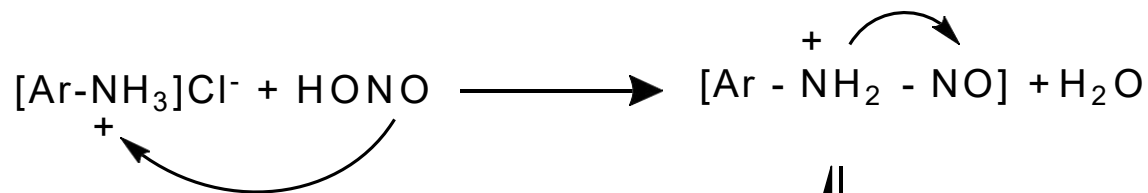
Elektrometri (potensiometri)

- ▶ Elektroda yang digunakan adalah sepasang elektroda platinum, atau elektroda natrium. Titik akhir ditandai dengan terdepolarisasinya elektroda tersebut sehingga jarum petunjuk pada galvanometer tidak kembali ketempat semula.

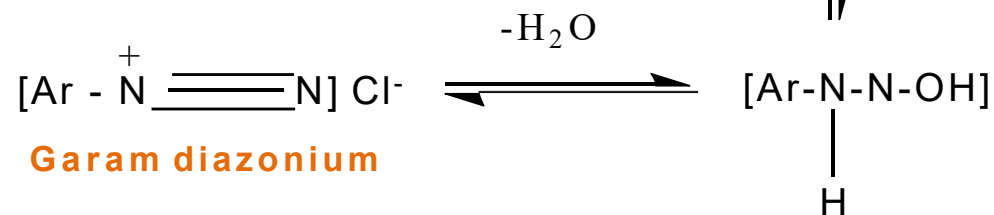


Reaksi

► Tanpa KBr

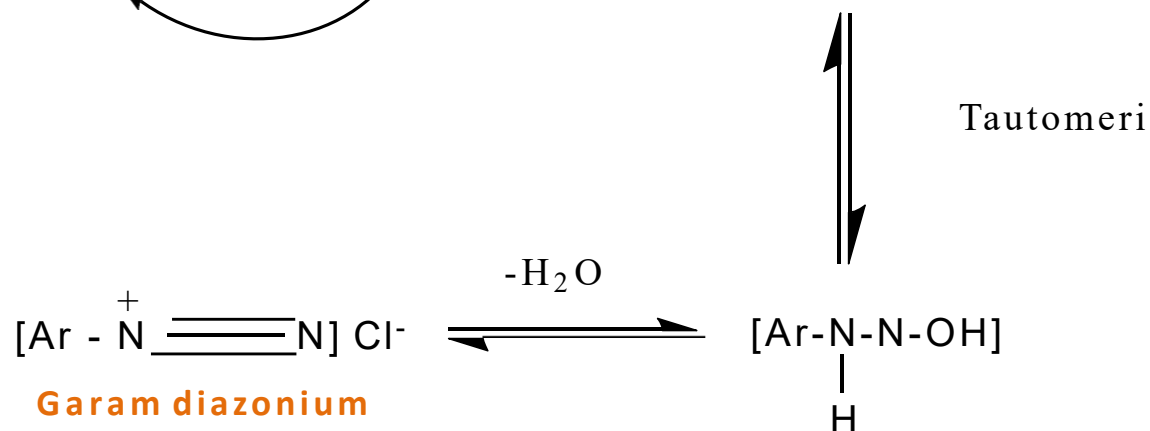
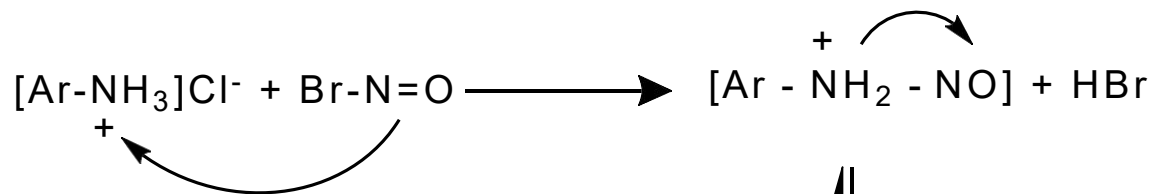
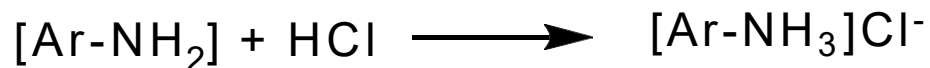
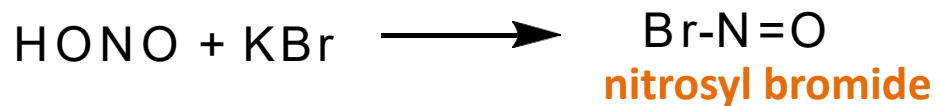


Tautometri



Reaksi

► Dengan penambahan KBr



▶ Fungsi penambahan HCl :

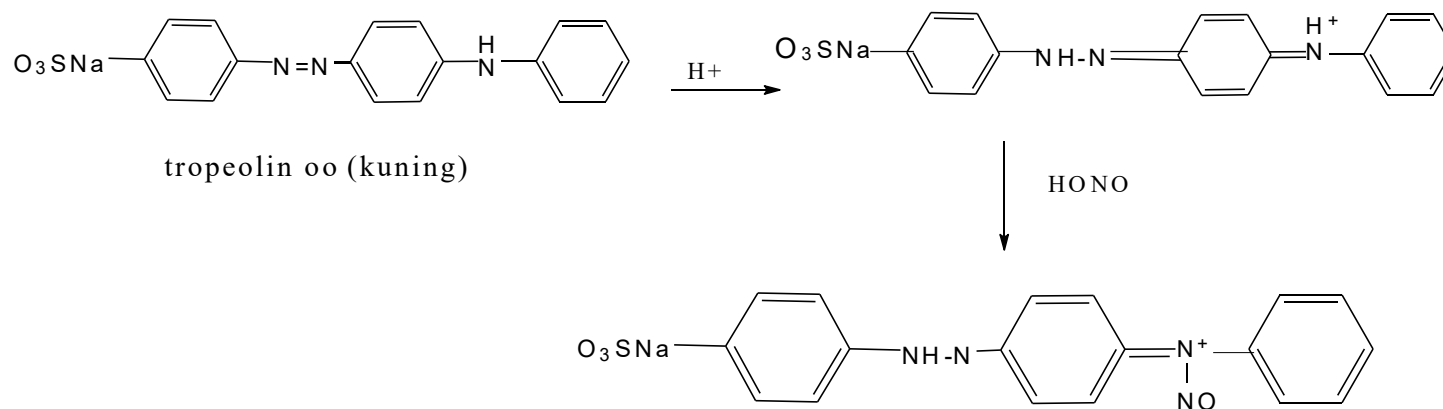
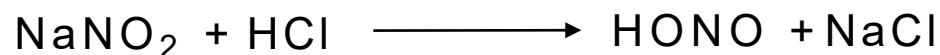
- ▶ melarutkan zat
- ▶ melarutkan $\text{NaNO}_2 \rightarrow \text{HONO}$
- ▶ membentuk garam diazonium



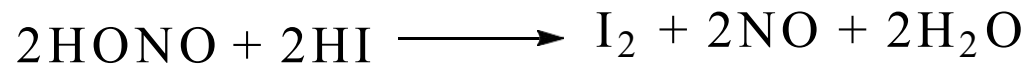
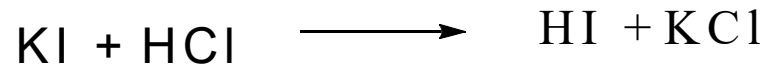
Interaksi NaNO_2 dengan indikator

- ▶ apabila sampel telah bereaksi semua dengan NaNO_2 , maka NaNO_2 akan berinteraksi dengan indikator.

Interaksi dengan indikator dalam :



► Interaksi dengan indikator luar



Hal-hal yang perlu diperhatikan

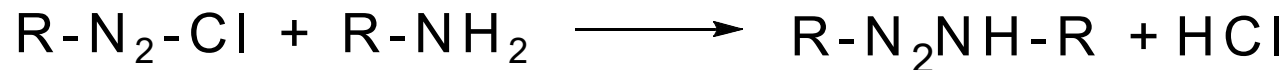
- ▶ Apabila digunakan indikator luar, **suhu harus dibawah 15°C** karena bila suhu tinggi garam diazonium akan pecah → uap NO → hasil tidak akurat, bila menggunakan indikator dalam suhunya tidak harus 15°C tetapi harus tetap dijaga supaya tidak terlalu tinggi.
- ▶ Penetesan NaNO_2 dari buret **jangan terlalu cepat** karena pembentukan garam diazonium memerlukan waktu yang lama. Bila penetesan terlalu cepat → HONO belum bereaksi dengan sampel → begitu ditetaskan dengan indikator luar akan menimbulkan warna biru langsung, maka hasil tidak akurat.



Hal-hal yang perlu diperhatikan

- ▶ pH harus asam karena apabila keasaman kurang maka titik akhir titrasi tidak jelas dan garam diazonium yang terbentuk tidak sempurna karena garam diazonium tidak stabil pada suasana netral atau basa.

Pada suasana netral:



Pada suasana basa akan terbentuk fenol.



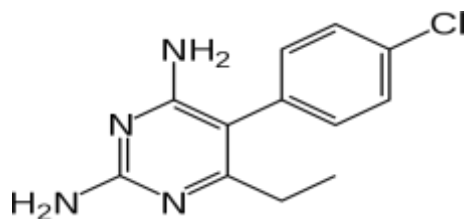
Hal-hal yang perlu diperhatikan

- ▶ Pemakaian KBr boleh dilakukan ataupun tidak, tetapi apabila tidak ditambahkan KBr **suhu harus dibawah 15°C.**
- ▶ Bila menggunakan indikator luar, hati-hati pada reaksi titik akhir palsu. Titik akhir dicapai bila saat digoreskan pada pasta kanji-KI **langsung terbentuk warna biru.** Ketika dalam waktu agak lama pasta-kanji-KI menjadi biru, maka hal tsb tidak manandakan titik akhir, hal ini bisa terjadi karena oksidasi udara atau garam diazonium yang bereaksi dengan KI.

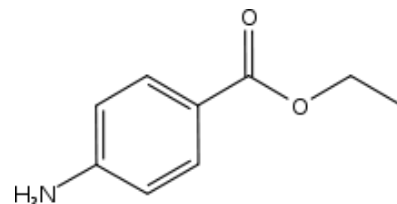


Sample

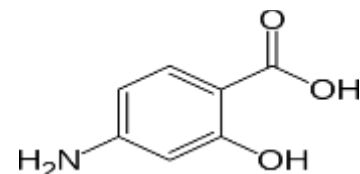
Pyrimethamine



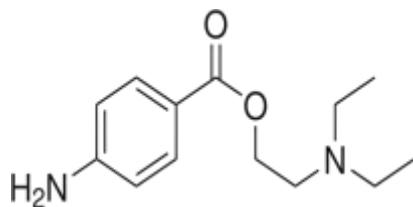
Benzocaine



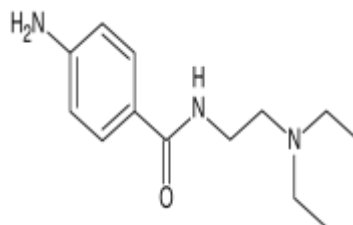
Amino Salicylic acid



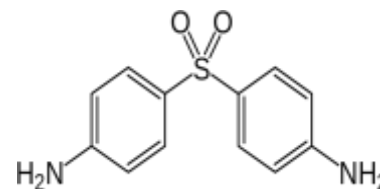
Procaine



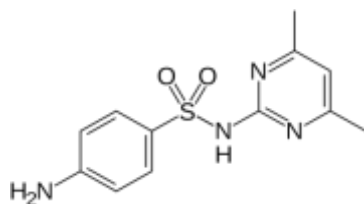
Procainamide



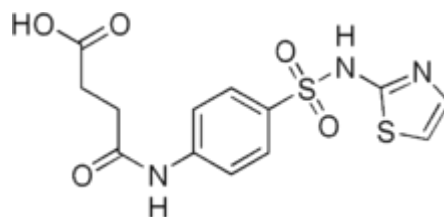
Dapsone



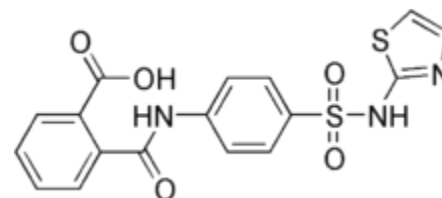
Sulfa drugs



Succinyl Sulfathiazole



Phthalylsulfathiazole



THE END





ANALISIS KIMIA KUANTITATIF

GRAVIMETRI

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA



Tahap-Tahap Pekerjaan dalam Analisis Kimia Kuantitatif

- ✓ Sampling
- ✓ Mengubah konstituen yang diinginkan menjadi bentuk yang dapat diukur
- ✓ Pengukuran konstituen yang diinginkan
- ✓ Penghitungan dan interpretasi data analitik

ANALISIS KIMIA KUANTITATIF

Metode Konvensional:

- Cara Gravimetri
- Cara Volumetri

Metode Fisiko-Kimia Modern:

- Cara Elektrokimia
- Cara Spektrometri
- Cara Kromatografi

METODE ANALISIS GRAVIMETRI

Gravimetri ?

Adalah metode analisis berdasarkan atas pengukuran massa analit atau senyawa yang mengandung analit.

Macam Metode Gravimetri

Konvensional:

- ✓ Metode pengendapan
- ✓ Metode Penguapan

Modern:

- ✓ Elektrogravimetri/Elektrodeposisi
- ✓ Termogravimetri

✓ Metode Pengendapan

Isolasi endapan pada komposisi yang diketahui



✓ Metode Penguapan

Analit diuapkan, ditimbang dan bagian yang hilang ditentukan

Contoh : Penentuan kadar air dalam makanan

Contoh soal :

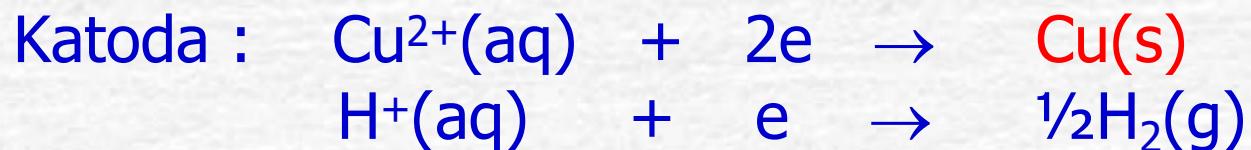
- Sebanyak 2,0000 gram cuplikan bahan makanan dipanaskan di dalam oven pada suhu 105°C, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang. Pekerjaan diatas dilakukan berulang hingga massanya konstan (perbedaan massa maksimal 4×10^{-4} gram). Setelah konstan, massanya 1,2356 gram. Hitung berapa kadar air yang terkandung di dalam sampel.

$$\text{Kadar air} = \frac{(2,000 - 1,2356)}{2,000} \times 100\%$$

✓ Metode Elektrogravimetri/Elektrodeposisi(Elektrolisa)

Cuplikan yang akan dianalisis ditempatkan di dalam sel elektrolisa. Setelah dilakukan elektrolisis, logam yang menempel pada katoda ditimbang.

Contoh : Penentuan Cu dalam larutan pada suasana asam menggunakan katoda Pt.



Contoh soal:

Arus listrik 1 amper dilewatkan selama 1 jam melalui larutan peraknitrat 1%. Tentukan Massa perak ($\text{Ag} = 108$) yang diendapkan!

$$\text{Berat Zat (g)} = \frac{\text{Coulomb} \times \text{BE (g/ek)}}{96487 \text{ Coulomb mol e}^- \times n (\text{mole}^-/\text{mol zat})}$$

✓Termogravimetri

Salah satu metode untuk menentukan produk dari dekomposisi termal untuk memantau massa sampel sebagai fungsi temperatur

Metode Gravimetri Cara Pengendapan

Prinsipnya adalah : “mengubah bentuk komponen-komponen yang diinginkan menjadi bentuk yang sukar larut.”

Theodore W. Richards (1868 - 1928)

the first American to receive the
Nobel Prize in Chemistry in 1914.

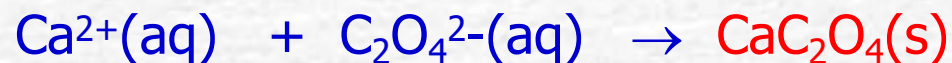


Dasar reaksi : $aA + rR \rightarrow AaRr$

Bentuk ini kemudian harus dapat dipisahkan secara sempurna, dicuci, dikeringkan dan ditimbang.

Contoh :

Kalsium dapat ditetapkan secara gravimetri dengan cara pengendapan sebagai kalsium oksalat. Selanjutnya dilakukan pemangangan hingga kalsium oksalat tersebut menjadi kalsium oksida dan ditimbang sebagai kalsium oksida.



Syarat-syarat gravimetri dengan cara pengendapan

Bentuk senyawa yang diendapkan adalah :

- ✓ Kelarutan zat yang dibuat endapan harus rendah
- ✓ Endapan yang terbentuk harus mudah disaring dan dicuci sehingga bebas dari kontaminan.
- ✓ Endapan harus murni

Syarat-syarat bentuk endapan yang ditimbang adalah :

- ✓ Stoikiometri
- ✓ Tidak reaktif dengan konstituen atmosfer
- ✓ Diketahui komposisinya setelah dikeringkan/dipijarkan.
- ✓ Mempunyai kestabilan yang tinggi
- ✓ Faktor gravimetrinya kecil

$$\text{Faktor Gravimetri} = \frac{\text{Ar atau Mr yang dicari}}{\text{Mr endapan yang ditimbang}}$$

Contoh bentuk senyawa yang diendapkan dan ditimbang

Ion yang ditetapkan	Pereaksi pengendap	Senyawa yang diendapkan	Senyawa yang ditimbang	Faktor gravimetri
Fe^{3+}	NH_4OH	$\text{Fe}(\text{OH})_3$	Fe_2O_3	
Ba^{2+}	H_2SO_4	BaSO_4	BaSO_4	
Cu^{2+}	NaOH	$\text{Cu}(\text{OH})_2$	CuO	
SO_4^{2-}	BaCl_2	BaSO_4	BaSO_4	
Cl^-	AgNO_3	AgCl	AgCl	

Tentukan faktor gravimetrinya !

Langkah-langkah dalam analisis gravimetri

- ✓ Persiapan larutan sampel
- ✓ Pengendapan
- ✓ Digest (menumbuhkan kristal-kristal endapan)
- ✓ Penyaringan
- ✓ Pencucian
- ✓ Pengeringan atau Pemijaran
- ✓ Penimbangan
- ✓ Perhitungan

Langkah-langkah yang harus diperhatikan dalam analisis gravimetri

- 1. Penambahan Pereaksi Pengendap.
- 2. Pembentukan Endapan.
- 3. Kontaminasi Endapan.
- 4. Menyaring dan Mencuci Endapan.
- 5. Pengeringan dan Pemanasan Endapan

1. Penambahan Pereaksi Pengendap

Sebagai pereaksi pengendap dapat digunakan senyawa anorganik atau senyawa organik tetapi dipilih yang spesifik dan mudah menguap.

Mengapa harus dipilih yang mudah menguap?

Bila zat pengganggu tidak dapat hilang pada waktu pencucian, dapat dihilangkan pada waktu pemanasan

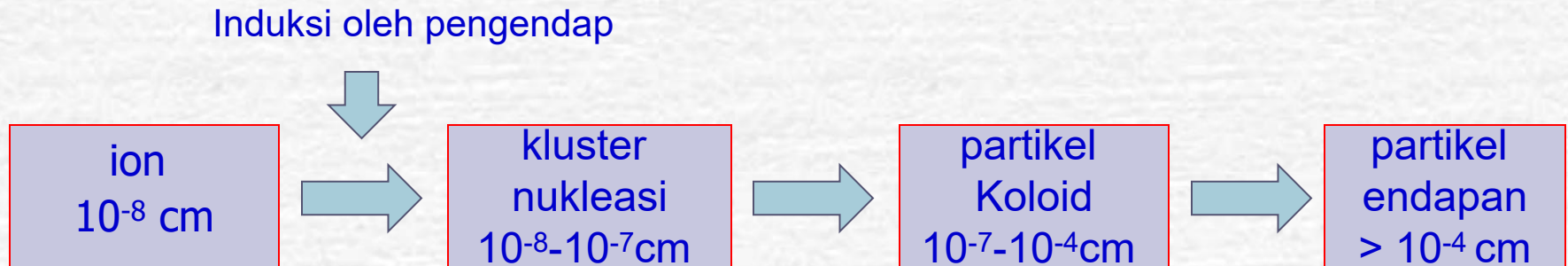
Contoh, untuk mengendapkan ion :

- Fe^{3+} lebih baik digunakan pereaksi NH_4OH dari pada KOH atau NaOH
- Ba^{2+} lebih baik digunakan pereaksi H_2SO_4 dari pada Na_2SO_4 atau K_2SO_4
- Ag^+ lebih baik digunakan pereaksi HCl dari pada KCl atau NaCl

2. Pembentukan Endapan

Yang utama dalam analisis gravimetri adalah pembentukan endapan yang murni dan mudah disaring.

Tahap Pembentukan Endapan



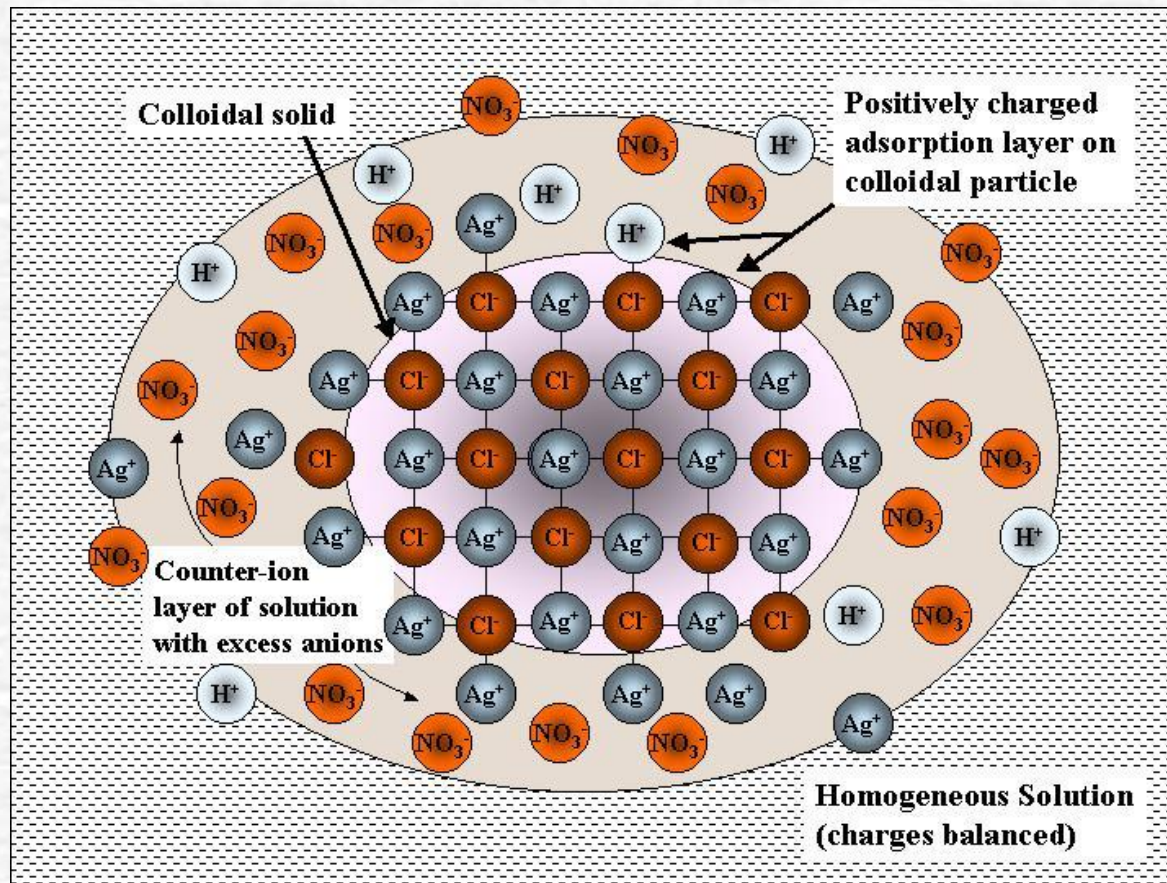
Pengendapan terjadi karena :

- ✓ Partikel yang sangat kecil yang disebut nukleus,
- ✓ Karena ada ion-ion yang bergerak, maka pada permukaan nukleus akan menempel ion-ion yang berlawanan muatannya,
- ✓ Setelah terjadi nukleus, maka akan tumbuh koloid kemudian terjadi endapan yang besar.

Contoh :



Kecenderungan koloid akan mengadsorpsi ion-ion pada permukaan sehingga permukaan akan bermuatan



Peptisasi

Proses melarutnya endapan menjadi koloid.

Pada waktu endapan dicuci, akan ada sebagian endapan yang larut sehingga endapan tersebut akan kembali menjadi koloid.

Akibatnya pada waktu disaring ada endapan yang lolos dari kertas saring.

Pencegahan :

Pada saat pencucian, endapan dicuci dengan elektrolit.

Contoh :



Pada pencucian ditambahkan H_2SO_4 pekat 2 tetes dalam 1L akuades, sehingga reaksi akan bergerak ke kiri.

Ketidak murnian endapan, disebabkan:

1. Kopresipitasi

- a. Oklusi
- b. Adsorpsi permukaan

2. Pospresipitasi

✓Kopresipitasi

Oklusi

Pengotor yang terkurung diantara butir-butir endapan yang menggumpal menjadi satu.

Jika proses pertumbuhan kristal lambat, zat pengotor akan larut lagi dan partikel akan tumbuh menjadi partikel besar dan murni.

Sebaliknya jika pertumbuhan cepat, maka zat pengotor masuk ke dalam kisi-kisi kristal.

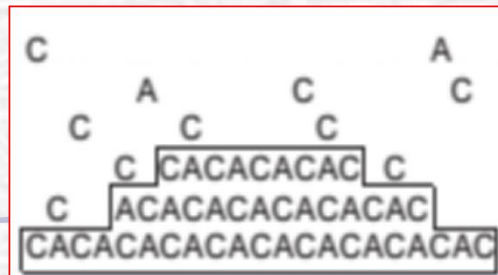


Pencegahan :

Penambahan pereaksi sedikit-sedikit, dan dipanaskan sambil diaduk perlahan-lahan.

Adsorpsi permukaan :

Terjadi pada permukaan lapisan induk. Jumlah zat yang diadsorpsi akan bertambah dengan bertambah besarnya nukleus.



✓ Pospresipitasi

Terjadinya endapan ke-2 setelah pengendapan ke-1.
Ini disebabkan karena ada garam yang sukar larut.

Contoh :

Cu^{2+} diendapkan sebagai CuS dengan adanya Zn^{2+} ,
 ZnS juga akan mengendap.



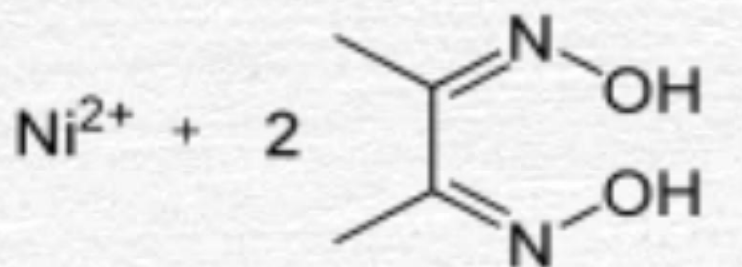
CACACACACACACACACA
ACACACACACACACACAC
CACACACA^MACACACACACA
ACACACACACACA^MACACAC
CACACACACACACACACACA
A^MACACACACACACACACAC
CACACACACACACACACACA

Penambahan Pereaksi Pengendap

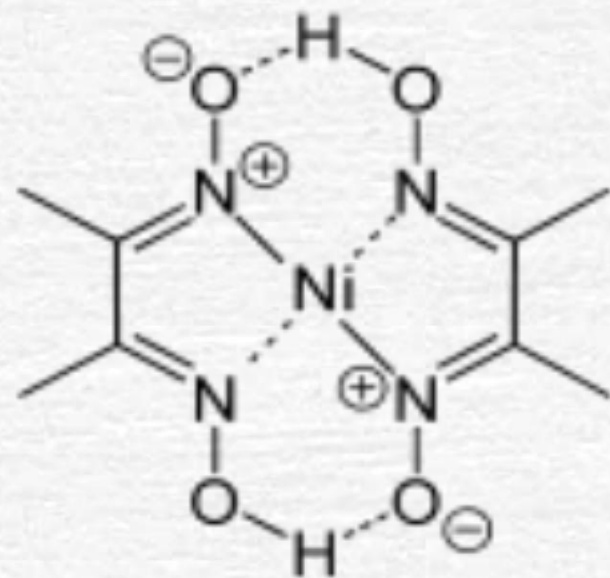
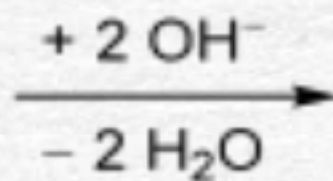
- Sebagai pereaksi pengendap dapat digunakan senyawa anorganik atau senyawa organik tetapi dipilih yang spesifik dan mudah menguap.
- Mengapa harus di pilih yang mudah menguap?

Contoh Pereaksi Pengendap

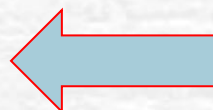
Senyawa anorganik	Senyawa Organik
NH ₄ OH untuk Fe	Dimetilglioksim untuk Ni
NaOH untuk Cu	8-hidroksiquinolin untuk Mg
HCl untuk Ag	1-nitroso-2 naftol untuk Co
H ₂ SO ₄ untuk Ba	



Dimetilglioksima
(DMG)



Ni-DMG



Penyaringan endapan

Penyaringan endapan dapat dilakukan dengan :

1. Kertas saring

yang digunakan adalah kertas saring yang sangat rendah kadar abunya (**Kertas Saring Bebas Abu**).

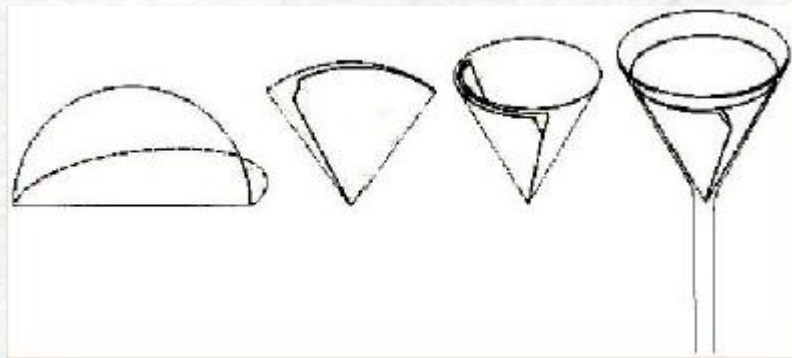
Ada tiga tekstur kertas saring, yaitu :

- a. untuk endapan halus
- b. untuk endapan sedang (medium)
- c. untuk endapan mirip gelatin dan endapan kasar.

Karakteristik kertas saring (Whatman)

Kertas saring	Partikel kasar	Partikel sedang	Partikel halus
Nomor	41	40	42
Abu (mg)	0,08	0,08	0,09

Cara Melipat Kertas Saring :





-- Most widely used general purpose gravimetric filter paper; acid washed, ash content 0.007%-- Medium speed and retention (8 μm); rough surface-- Used for calcium oxalate, silica in steel and well-digested barium sulfate; as a high-purity filter in the collection of trace elements and radionuclides in the atmosphere-- Used as a support for x-ray fluorescence and as a sample carrier for Shoeniger combustion



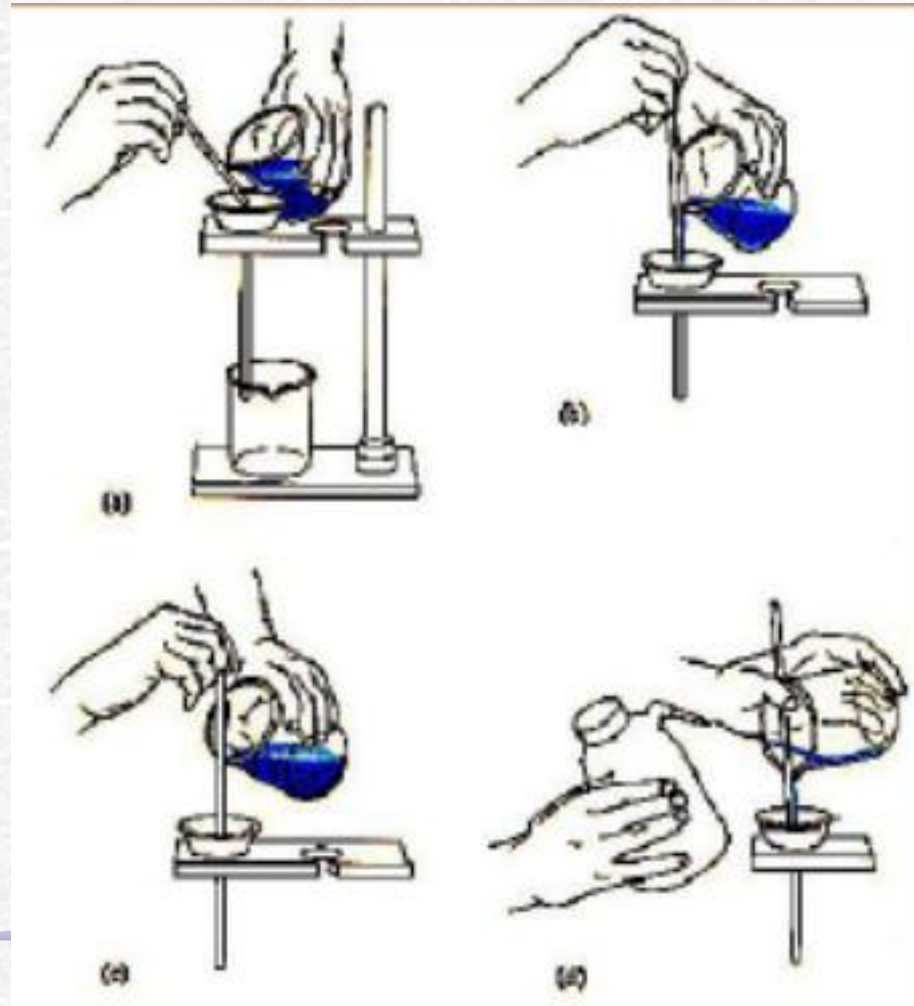
Whatman Grade 41 Ashless Quantitative Filter Papers - 20 μm . The fastest ashless filter paper, recommended for analytical procedures involving coarse particles or gelatinous precipitates (e.g., iron or aluminum ...)



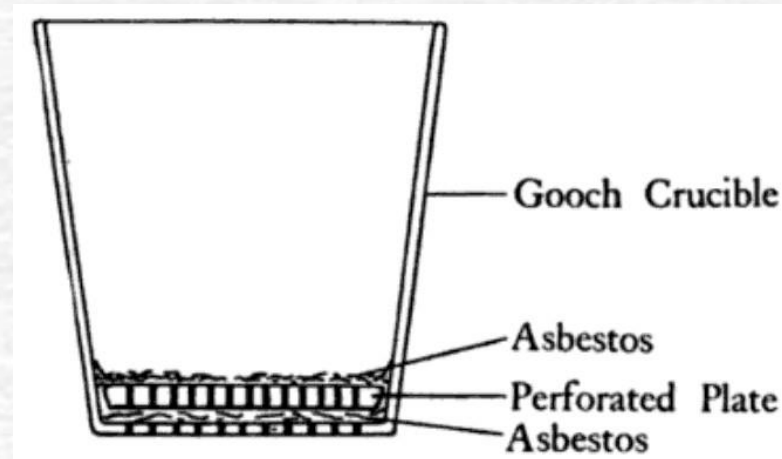
A world standard for critical gravimetric analysis with the finest particle retention of all Whatman cellulose filter papers. Typical analytical precipitates include barium sulfate, metastannic acid, and finely precipitated calcium carbonate.

0.007% ash maximum – very pure filters suitable for a wide range of critical analytical filtration procedures.

Cara menyaring endapan menggunakan kertas saring



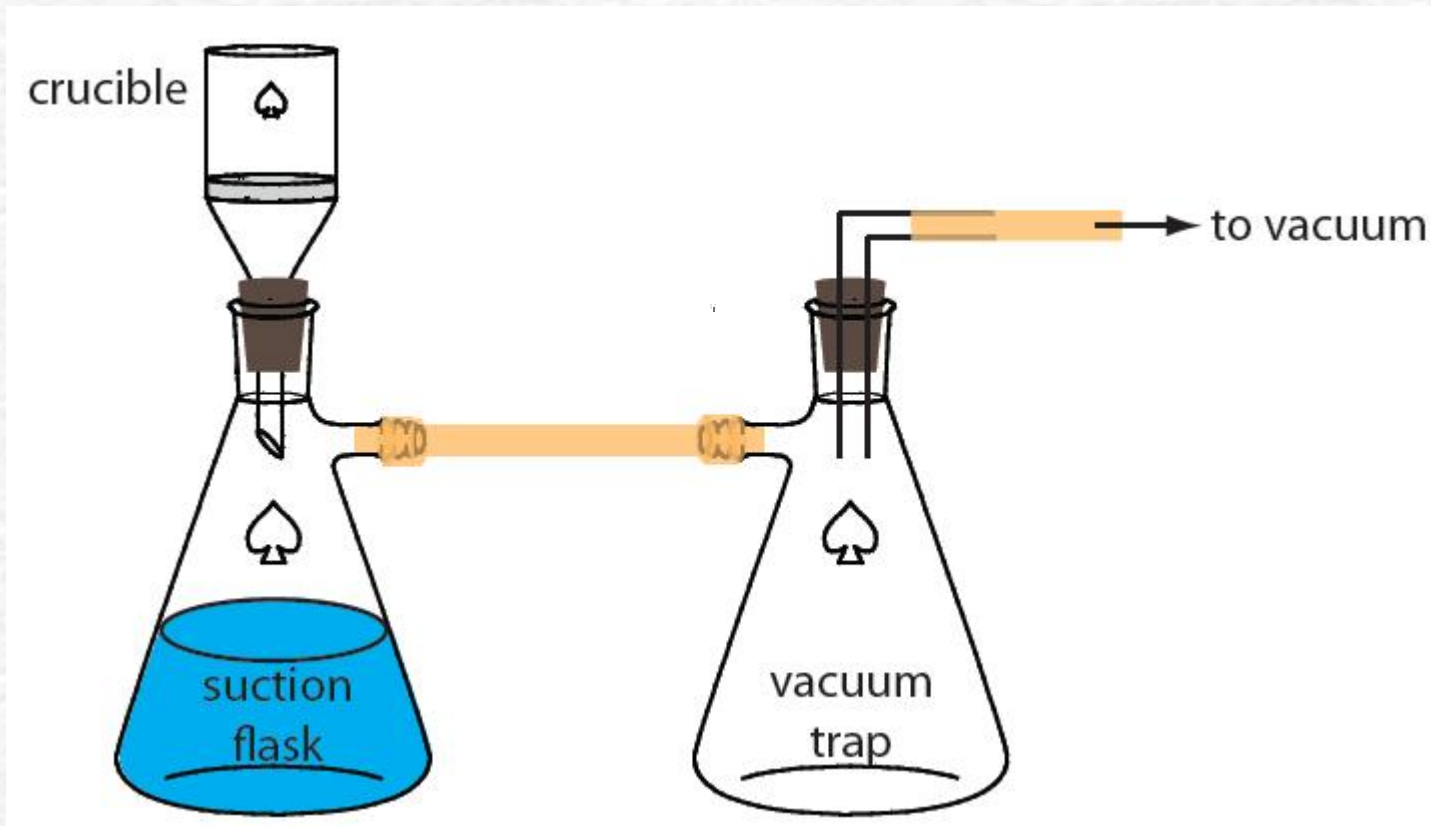
2. Penyaring asbes (cawan Gooch)



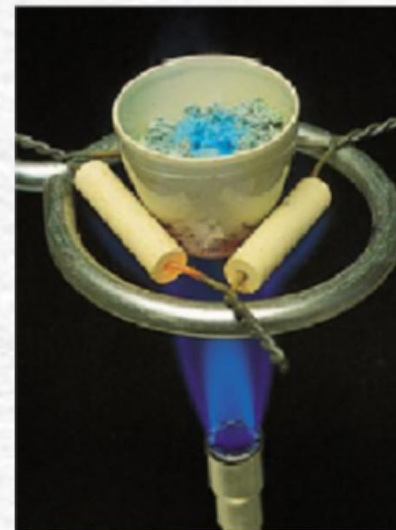
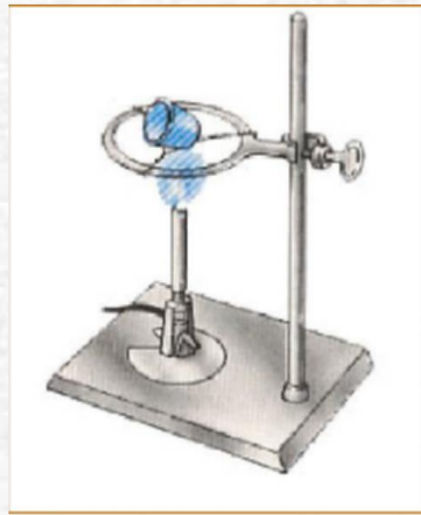
2. Penyaring lempeng berpori, terbuat dari kaca Pyrex (penyaring kaca masir), silika (penyaring vitreosil)



Menyaring dengan cawan Gooch atau kaca masir



Cara memijarkan endapan



Mencuci endapan

Cairan pencuci harus memenuhi syarat sebagai berikut ;

- Tidak melarutkan endapan
- Tidak mendispersikan endapan
- Tidak membentuk hasil yang atsiri ataupun tak dapat larut dengan endapan
- Mudah menguap pada temperatur pengeringan
- Tidak mengandung zat yang mengganggu untuk penetapan berikutnya terhadap filtrat.

Pencucian efektif : ?

Pencucian endapan

$$X_n = X_o \left(\frac{u}{u+v} \right)^n$$

X_o = konsentrasi zat pengotor sebelum pencucian

X_n = konsentrasi zat pengotor setelah n kali pencucian

u = volume (mL) cairan yang tertinggal bersama endapan)

v = volume (mL) cairan yang digunakan setiap pencucian

Contoh pencucian/penyaringan

Pencucian endapan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ menggunakan larutan elektrolit amonium-nitrat encer, dipijarkan pada suhu $600\text{ }^\circ\text{C}$.

- Endapan BaSO_4 akan mengalami reduksi oleh karbon dari kertas saring menjadi BaS , untuk menghindari hal tersebut pada saat pemijaran di tetesi satu tetes asam sulfat pekat atau tidak disaring menggunakan kertas saring.
- Pencucian endapan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ harus bebas ion sulfat.
- Endapan Ni-DMG disaring dalam kacamansir, tidak dipijarkan karena mengandung senyawa organik.

Pengeringan dan pemijaran

Endapan yang telah dicuci, dikeringkan, diabukan, dan dipijarkan sampai beratnya konstan

- Tujuan pengeringan : menghilangkan air dan zat yang mudah menguap
- Tujuan pemijaran : merubah endapan itu ke dalam suatu senyawa kimia yang rumusnya diketahui dengan pasti

Dari berat endapan yang ditimbang, maka presentase analit A adalah:

$$\%A = \text{Faktor Gravimetri} \times \frac{\text{Berat A}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Aplikasi Analisis Gravimetri

Zat yang dianalisis	Endapan	Zat yang ditimbang	Pengganggu
Fe	Fe(OH) ₃	Fe ₂ O ₃	Al, Cr, Ti
Al	Al(OH) ₃	Al ₂ O ₃	Fe, Cr, Ti
	Al(Ox) ₃ Ox = 8-hidrosikuinolin	Al(Ox) ₃	Banyak, kecuali Mg dalam asam
Ba	BaCrO ₄	BaCrO ₄	Pb
SO ₄ ²⁻	BaSO ₄	BaSO ₄	NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , ClO ₃ ⁻
Cl ⁻	AgCl	AgCl	Br ⁻ , I ⁻ , SCN ⁻ , CN ⁻
Ag	AgCl	AgCl	Hg(I)
PO ₄ ³⁻	MgNH ₄ PO ₄	Mg ₂ P ₂ O ₇	C ₂ O ₄ ⁼ , K ⁺
Ni	Ni(dmg) ₂ Dmg=dimetilglioksin	Ni(dmg) ₂	Pd

Penentuan Kadar Besi

Besi diendapkan sebagai besi (III) hidroksida, kemudian di pijarkan pada suhu tinggi menjadi Fe_2O_3 .

Contoh untuk analisis batuan dimana besi dipisahkan dahulu dari unsur-unsur yang mengganggu.

Bijih besi biasanya dilarutkan dalam asam klorida, dan asam nitrat digunakan untuk mengoksidasi besi ke keadaan oksidasi +3.

Larutan yang mengandung besi (III) ditambahkan larutan amonia yang sedikit berlebih untuk mengendapkan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (sebenarnya disebut oksida berair, $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$).



Endapan mirip gelatin yang sangat tidak larut dalam air. Endapan dicuci dengan air yang mengandung sedikit amonium nitrat untuk mencegah peptisasi.

Penyaringan dilakukan dengan menggunakan kertas saring, kemudian kertas dan endapan dibakar pada suhu yang cukup tinggi.

Prosedur kerja:

1. Panaskan cawan krus sampai pijar, kemudian dinginkan dalam desikator selanjutnya timbang. Ulangi pekerjaan ini sampai diperoleh berat cawan krus yang konstan (selisih penimbangan tidak lebih dari 3,10-4gram)
2. Timbang dengan teliti kira-kira 0,8 gram amonium besi (II) sulfat pro analisis; $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ke dalam gelas kimia 400 mL.
3. Larutkan zat dalam 50 mL air dan 10 mL HCl encer (1:1)

4. Tambahkan 1-2 mL asam nitrat pekat dan didihkan perlahan-lahan sampai warnanya kuning jernih, selanjutnya ujilah larutan untuk mengetahui apakah oksidasi besi telah sempurna atau belum dengan larutan kalium heksasianoferrat (II)
5. Encerkan larutan menjadi 200 mL, panaskan sampai mendidih kemudian tambahkan larutan amonia (1:1) sedikit demi sedikit sampai semua besi mengendap.
6. Didihkan campuran selama 1 menit lalu saring.
7. Cuci endapan dengan amonium nitrat 1% sampai bebas klorida



8. Pijarkan, dinginkan dalam desikator kemudian timbang. Pekerjaan no 8 ini diulangi sampai beratnya konstan.

9. Hitung kadar besi dalam cuplikan



Exercises

1. To determine the amount of magnetite, Fe_3O_4 , in an impure ore, a 1.5419-g sample is dissolved in concentrated HCl , giving a mixture of Fe^{2+} and Fe^{3+} . After adding HNO_3 to oxidize Fe^{2+} to Fe^{3+} and diluting with water, Fe^{3+} is precipitated as $\text{Fe}(\text{OH})_3$ by adding NH_3 . Filtering, rinsing, and igniting the precipitate provides 0.8525 g of pure Fe_2O_3 . Calculate the %w/w Fe_3O_4 in the sample.

Ans 53,44% w/w

2. A certain barium halide exists as the hydrated salt $\text{BaX}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, where X is the halogen. The barium content of the salt can be determined by gravimetric methods. A sample of the halide (0.2650 g) was dissolved in water (200 cm^3 and excess sulfuric acid added. The mixture was then heated and held at boiling for 45 minutes. The precipitate (barium sulfate) was filtered off, washed and dried. Mass of precipitate obtained = 0.2533 g. Determine the identity of X.

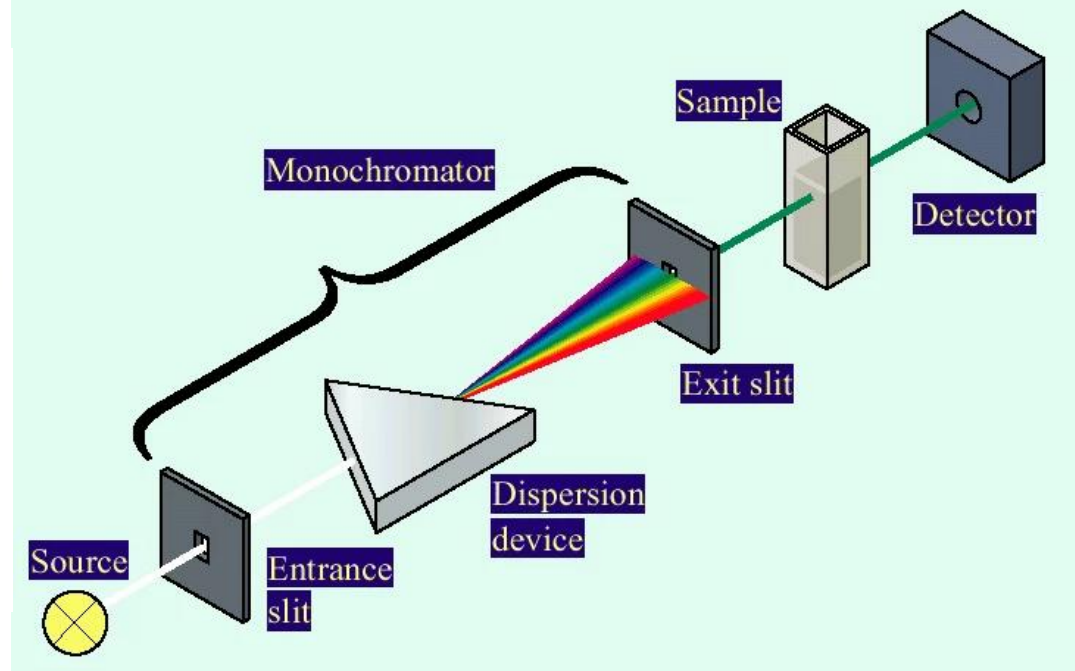
3. A sample (0.203 g) of hydrated magnesium chloride ($\text{MgCl}_m \cdot n\text{H}_2\text{O}$) was dissolved in water and titrated with silver nitrate solution ($0.100 \text{ mol dm}^{-3}$), 20.0 cm^3 being required. Another sample of the hydrated chloride lost 53.2 % of its mass when heated in a stream of hydrogen chloride, leaving a residue of anhydrous magnesium chloride. Calculate the values of m and n (Answer: $m = 2$, $n = 6$)

4. When an sample of impure potassium chloride (0.4500g) was dissolved in water and treated with an excess of silver nitrate, 0.8402 g of silver chloride was precipitated. Calculate the percentage KCl in the original sample.

(Answer: 97.12 %)

5. 0,6025 gram sampel garam klorida dilarutkan dalam air dan kloridanya diendapkan dengan menambahkan peraknitrat berlebih. Endapan perak klorida disaring, dicuci, dikeringkan dan ditimbang. Ternyata beratnya 0,7134 gram. Hitunglah persentase klorida dalam sampel. (Ar Cl=35,5; Ar Ag=108)

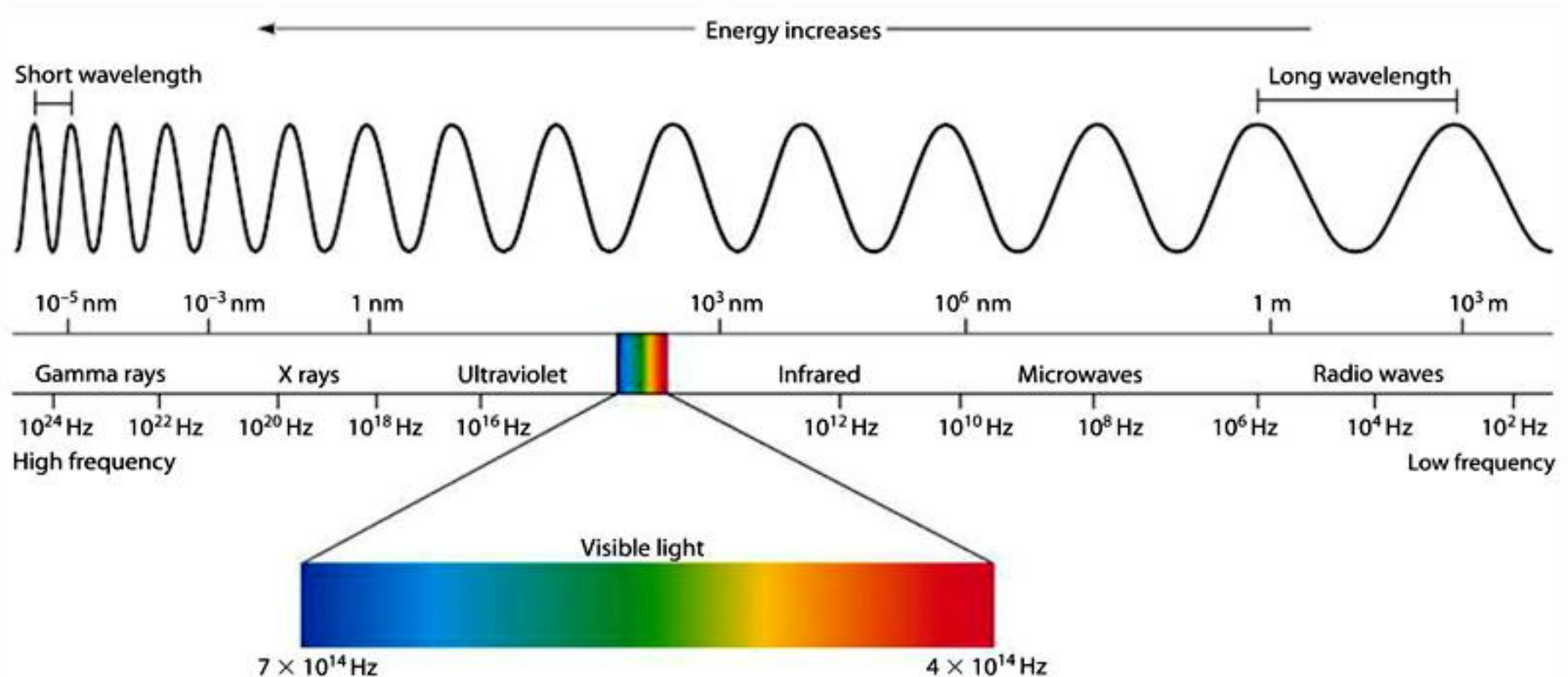
6. Dalam suatu sampel batuan fosfat seberat 0,5428 gram, fosfor diendapkan sebagai $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan dipanggang menjadi $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$. Jika berat endapan panggang adalah 0,2234 gram, hitunglah persentase P_2O_5 dalam sampel.



SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SPEKTRUM GELOMBANG ELEKTROMAGNETIK



Gamma Ray
Spectroscopy

X Ray Absorption,
Fluorescence

UV-Vis Abs,
Fluorescence

Infrared Abs
Spectroscopy

Microvawe Abs
Spectroscopy

NMR
EPR

**Nuclear
Transitions**

**Inner Shell
Electrons**

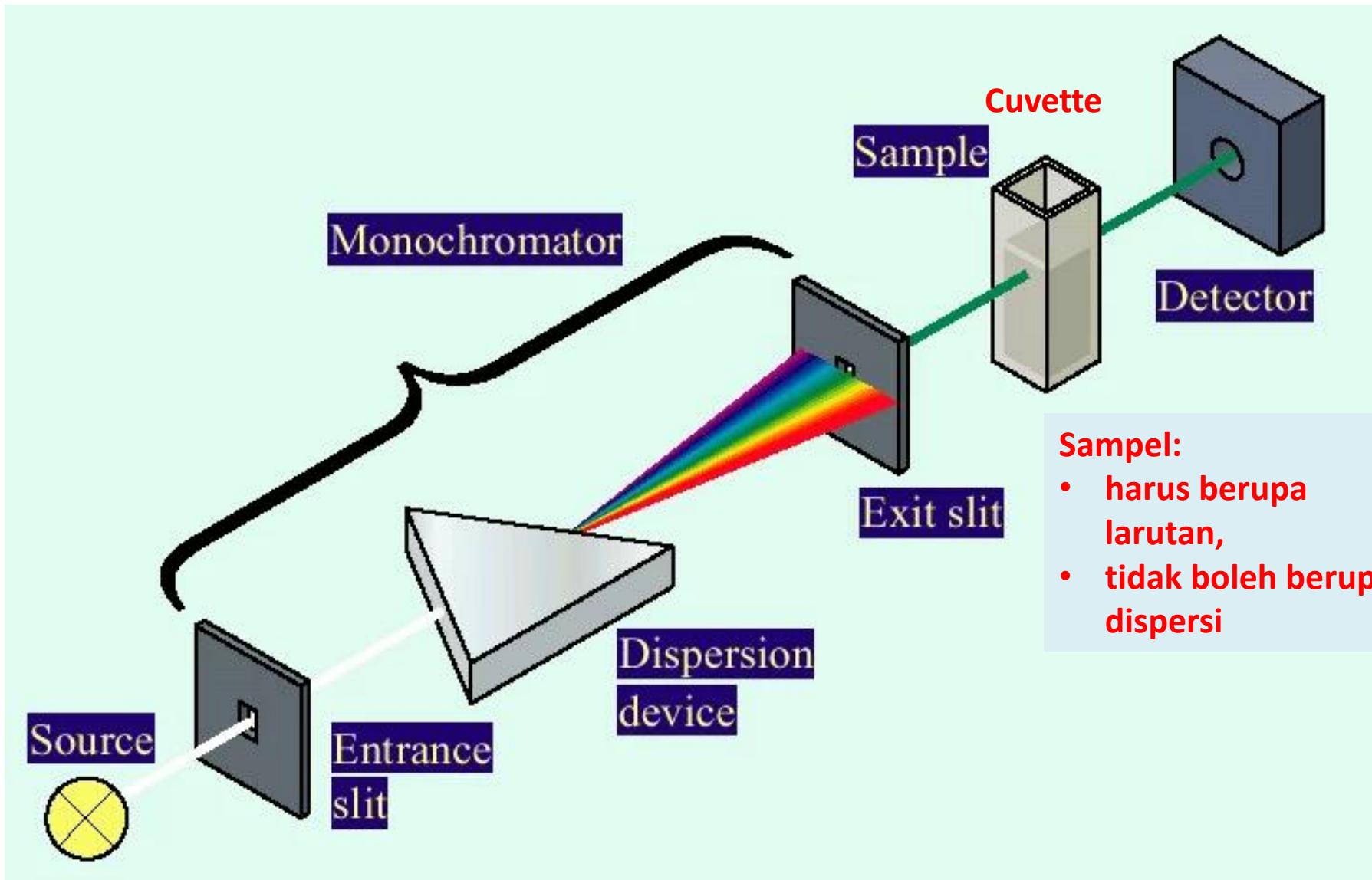
**Outer Shell
Electrons**

**Molecular
Vibrations**

**Molecular
Rotations**

**Spin
States**

Spektroskopi UV-Vis



Spektroskopi UV-Vis

??

- Absorpsi molekuler (~160-780 nm)

Prinsip

- Proton akan mempromosikan elektron ke keadaan tereksitasinya (orbital molekul)

Bagaimana pengukuran terjadi

- Sinar dari sumber kontinu diabsorpsi oleh sample

Data yang dihasilkan

- Absorbans proporsional terhadap konsentrasi spesi absorbans (Hk Beer)

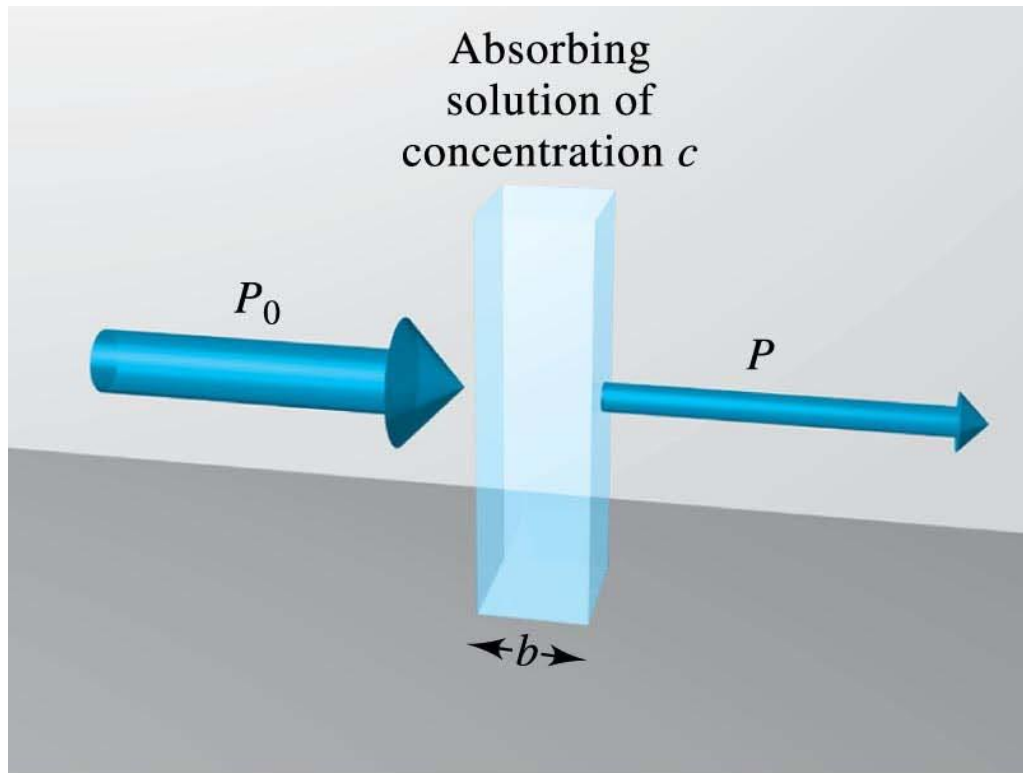
Aplikasi

- Setiap molekul yang dapat menyerap radiasi UV-Vis umumnya dalam keadaan fase cair

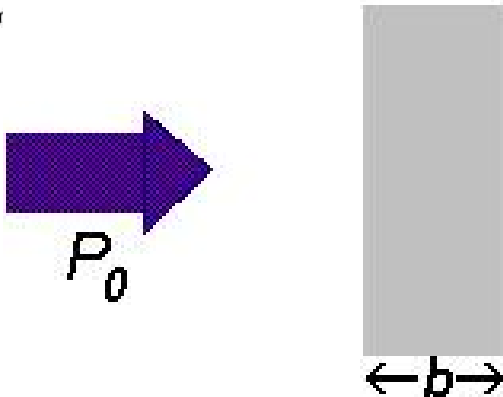
Inovasi

- Kecepatan, sensitivitas, *ruggedness*, *portability*

Pengukuran Transmittans dan Absorbans



© 2004 Thor



$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P}$$

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

P: radiant power

Po : radiasi sumber

P: radiasi yang menembus sampel

b: jarak sampel yang dilewati radiasi

A: Absorban

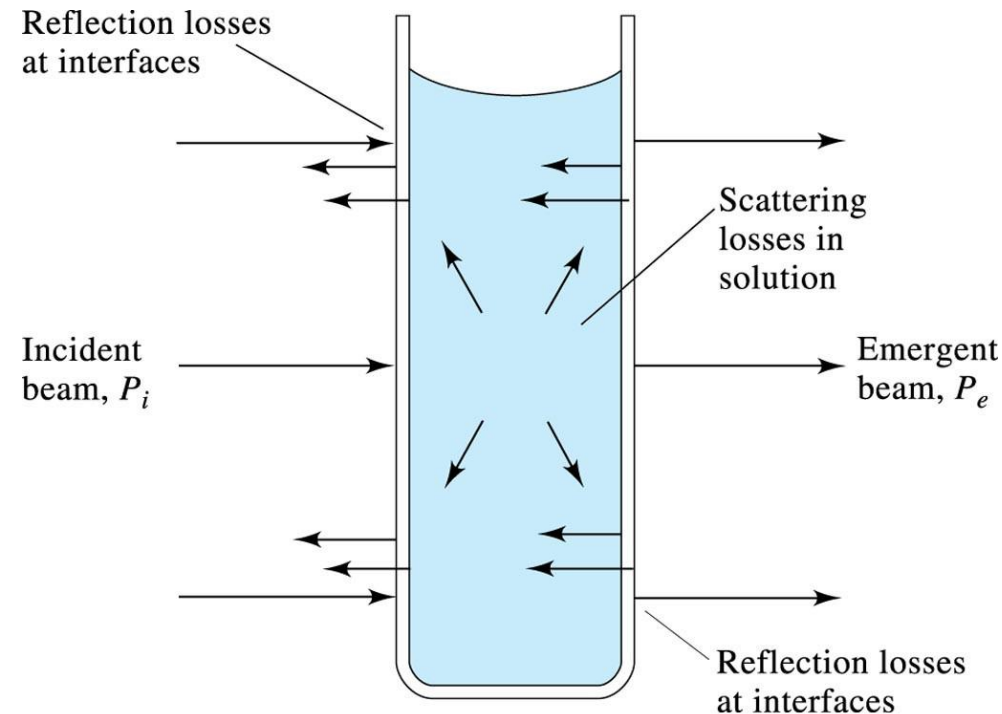
T: Transmittan, rasio P/P_0

Pengukuran Transmittans dan Absorbans

Efek lainnya yang dapat mereduksi intensitas sumber energi:

- Penghamburan cahaya
 - ☑ Pemantulan pada permukaan
 - ☑ Dihamburkan dalam larutan
 - ▶ molekul besar
 - ▶ gelembung udara
- Absorpsi energi oleh pelarut. Maka perlu normalisasi dengan membandingkannya terhadap sel referens (setting blanko).
 - ☑ Hanya mengandung pelarut
 - ▶ pengukuran transmittans dibandingkan dengan hasil dari sel referens

Maka sampel harus dalam kondisi larut sempurna.



Pengukuran Transmittans dan Absorbans

TABLE 13-1 Important Terms and Symbols for Measurement of Absorption

Term and Symbol*	Definition	Alternative Name and Symbol
Radiant power P, P_0	Energy of radiation (in ergs) impinging on a 1-cm ² area of a detector per second	Radiation intensity I, I_0
Absorbance A	$\log \frac{P_0}{P}$	Optical density D ; extinction E
Transmittance T	$\frac{P}{P_0}$	Transmission T
Path length of radiation† b	—	l, d
Absorptivity‡ a	$\frac{A}{bc}$	Extinction coefficient k
Molar absorptivity‡ ϵ	$\frac{A}{bc}$	Molar extinction coefficient

*Terminology recommended by the American Chemical Society (*Anal. Chem.*, 1990, 62, 91).

† c may be expressed in g/L or in other specified concentration units; b may be expressed in cm or in other units of length.

‡ c is expressed in mol/L; b is expressed in cm.

Hukum Lambert-Bouger

Lambert & Bouger menemukan bahwa intensitas energi tertransmisi menurun eksponensial jika **panjang lintasan (b)** yang dilewati energi radiasi tersebut meningkat

$$dP = -k P db$$

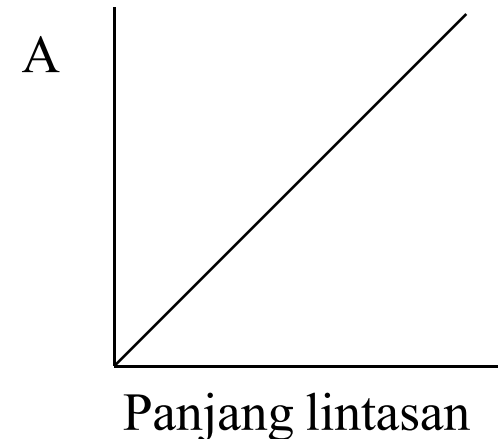
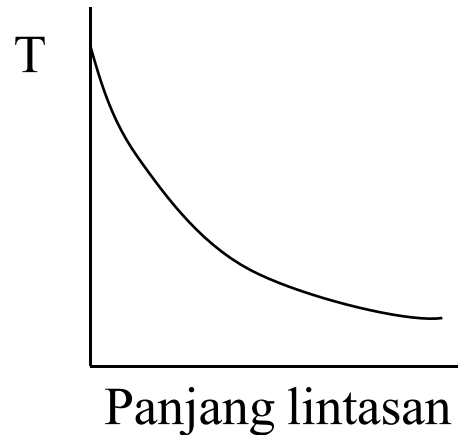
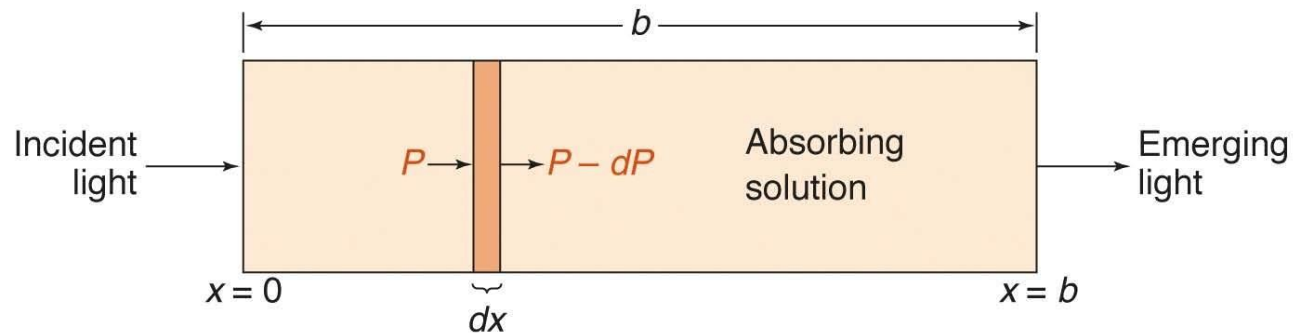
$$dP/P = -k db$$

$$\int dP/P = -k \int db$$

$$\ln P/P_0 = -k b$$

$$\log P/P_0 = -(k/2.303) b$$

$$A = -\log P/P_0 = (\alpha/2.303) b$$



Efek panjang lintasan terhadap transmitans dan absorbans

Hukum Beer

Beer (1852) menemukan bahwa **konsentrasi (C)** merupakan fungsi timbal balik eksponensial dari transmitans dan absorbans (proporsional langsung dengan konsentrasi)

$$dP = -\alpha P dC$$

$$dP/P = -\alpha dC$$

$$\int dP/P = -\alpha \int dC$$

$$\ln P/P_0 = -\alpha C$$

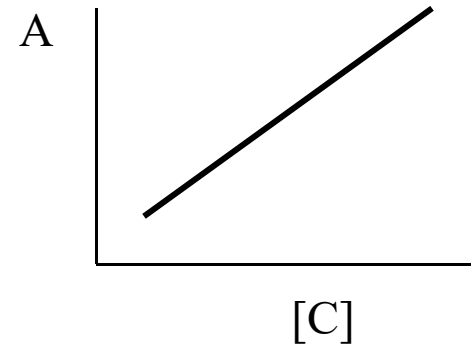
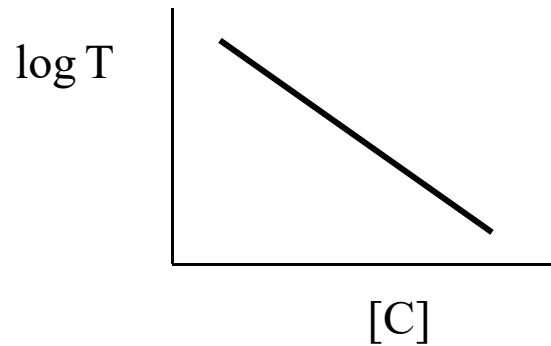
$$\log P/P_0 = -(\alpha/2.303) C$$

$$A = -\log P/P_0 = (\alpha/2.303) C$$

Hukum Beer

Hukum Beer

$A = \epsilon bC \rightarrow \epsilon$: absorptivitas molar



Efek konsentrasi analit pada nilai transmitans dan absorbansnya

Molar absorptivity: how strong a chemical species absorbs light at a particular wavelength

Hukum Beer

EXAMPLE 10.4

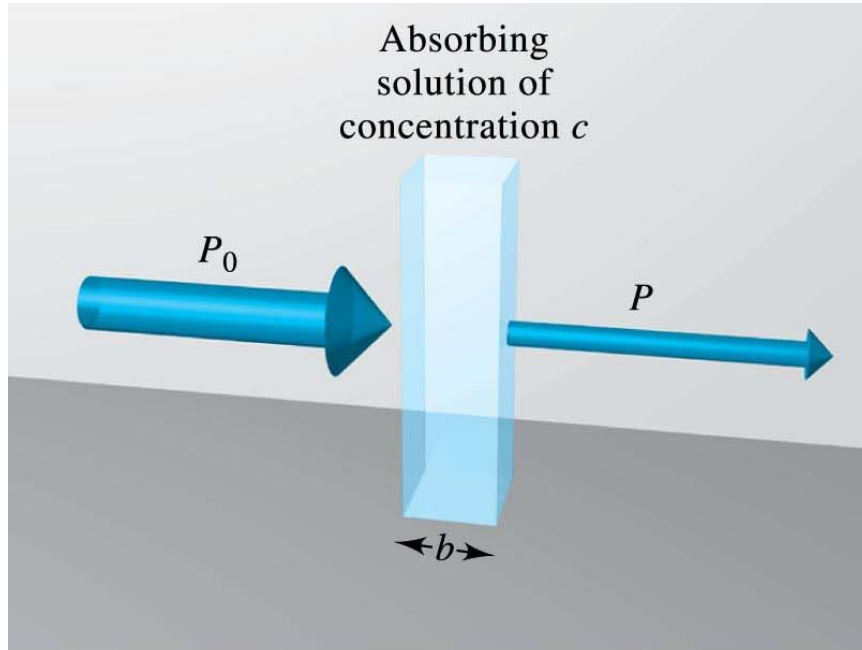
A 5.00×10^{-4} M solution of an analyte is placed in a sample cell that has a pathlength of 1.00 cm. When measured at a wavelength of 490 nm, the absorbance of the solution is found to be 0.338. What is the analyte's molar absorptivity at this wavelength?

SOLUTION

Solving equation 10.5 for ϵ and making appropriate substitutions gives

$$\epsilon = \frac{A}{bC} = \frac{0.338}{(1.00 \text{ cm})(5.00 \times 10^{-4} \text{ M})} = 676 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$$

Hukum Lambert-Beer



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Hukum Lambert-Beer:

“Jumlah radiasi cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi suatu zat dan tebal larutan.”

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

P: radiant power

Po : radiasi sumber

P: radiasi yang menembus sampel

b: jarak sampel yang dilewati radiasi

$$- \log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A$$

A: Absorban (tidak ada satuan)

T: Transmittan, rasio P/Po

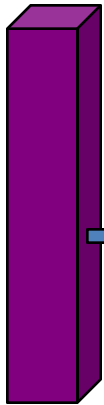
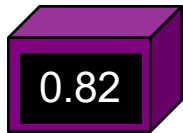
ϵ : absorptivitas molar (/cm.M)

C : konsentrasi (M)

Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} C$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor



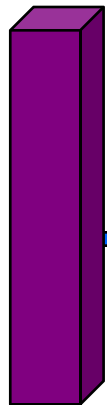
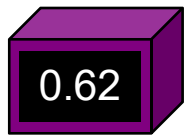
Sumber



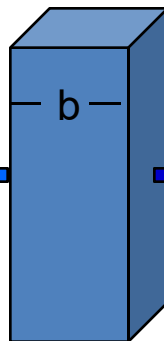
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

Pembaca
Transmitan

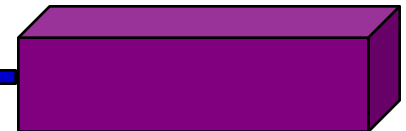


Detektor



Sampel

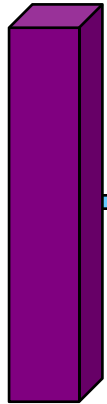
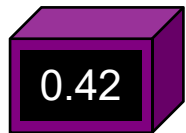
Sumber



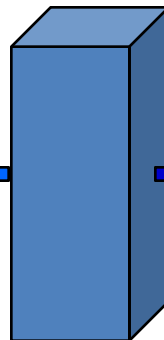
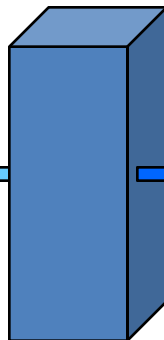
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

Pembaca
Transmitan

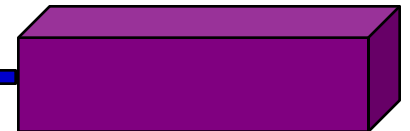


Detektor



Sampel

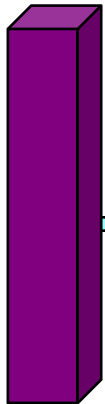
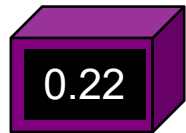
Sumber



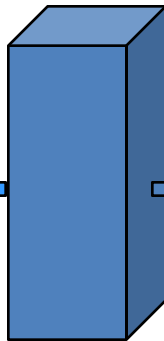
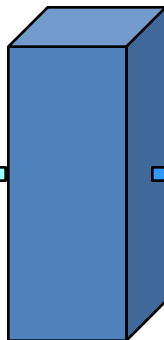
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

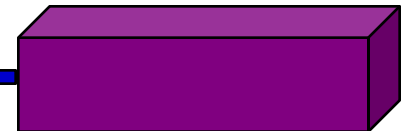
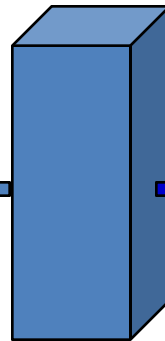
Pembaca
Transmitan



Detektor



Sampel

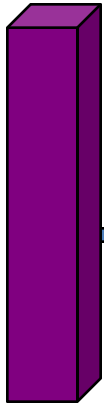
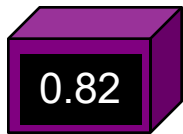


Sumber

Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

2. Pengaruh konsentrasi sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor

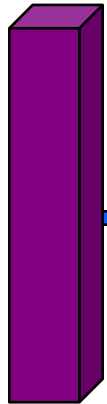
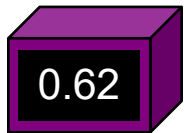
Sumber



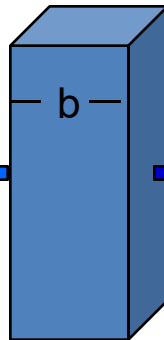
Hukum Lambert-Beer: $A = \varepsilon b c$

2. Pengaruh konsentrasi sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor



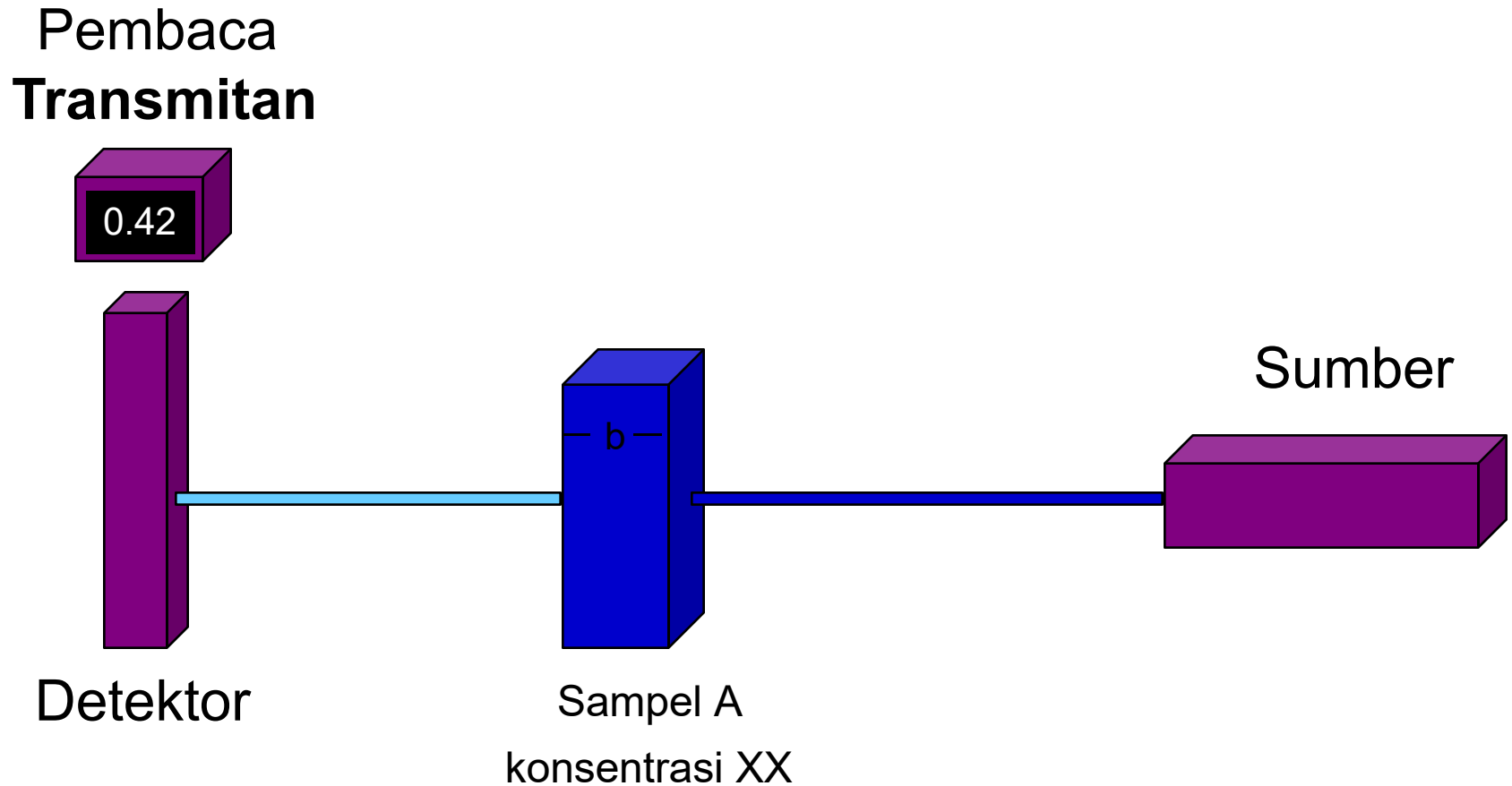
Sampel A
konsentrasi X

Sumber



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

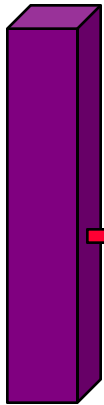
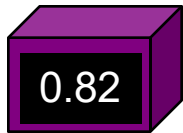
2. Pengaruh konsentrasi sampel



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor

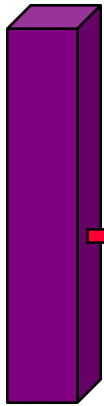
Sumber



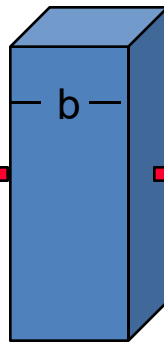
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor



Sampel A
Konsentrasi Y

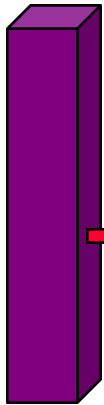
Sumber



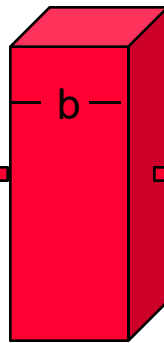
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan



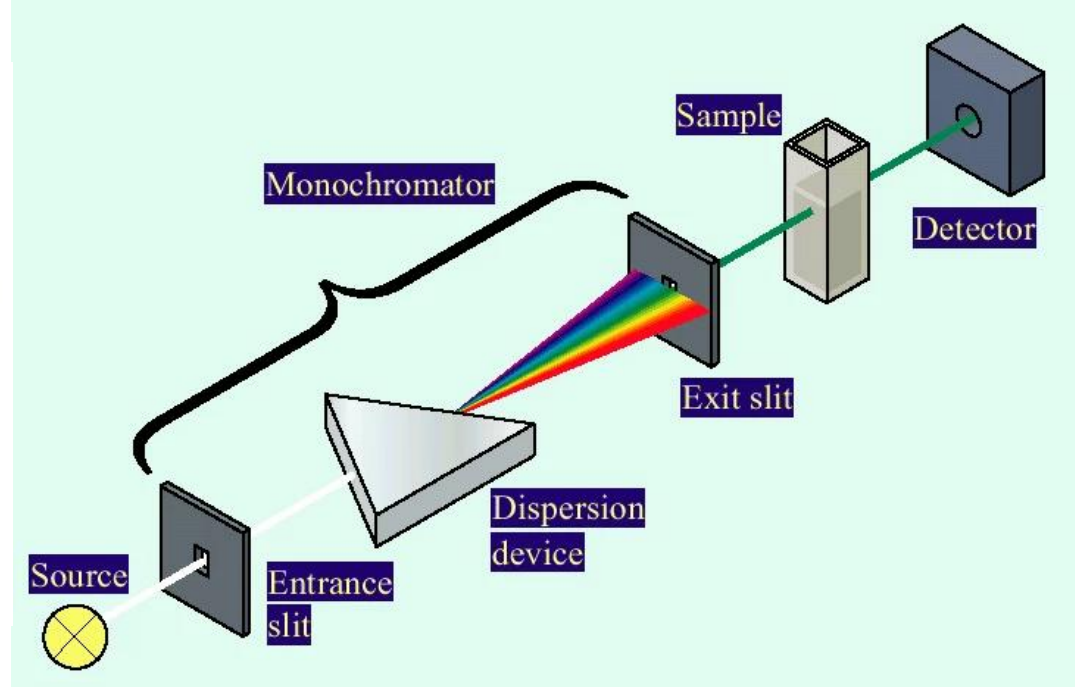
Detektor



Sampel B
Konsentrasi Y

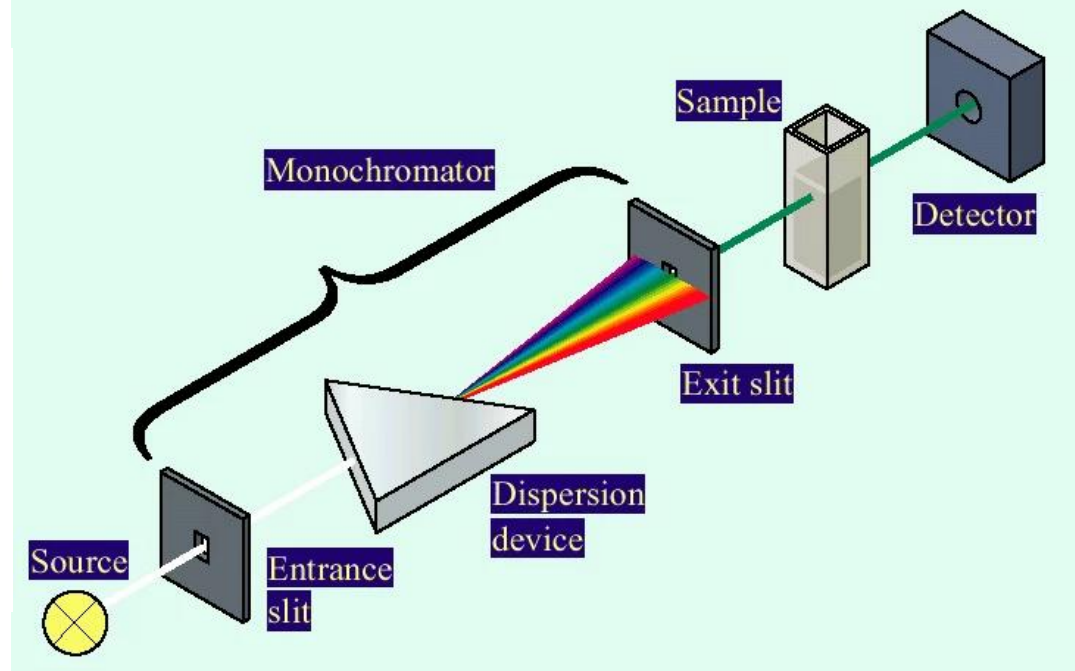
Sumber





the end

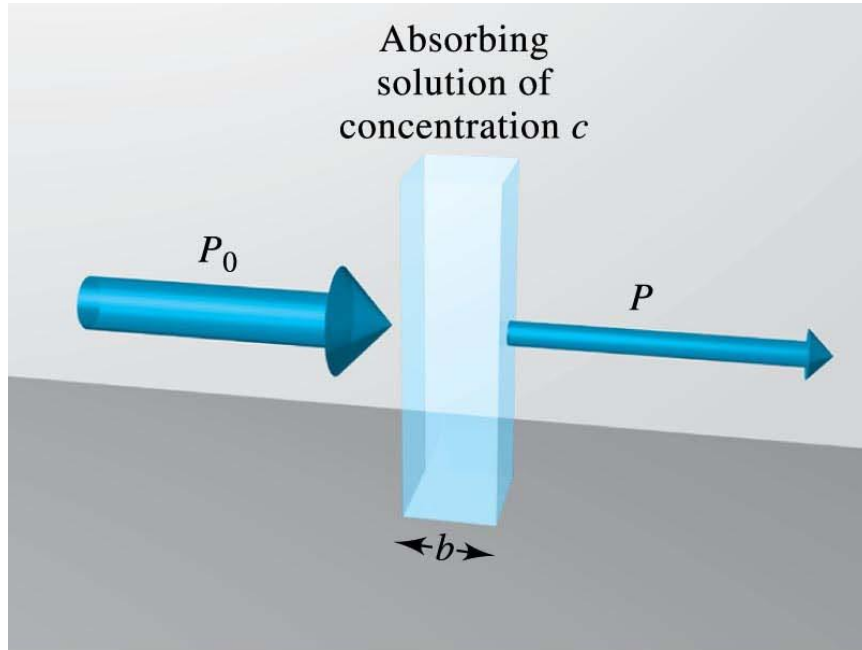
thank you



SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

Hukum Lambert-Beer



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Hukum Lambert-Beer:

“Jumlah radiasi cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari **konsentrasi** suatu zat dan **tebal** larutan.”

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

P: radiant power

Po : radiasi sumber

P: radiasi yang menembus sampel

b: jarak sampel yang dilewati radiasi

$$- \log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon b c = A$$

A: Absorban (tidak ada satuan)

T: Transmittan, rasio P/Po

ϵ : absorptivitas molar (/cm.M)

C : konsentrasi (M)

Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

Ada kalanya perubahan nilai serapan tidak linier dengan perubahan konsentrasi



kenaikan konsentrasi menjadi 2 x atau 3 x konsentrasi tidak mengubah nilai serapan menjadi 2 x atau 3 x serapan mula-mula

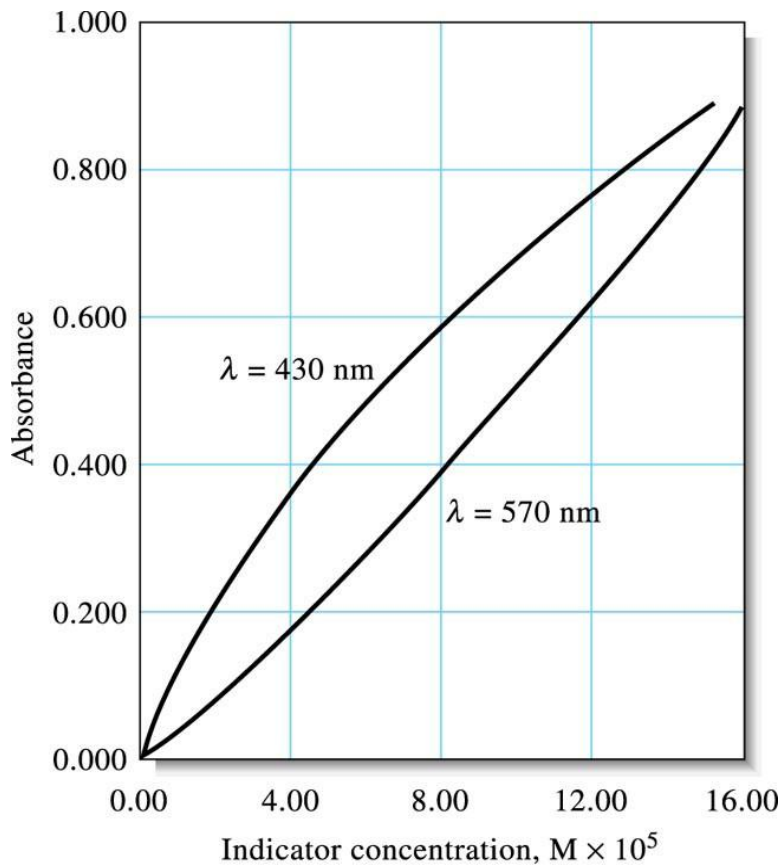
Ketidaklinieran hubungan antara serapan dengan konsentrasi tersebut dinamakan *penyimpangan dari hukum Lambert-Beer*.

Penyimpangan dari Hukum Lambert Beer:

- sebab kimia
- sebab instrumental
- sebab nyata

Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

Sebab kimia → berkaitan dengan perubahan kimia yang terjadi pada zat yang diukur seperti ionisasi dan hidrolisis



Deviasi hukum Beer (sebab kimia) untuk larutan indikator (HIn) yang tidak terbufer.

Hubungan konsentrasi dan absorbansi menjadi tidak linier.

Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

Sebab instrumental

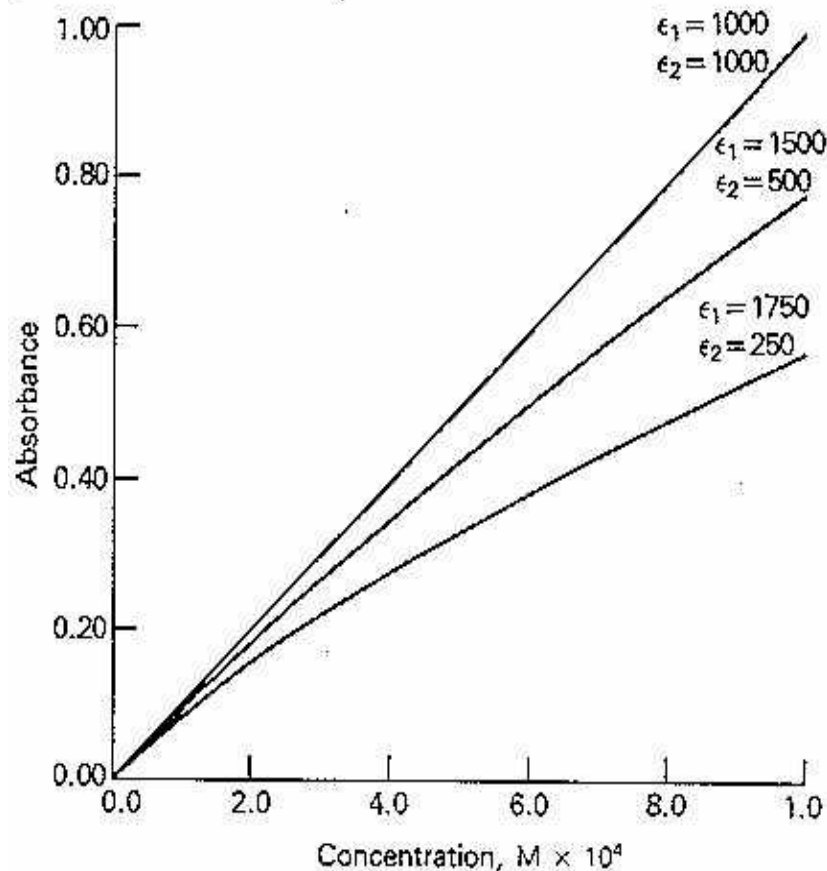


berkaitan dengan keadaan alat

- kelelahan alat, stabilitas sumber daya
- **Ketidakmonokromatisan** sinar



(ϵ) absorptivitas berbeda: serapan oleh zat pada λ yang berbeda



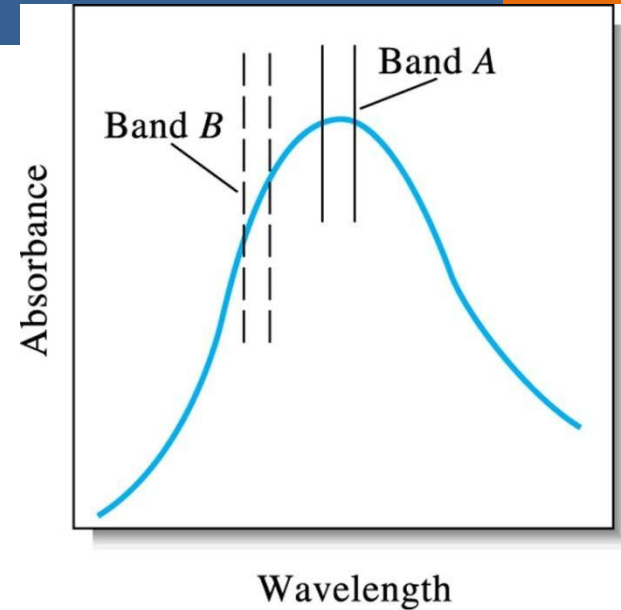
Radiasi polikromatis:

Deviations Beer's Law with polychromatic light. Here, two wavelengths or radiation λ_1 and λ_2 have been assumed for which the absorber has the indicated molar absorptivities."

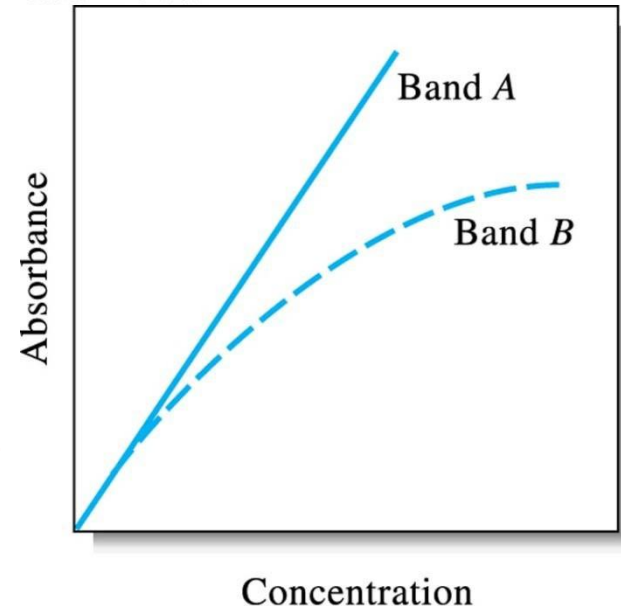
Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

- Efek radiasi polikromatik terhadap persamaan hukum Lambert-Beer
- Daerah (*band*) A menunjukkan deviasi yang kecil karena ϵ tidak berubah besar pada daerah tersebut
- Daerah B menunjukkan deviasi yang nyata karena ϵ berubah signifikan pada daerah ini.
- Sehingga pengukuran (analisis kimia) dengan instrumen spektrofotometer, dilakukan pada λ_{maks} , bukan pada $\lambda_{shoulder}$

Spektra Scanning

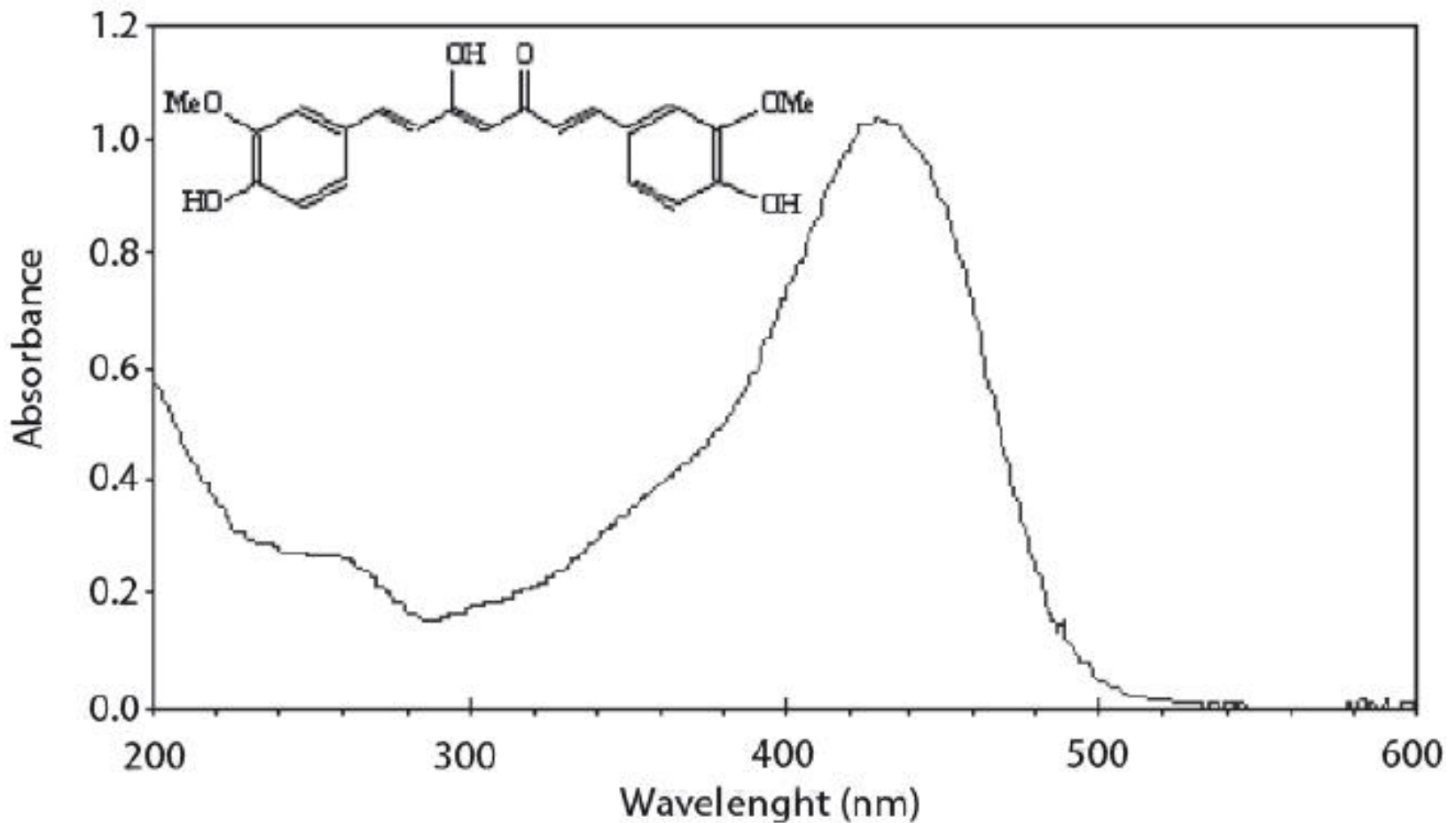


Kurva Hub. Absorbansi dan Konsentrasi



Spektra serapan UV-Vis

Spektra Scanning

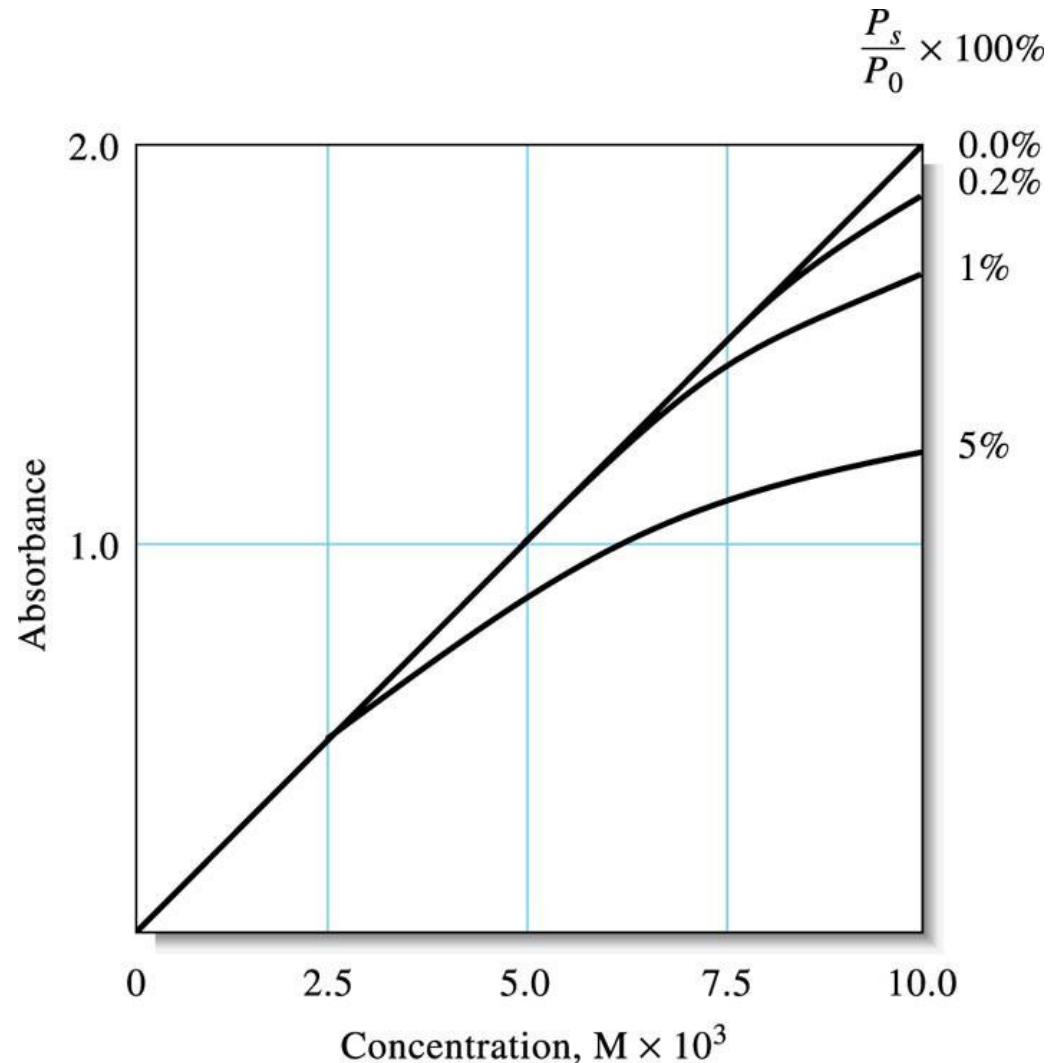


Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

Radiasi sesatan (*stray radiation*)

"Apparent deviation from Beer's law brought about by various amounts of stray radiation."

Stray radiation: radiasi pada panjang gelombang selain λ yang dimaksud, yang masih dipancarkan oleh monokromator, yang tertangkap oleh detektor.



Penyimpangan Hukum Lambert-Beer

Sebab nyata → berkaitan dengan **konsentrasi larutan**

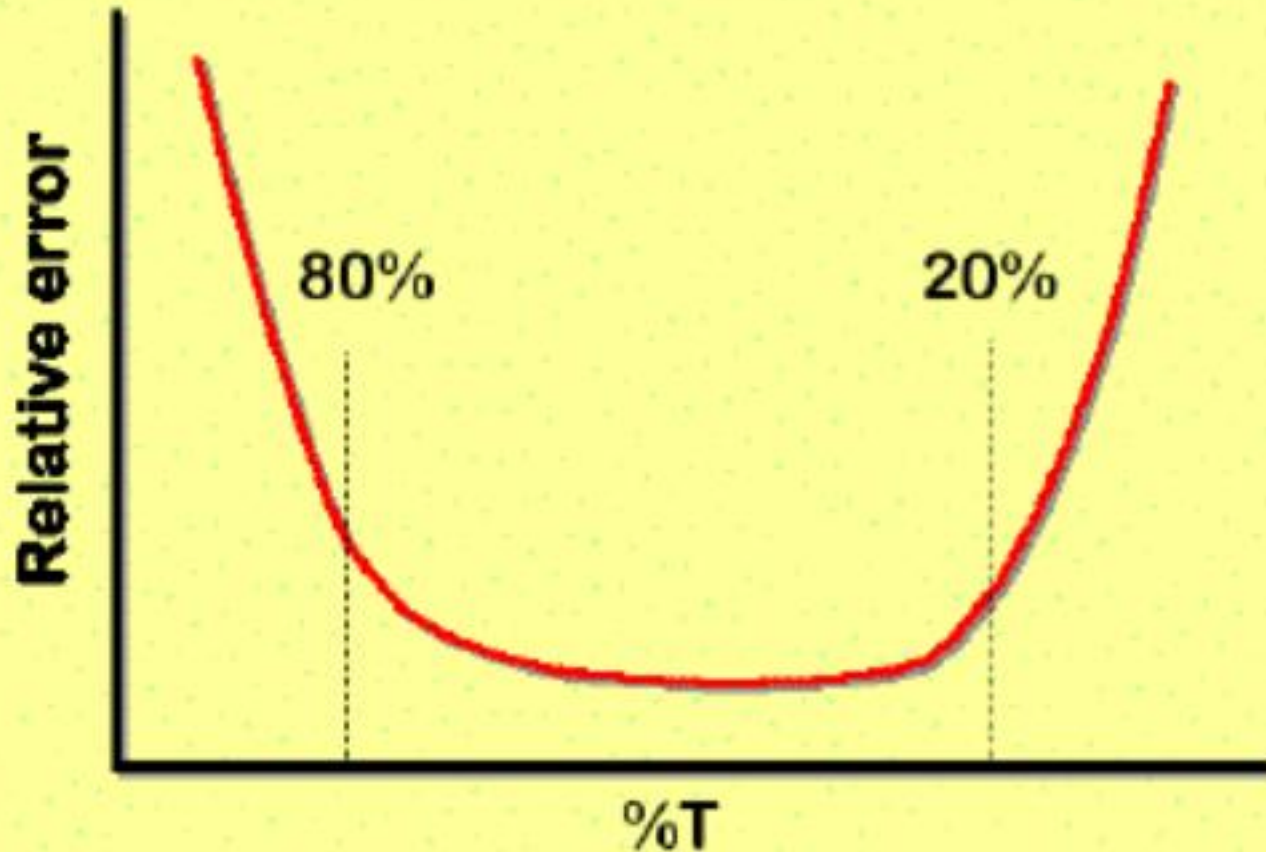
Penyimpangan dapat terjadi di daerah konsentrasi terlalu pekat/terlalu encer

konsentrasi terlalu encer → terjadi efek penjenjutan sinar

konsentrasi terlalu pekat → interaksi antar molekul zat penyerap yang berdekatan akan mengganggu serapan radiasi oleh molekul-molekul tersebut

Pengukuran Absorbans

Relative error vs. %T



LATIHAN SEDERHANA

sampel A: 1,673

supaya A: 0,2 - 0,8

pengenceran berapa?

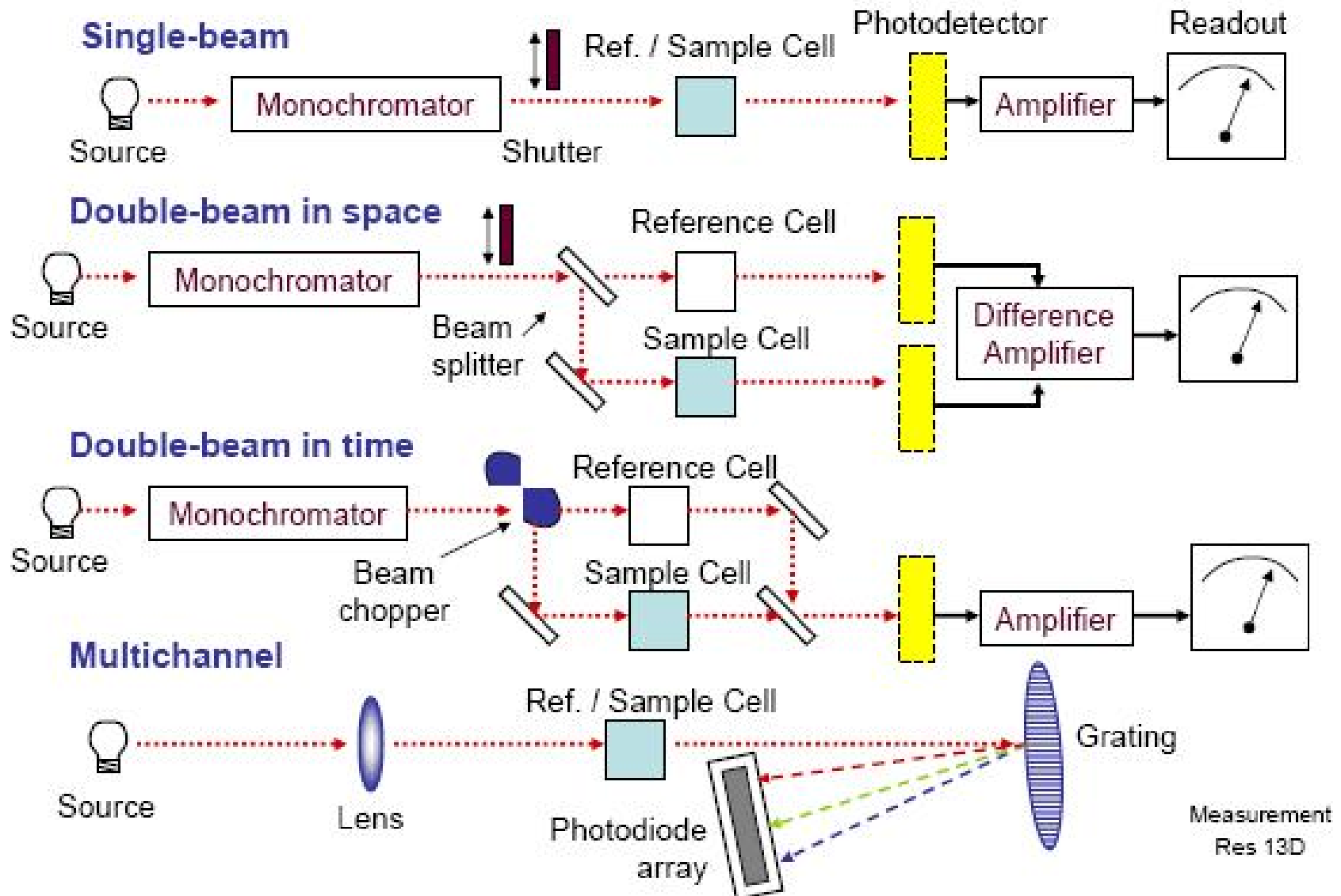
volume sampel yg tersedia 10 mL.

ambil berapa?

ditambah pelarut hingga berapa ?

opsi alat ukur vol.: 5 ml, 10 ml, 25 ml, 50 ml.

Type Instrumen Spektrofotometer UV-Vis



Instrumen Spektrofotometer UV-Vis



Sumber sinar

- Lampu deuterium atau hidrogen-daerah UV
- Filamen tungsten – daerah sinar tampak hingga inframerah dekat
- Lampu busur xenon



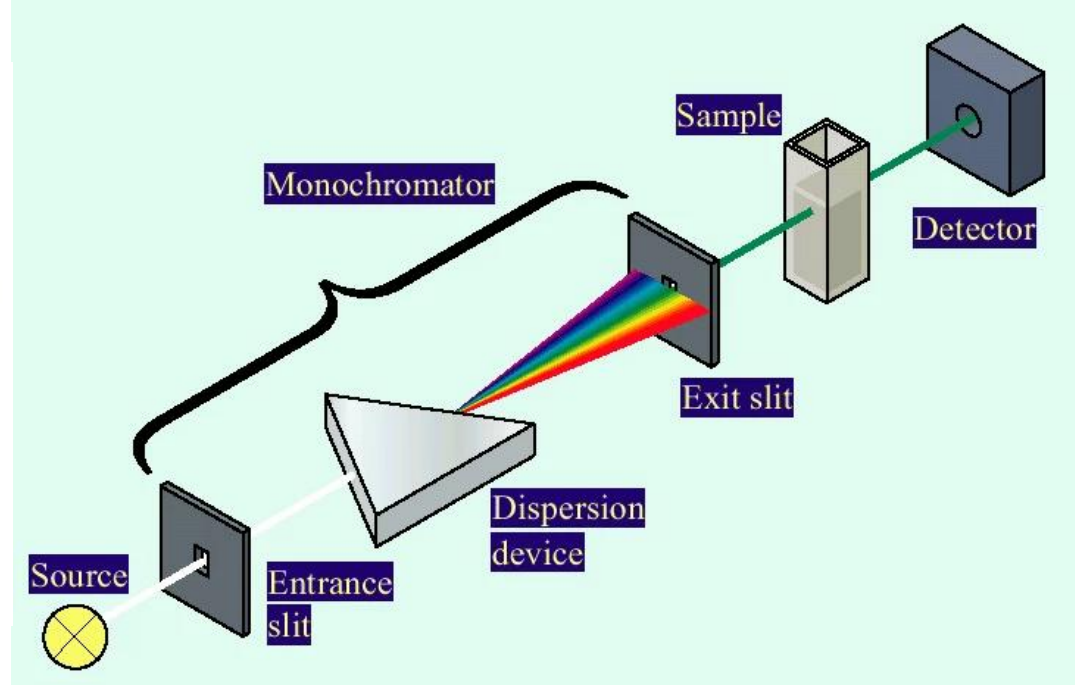
Wadah sampel / Kuvet

- Material – kuarsa/ *fused silica* untuk UV dan kaca silikat untuk sinar tampak
- Bentuk – permukaan yang flat , silindris
- Ukuran – umumnya 1 cm



THE END

Selanjutnya materi dengan team teaching.



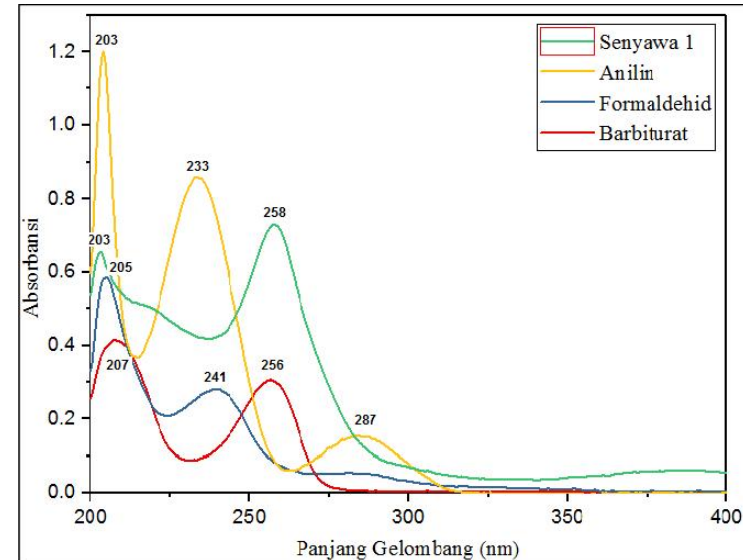
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

Absorpsi UV-Vis

Spesi Pengabsorbsi

- Berhubungan dengan transisi elektronik
- Akibat banyaknya keadaan vibrasi dan rotasi yang terjadi akibat penyerapan radiasi → spektra akan berbentuk **pita**
- Senyawa organik yang mengandung gugus **kromofor** dapat menyerap radiasi UV-Vis yang diberikan



Kromofor → merupakan gugus fungsional yang dapat menyerap radiasi UV-Vis, biasanya berupa sistem **ikatan rangkap terkonjugasi**.

Untuk tujuan kuantitatif jika senyawa organik tersebut tak menyerap di daerah UV-Vis maka dapat mereaksikannya dengan pereaksi kromoforik/kromogenik yang akan menghasilkan produk yang dapat menyerap radiasi UV-Vis

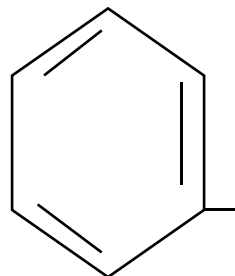
Absorpsi UV-Vis

Auksokrom

Gugus/substituen yang meningkatkan intensitas absorpsi dan menggeser λ serapan seperti:

-CH₃, -OH, -OR, -X (halogen), -NH₂, dll

Senyawa aromatik

		λ_{max1}	λ_{max2}
H		203,5 nm	254,5nm
- CH ₃		206,5 nm	261 nm
- Cl		209,5 nm	190 nm
- Br		210 nm	192 nm

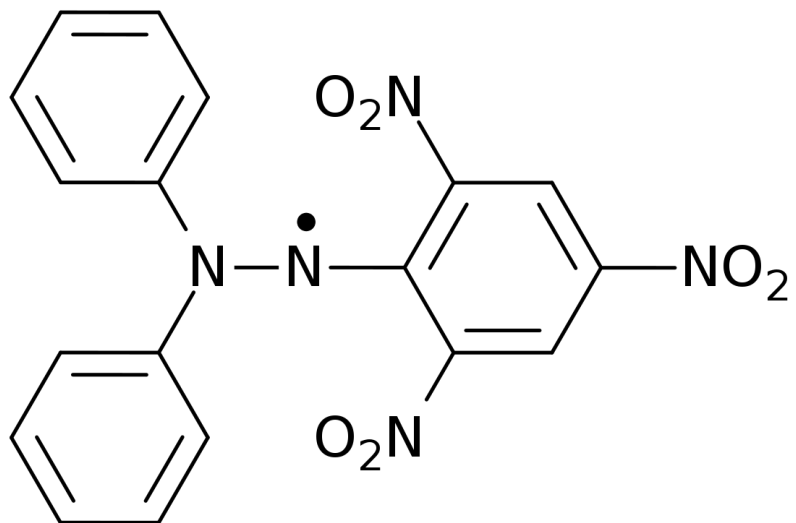
- Zat :
- Tidak harus berwarna
 - Serapan $\sim$ transisi e⁻ $\sim$ distribusi e⁻
 - Pelarut ?

Absorpsi UV-Vis

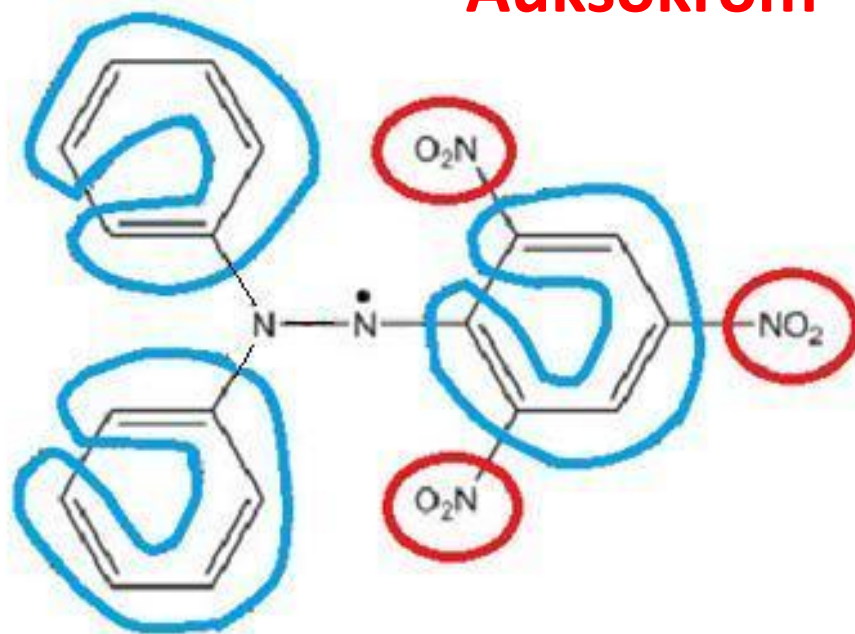
TABLE 26-1

Absorption Characteristics of Some Common Organic Chromophores

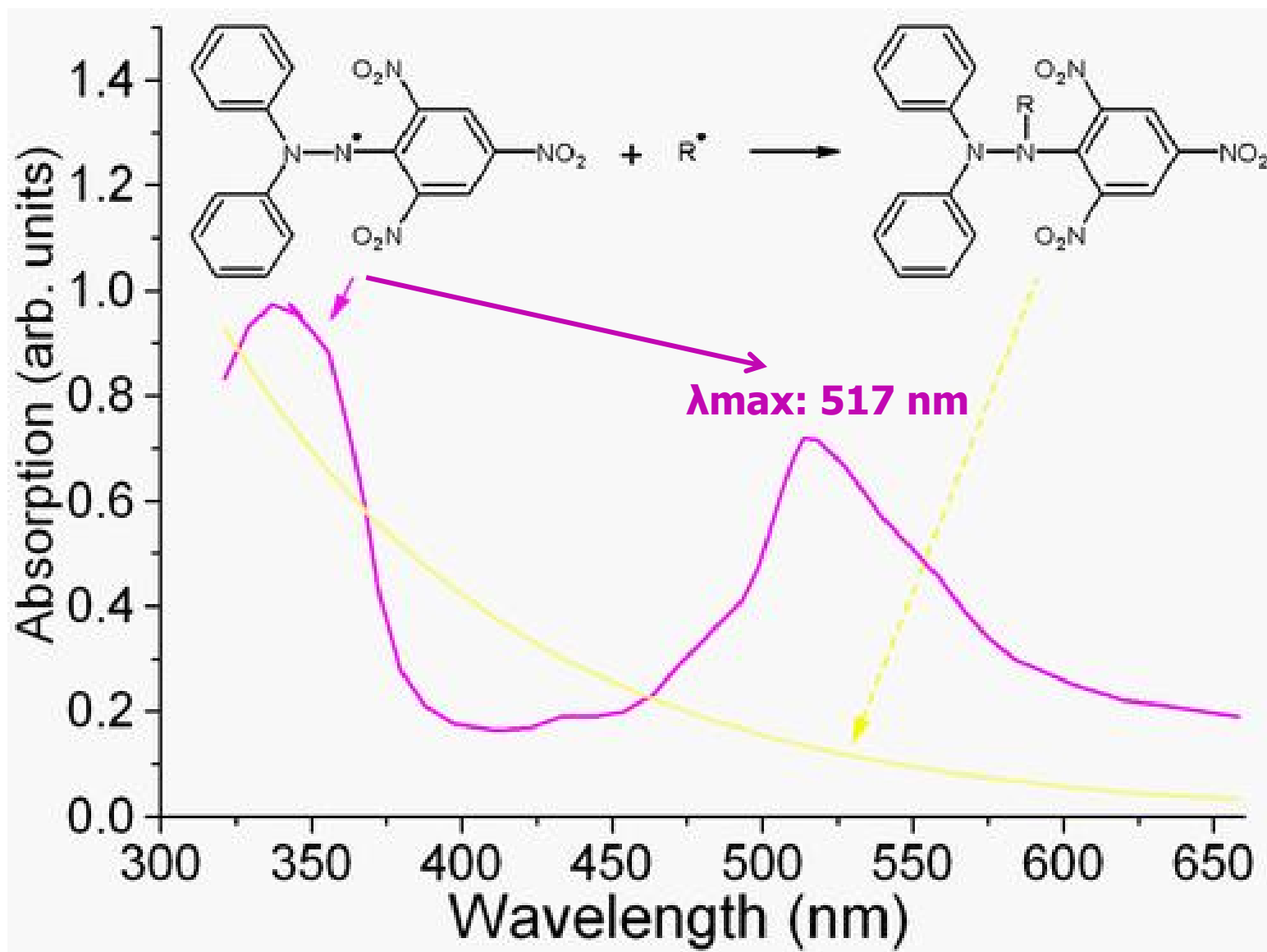
Chromophore	Example	Solvent	$\lambda_{\max}$, nm	$\epsilon_{\max}$
Alkene	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptane	177	13,000
Conjugated alkene	$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptane	217	21,000
Alkyne	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	<i>n</i> -Heptane	178	10,000
			196	2,000
			225	160
Carbonyl	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CCH}_3 \end{array}$	<i>n</i> -Hexane	186	1,000
			280	16
	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CH} \end{array}$	<i>n</i> -Hexane	180	Large
			293	12
Carboxyl	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{COH} \end{array}$	Ethanol	204	41
Amido	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CNH}_2 \end{array}$	Water	214	60
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Ethanol	339	5
Nitro	CH_3NO_2	Isooctane	280	22
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Ethyl ether	300	100
			665	20
Nitrate	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxane	270	12
Aromatic	Benzene	<i>n</i> -Hexane	204	7,900
			256	200



DPPH
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl



DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl



Curcumin



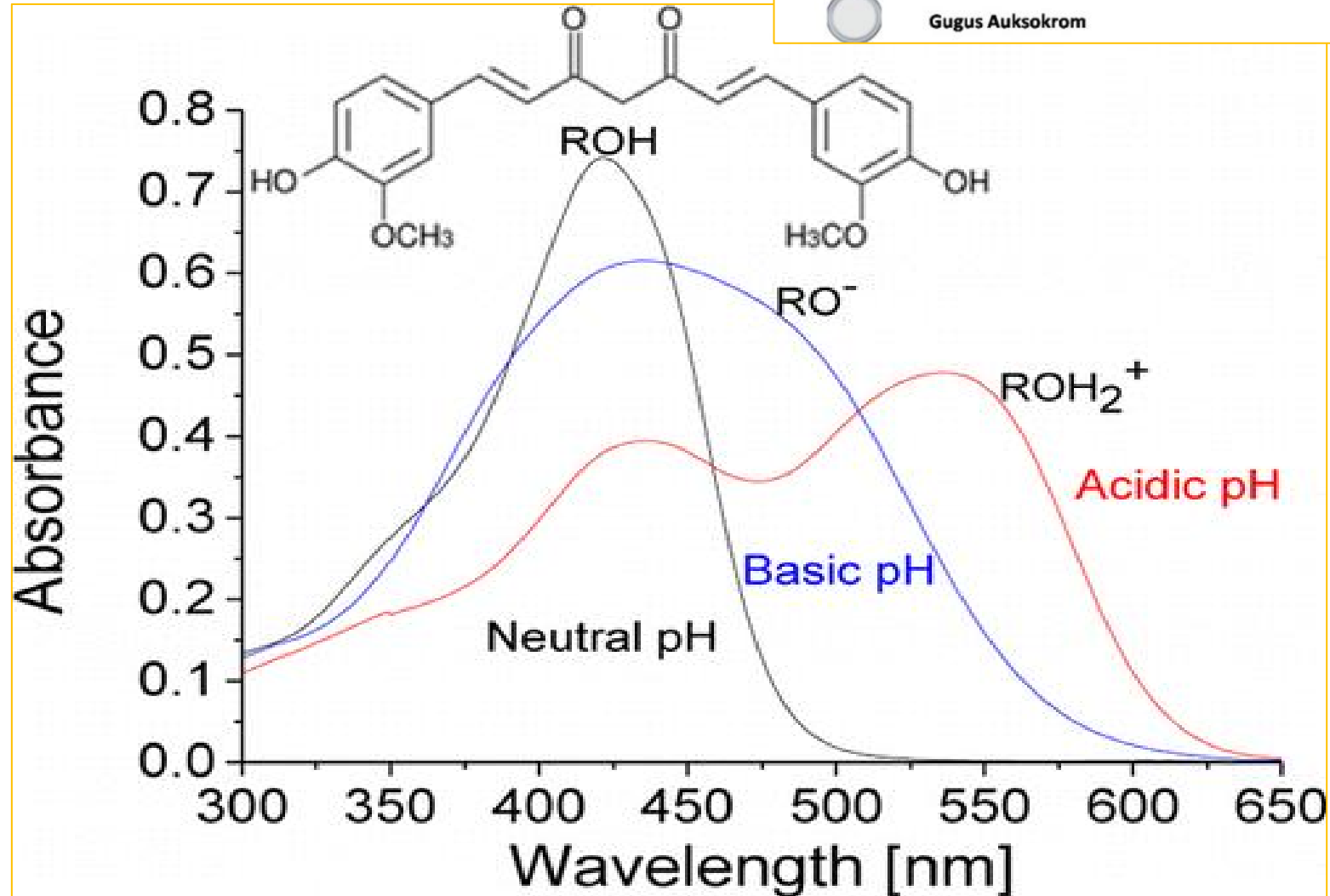
Keterangan :



Gugus Kromofor



Gugus Auksokrom



Transisi Elektron

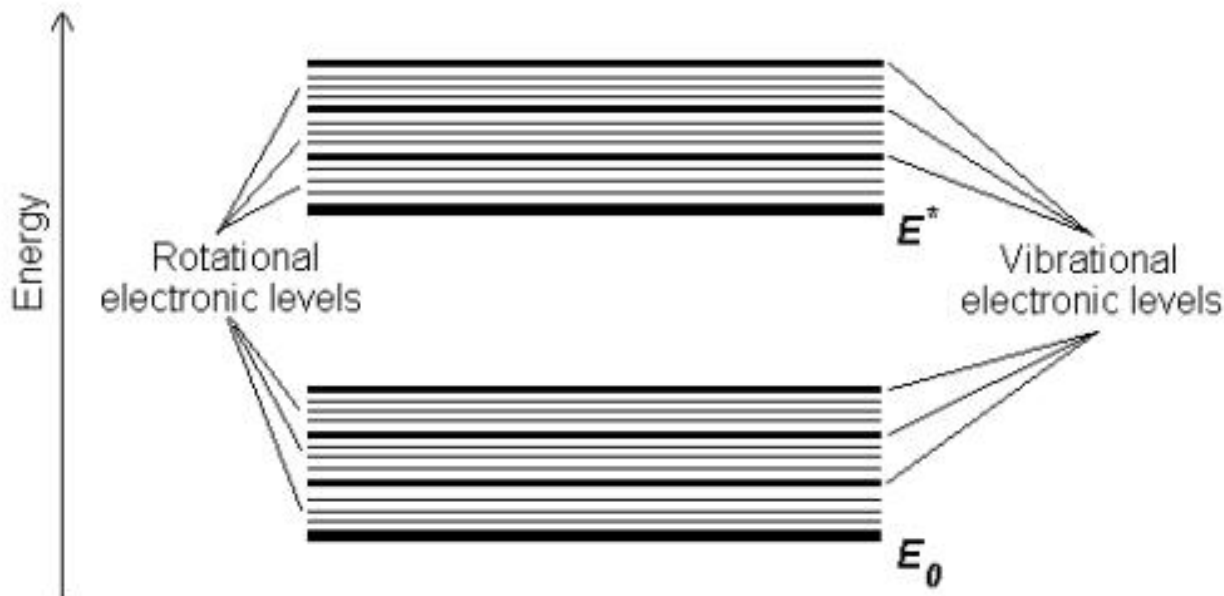
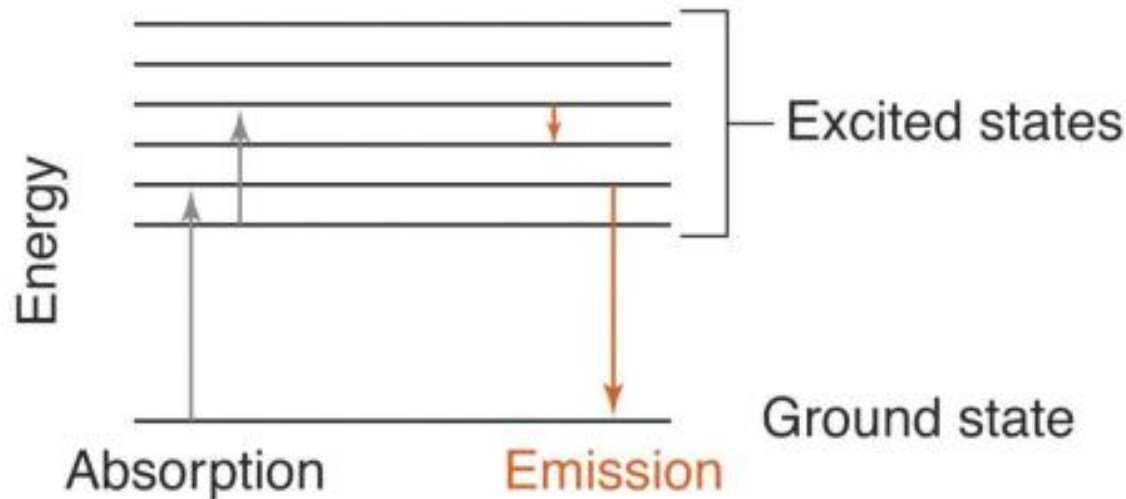
Absorpsi radiasi UV-Vis melibatkan **eksitasi elektron terluar** dan terdapat 3 jenis transisi elektron yaitu:

1. Transisi elektron s , p , dan n
2. Transisi elektron d and f
3. Transisi elektron alih muatan (*charge transfer*)

Saat atom atau molekul mengabsorpsi energi (radiasi yang diberikan), **elektron mengalami promosi dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi**.

Dalam molekul, atom dapat berotasi atau bervibrasi satu sama lainnya. Vibrasi dan rotasi ini memiliki tingkat energi diskret seperti pada gambar setelah *slide* berikut ini

Transisi Elektron

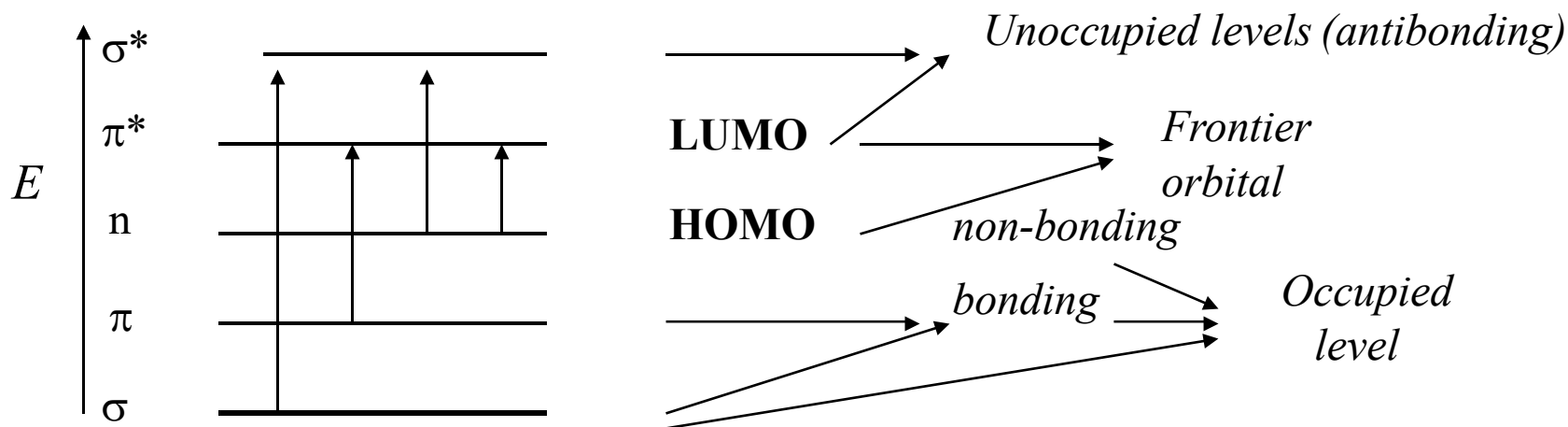


LUMO: tingkat energi terendah dari orbital anti-ikatan/eksitasi.
(Lowest Unoccupied Molecular Orbital)

HOMO: tingkat energi tertinggi dari orbital elektron molekul.
(Highest Occupied Molecular Orbital)

Transisi Elektron

Tipe transisi elektronik



Karakteristik transisi elektronik

	Transisi	λ (nm)	$\log \epsilon$	Contoh
E	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	< 200	>3	hidrokarbon jenuh
	$n \rightarrow \sigma^*$	160~260	2~3	Alkena, alkuna, aromatik
	$\pi \rightarrow \pi^*$	200~500	~ 4	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ Cl CH ₃ NH ₂
	$n \rightarrow \pi^*$	250-600	1~2	Karbonil, nitro, nitrat, karboksil

catatan: transisi terlarang; $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$

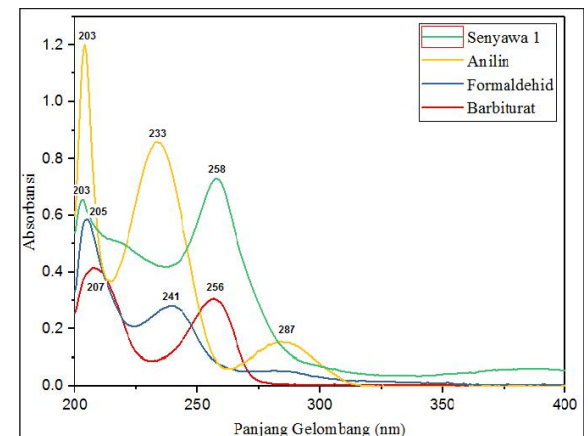
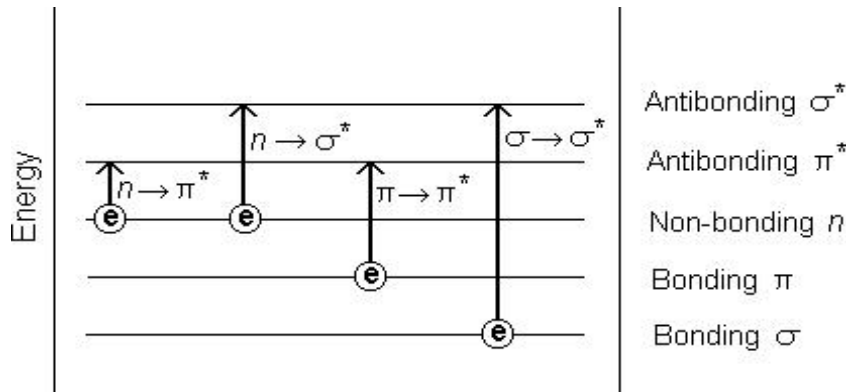
Transisi Elektron

Spesi pengabsorpsi yang mengandung elektron p, s, dan n

Absorpsi radiasi UV-Vis oleh molekul organik hanya disebabkan oleh adanya gugus fungsi tertentu (**kromofor**) yang mengandung elektron valensi pada energi eksitasi yang rendah.

Spektrum dari molekul yang mengandung kromofor tersebut sangatlah **kompleks**. Hal ini disebabkan oleh superposisi transisi rotasional dan vibrasional pada transisi elektron yang memberikan kombinasi garis yang tumpang tindih → terlihat seperti **pita absorpsi yang kontinyu**.

Transisi elektronik yang dimungkinkandari elektron p, s, dan n yaitu:



Transisi Elektron

Transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Memerlukan energi yang tinggi/panjang gelombang yang rendah
– umumnya sangat rendah untuk diukur

Transisi $n \rightarrow \sigma^*$

Pasangan elektron tak berpasangan pada senyawa dengan ikatan jenuh, $\lambda_{\max} \sim 150-250 \text{ nm}$ $\epsilon \sim 100-3000 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
(medium hingga rendah, pelarut pelarut akan menggeser $\lambda_{\max}$ ke λ yang lebih rendah, tidak terlalu dapat terobservasi)

Transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$

Transisi kromofor, $\lambda_{\max} \sim 200-700 \text{ nm}$, $\epsilon n-\pi^* \sim \text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $\epsilon \pi-\pi^* \sim 1000-10,000 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

Transisi Elektron

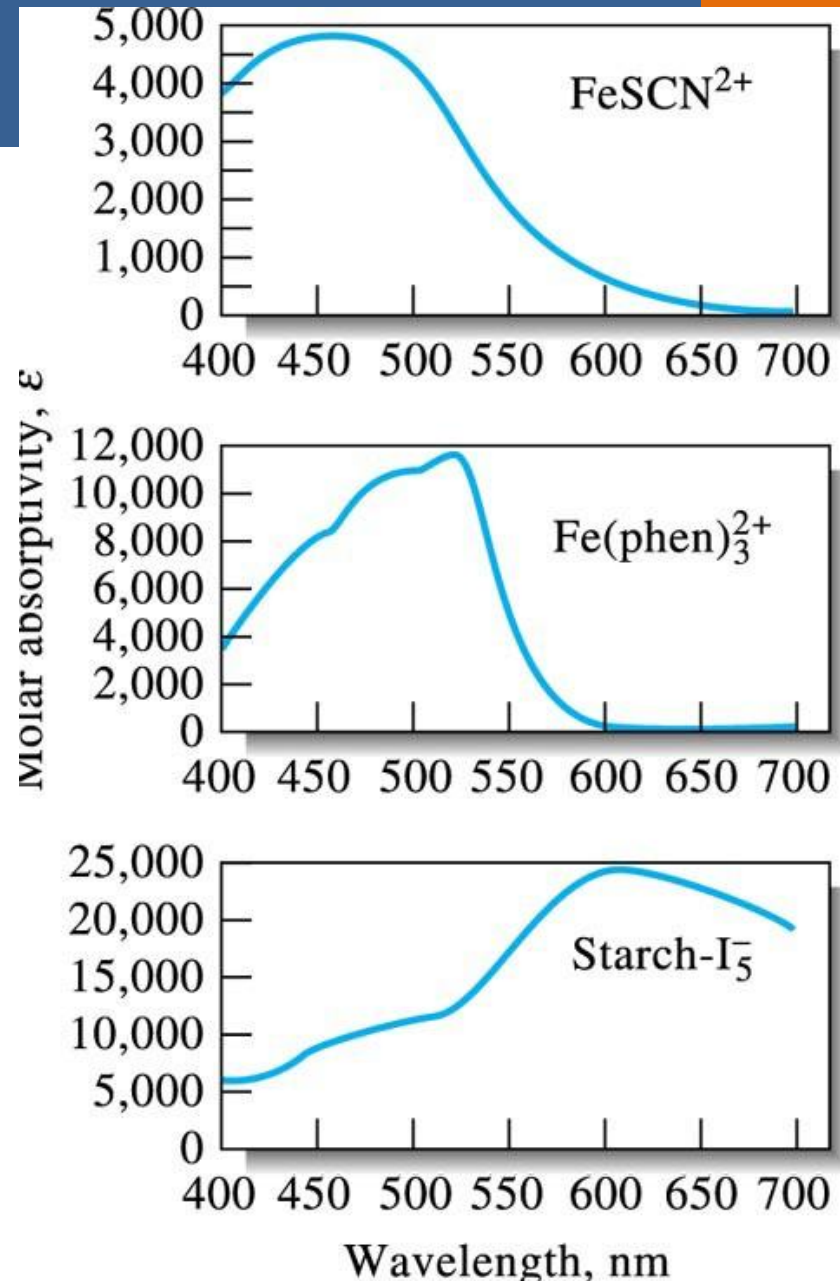
Absorpsi Alih Muatan (Charge-Transfer Absorption)

Senyawa anorganik umumnya menunjukkan absorpsi alih muatan dan disebut sebagai senyawa kompleks alih muatan (*charge-transfer complexes*)

Senyawa kompleks akan memberikan absorpsi jenis ini jika terdapat atom yang dapat berperan sebagai donor elektron dan yang lainnya sebagai akseptor elektron. Absorpsi radiasinya akan melibatkan elektron dari donor dalam orbital yang berasosiasi dengan akseptor

Absorptivitas molar dari absorpsi alih muatan ini sangat besar (lebih besar dari $10,000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Transisi Elektron

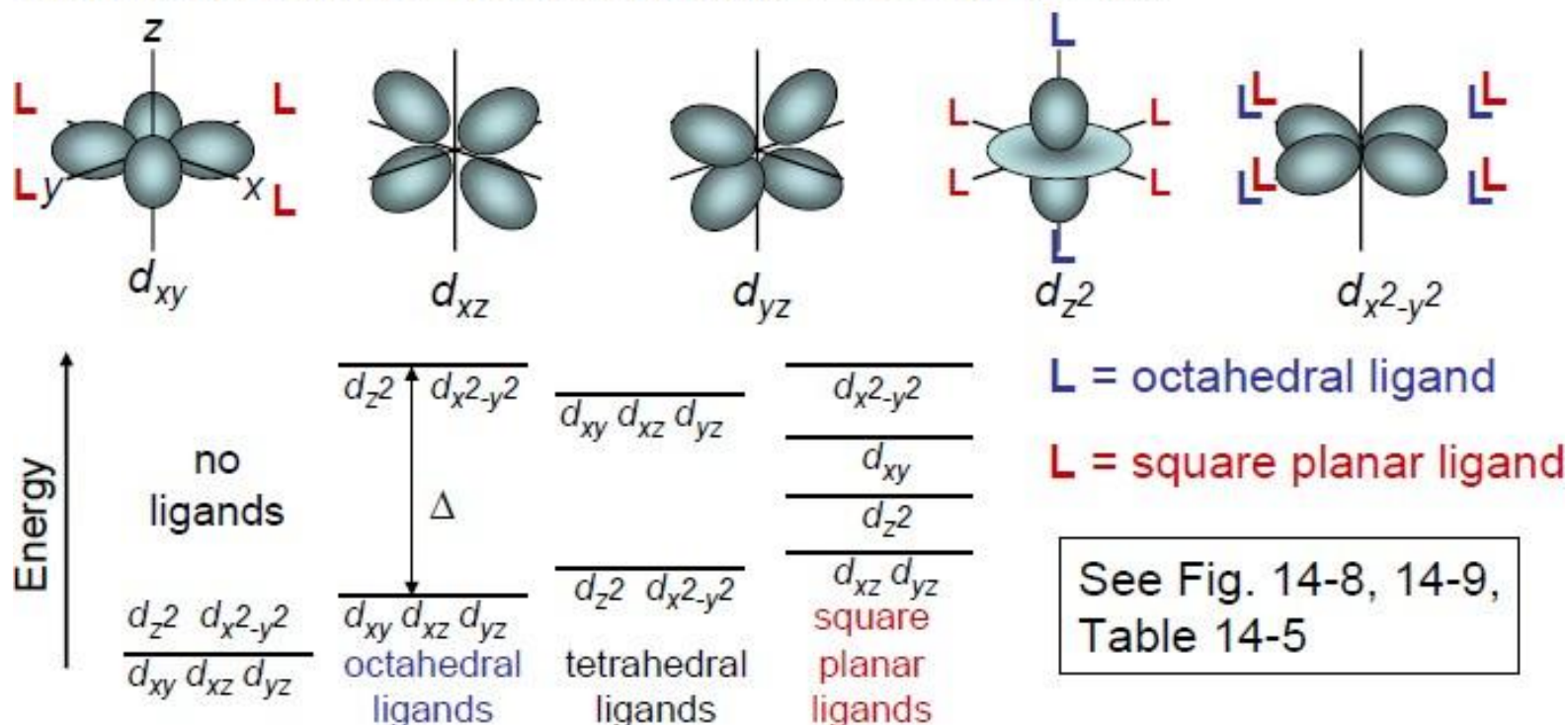


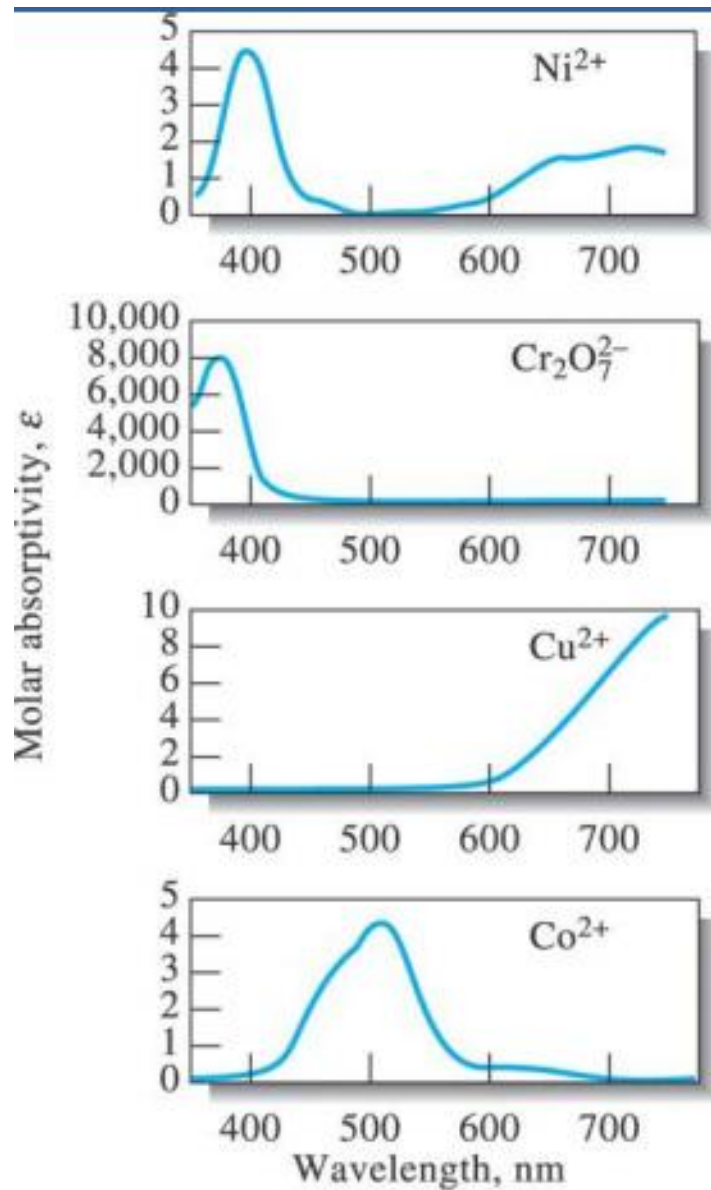
Spektrum absorpsi kompleks larut dalam air yang mengalami absorpsi alih muatan

Transisi Elektron

Lanthanide (4f) & Actinide (5f) ions show sharp, characteristic UV/visible absorption peaks – due to different *f* orbital energies; shielded by *e*'s in higher principal quantum number orbitals → no solvent shifts (Fig. 14-6)

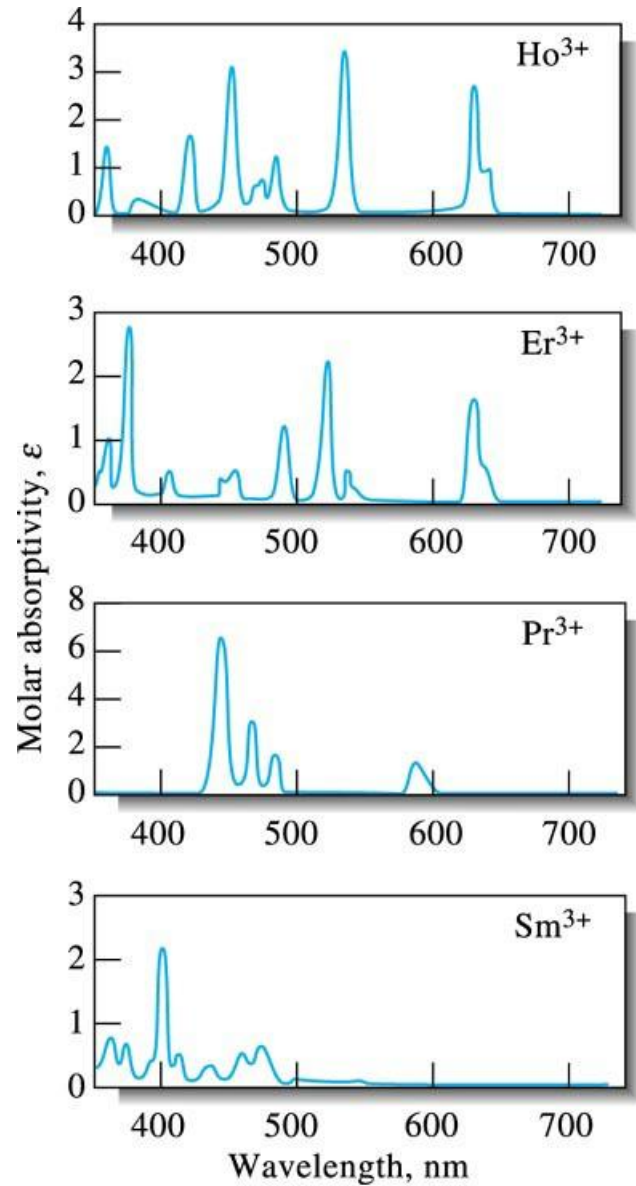
Transition Metal ions (partially filled *d* orbitals) – broad absorption bands in visible for most oxid. states – due to *d*→*d* transitions (energies not identical in solution - ligands) (Table 14-5, Fig. 14-10)





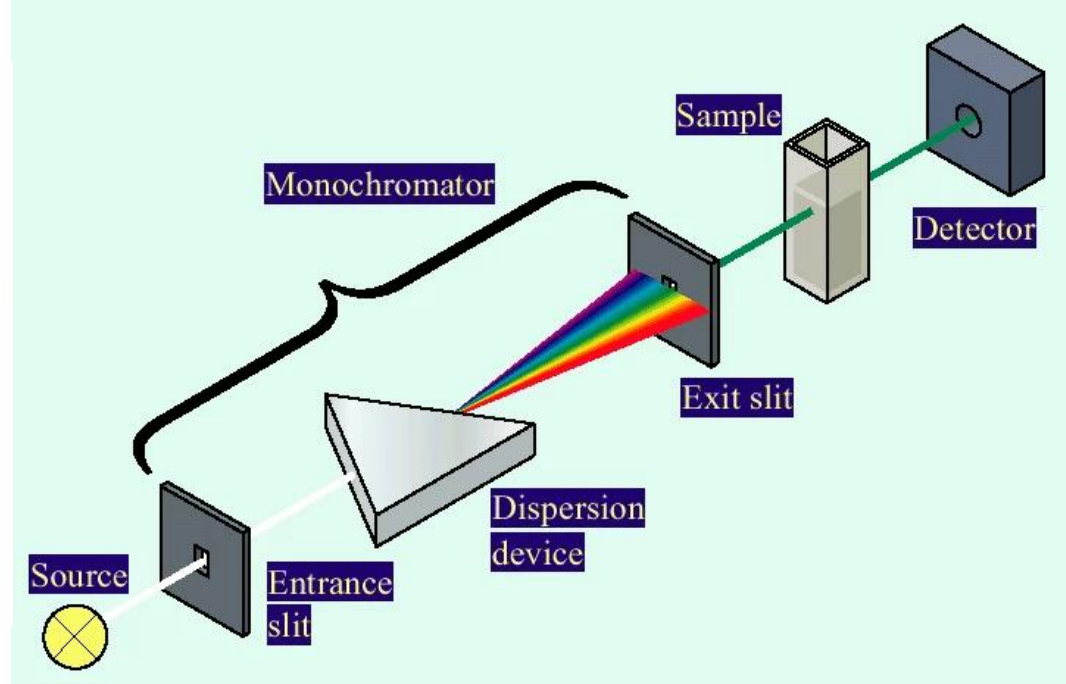
© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Spektrum absorpsi ion logam transisi yang larut dalam air



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Spektrum absorpsi ion tanah langka yang larut dalam air

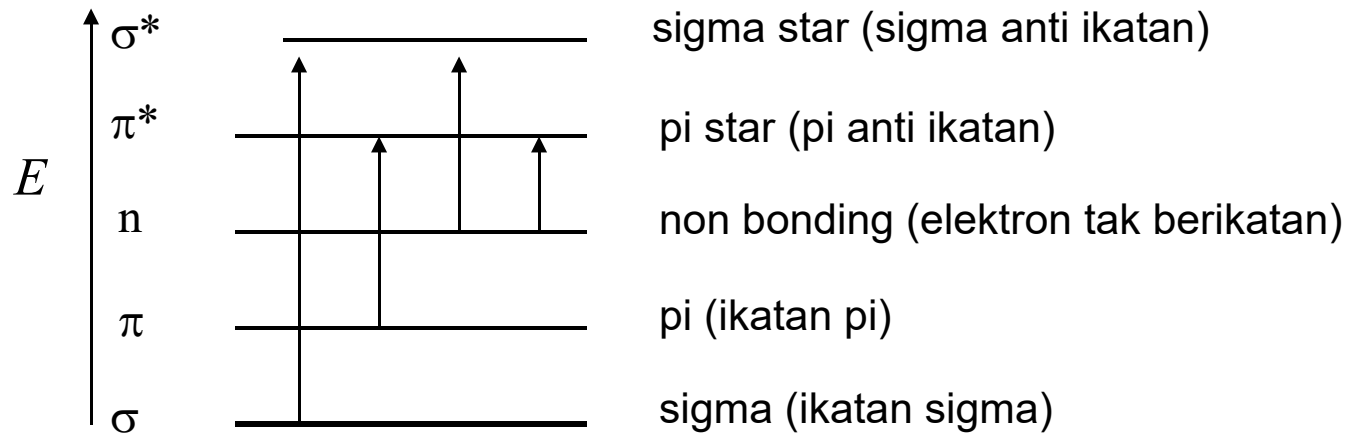


the end

thank you

Transisi Elektron

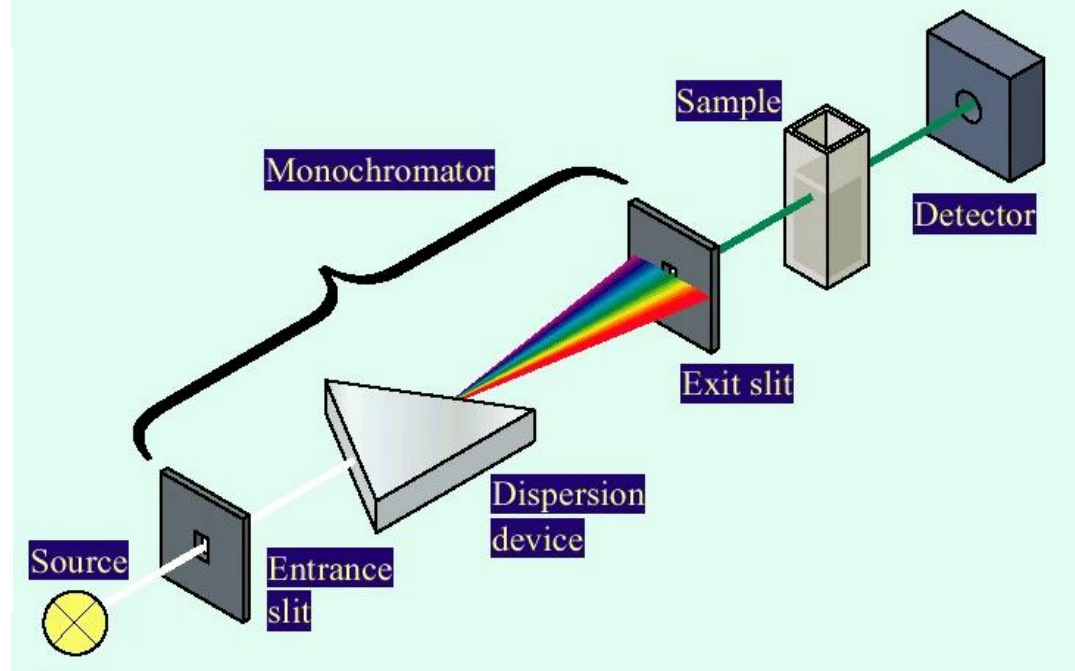
Tipe transisi elektronik



Karakteristik transisi elektronik

	Transisi	λ (nm)	$\log \epsilon$	Contoh
E	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	< 200	>3	hidrokarbon jenuh
	$n \rightarrow \sigma^*$	160~260	2~3	Alkena, alkuna, aromatik
	$\pi \rightarrow \pi^*$	200~500	~ 4	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ Cl CH ₃ NH ₂
	$n \rightarrow \pi^*$	250-600	1~2	Karbonil, nitro, nitrat, karboksil

catatan: transisi terlarang; $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$



SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

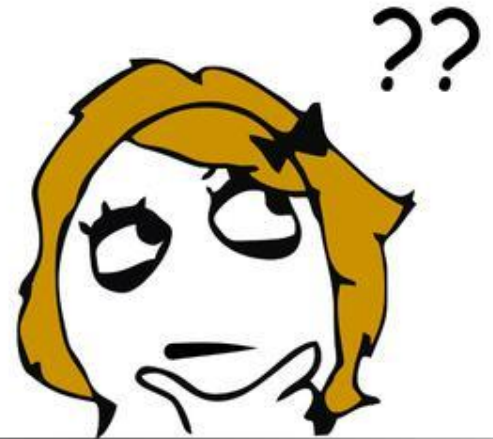
Dian Purwita Sari, M.Biotech., Apt.
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

1



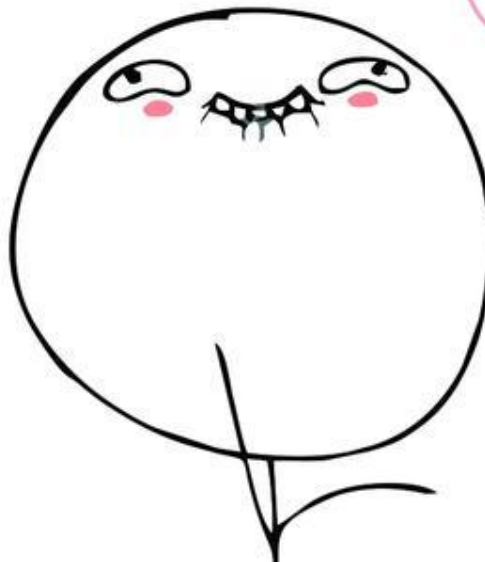
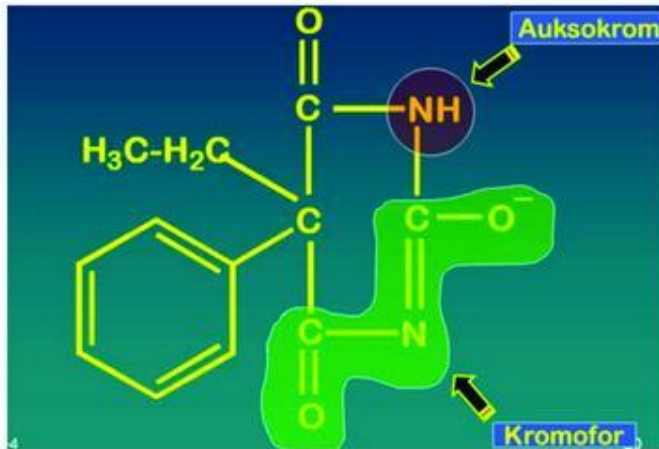
Tau ngak bedanya
Kamu dengan
KROMOFOR ?

2



3

Kromofor memberikan
WARNA pada **SENYAWA**



Kalo Kamu
memberikan **WARNA**
dalam **HIDUPKU**

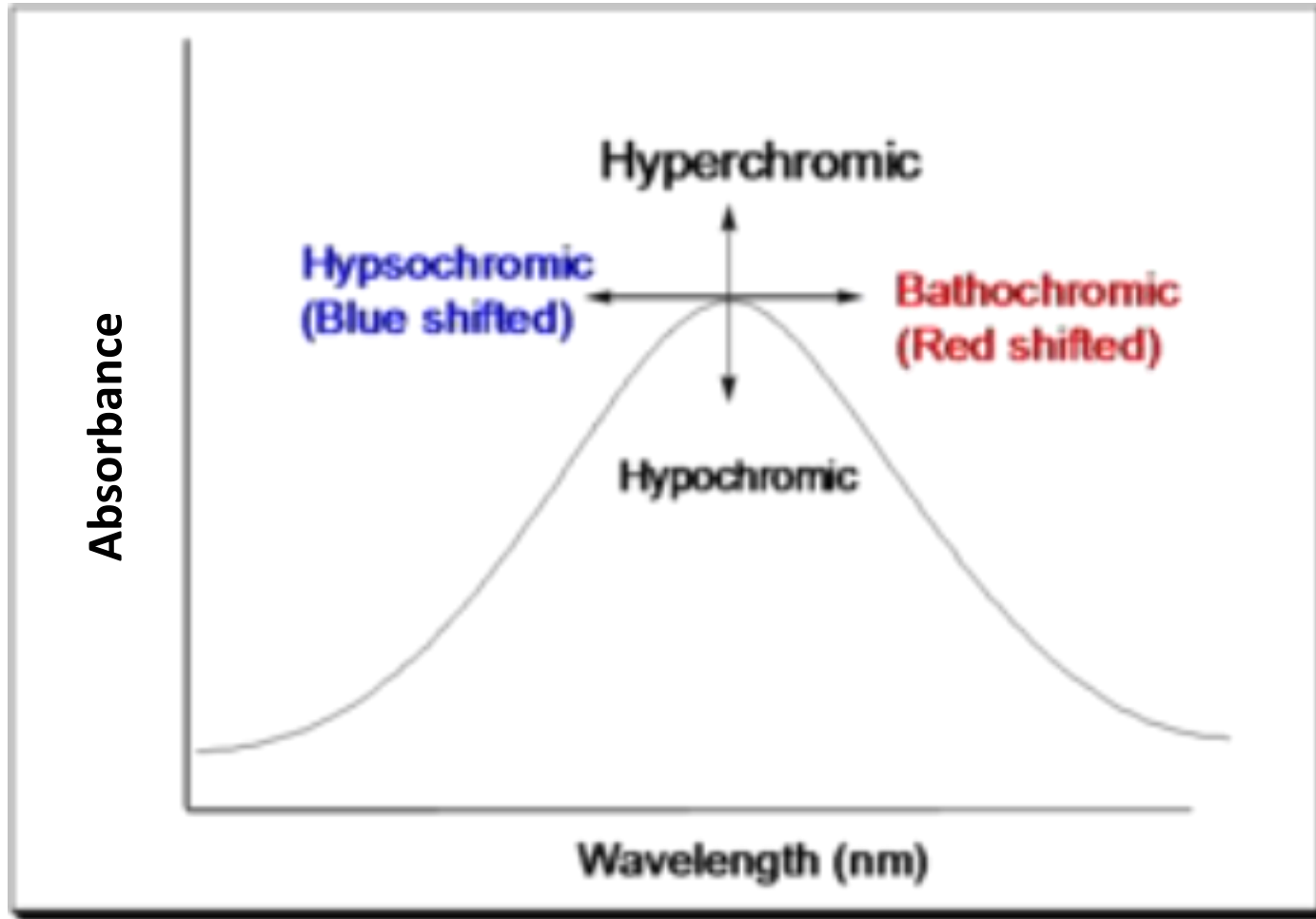
Puncak Serapan (λ_{max}) UV-Vis

Faktor yang berpengaruh: substitusi, konjugasi, pelarut.

Pergeseran yang dapat terjadi:

1. Efek **bathokromik** (*red shift*: $n-\pi^*$)
Pergeseran ke tingkat energi yang lebih rendah ($\lambda \uparrow$)
2. Efek **hipsokromik** (*blue shift*: $\pi-\pi^*$)
Pergeseran ke tingkat energi yang lebih tinggi ($\lambda \downarrow$)
3. Efek **hiperkromik**
Peningkatan intensitas
Substituens auksokrom (CH_3 , OH^- , X^- , NH_2)
4. Efek **hipokromik**
Penurunan intensitas

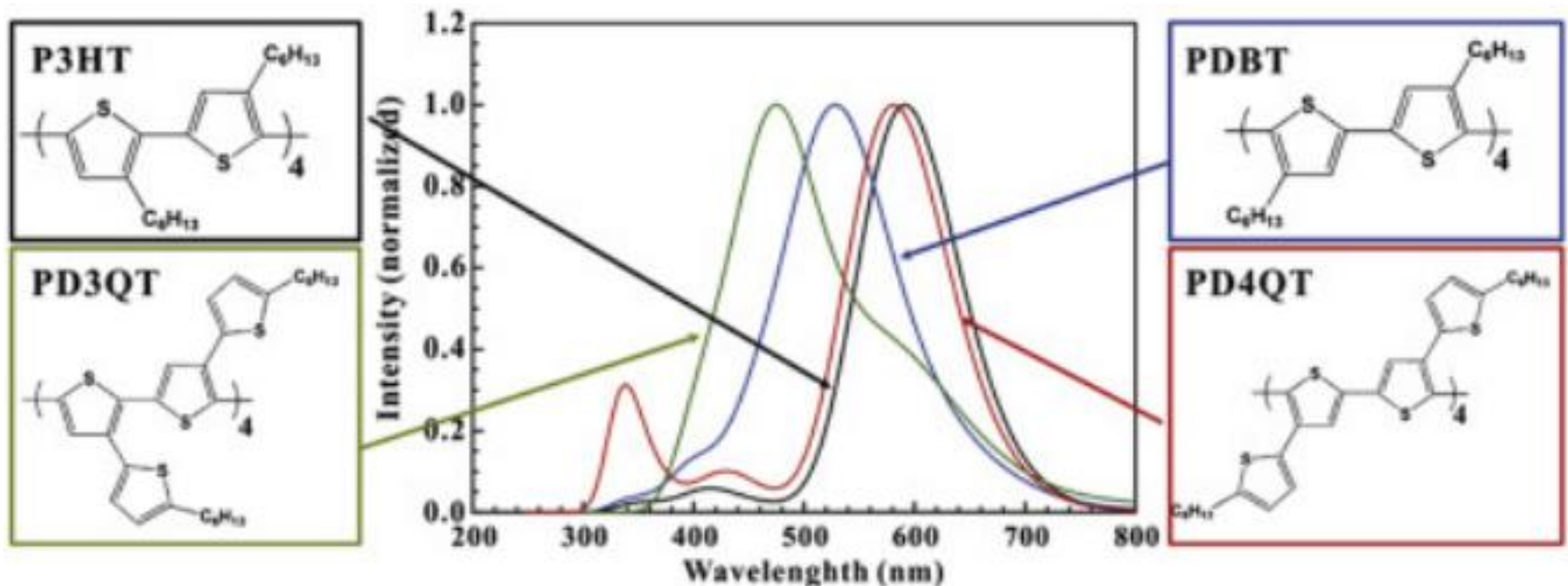
Puncak Serapan (λ_{max}) UV-Vis



Terminology of shift in the position of an absorption band

Puncak Serapan (λ_{max}) UV-Vis

Pengaruh Substitusi



Yu-Chen Huang, Tzu-Chung Lu, Ching-I Huang, 2013, Exploring the correlation between molecular conformation and UV-visible absorption spectra of two-dimensional thiophene-based conjugated polymers, *Polymer*, 54:23, 6489-6499, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2013.09.037>

Substitusi:

Penggantian gugus rantai samping/auksokrom dapat menggeser serapan.

Puncak Serapan (λ_{max}) UV-Vis

Pengaruh Konjugasi

Senyawa	λ_{maks} (nm)	
Etilena	125	
1,3-butadiena	217	
1,3,5-hexatriena	258	
β -carotena	465	
Aseton	189	280
3-buten-2on	213	320

Konjugasi:

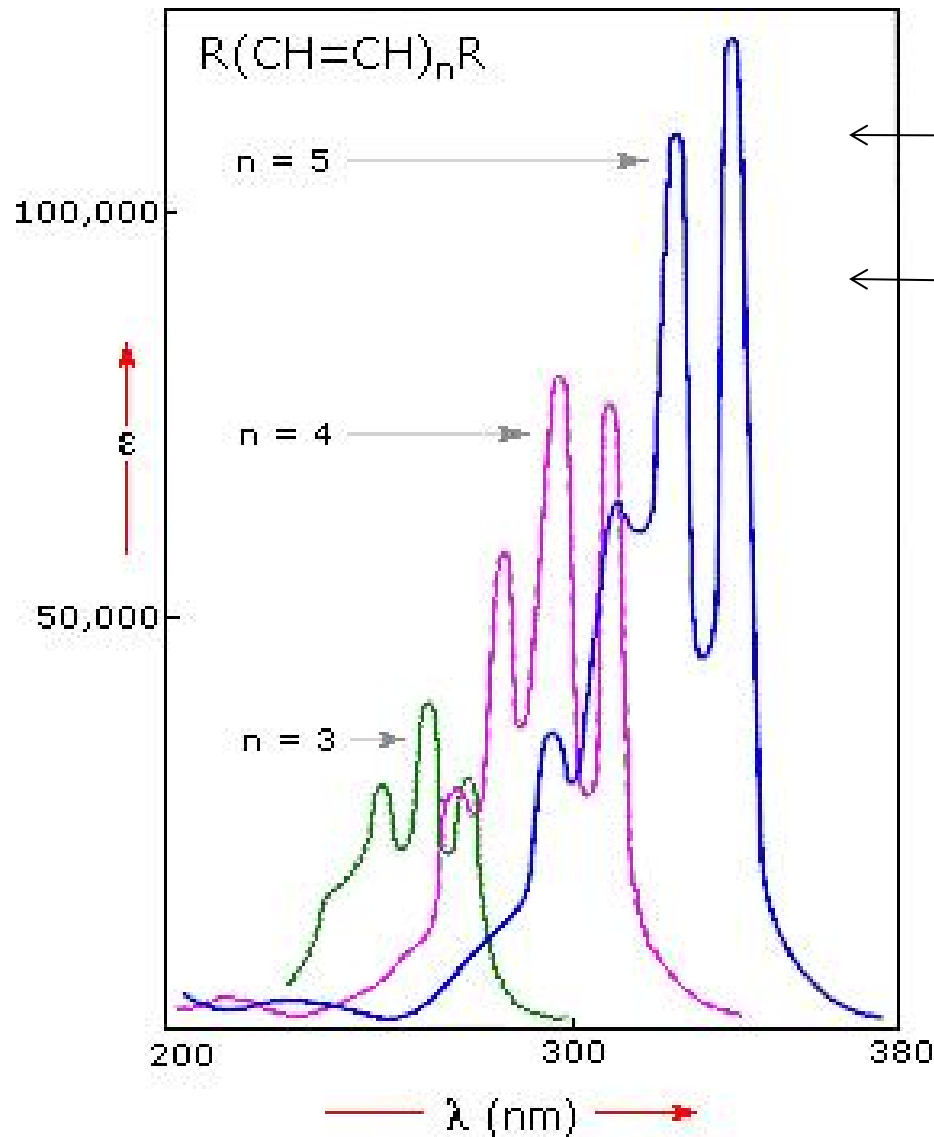
Jika sejumlah ikatan rangkap (misal dua atau tiga) masing-masing terpisah oleh satu ikatan tunggal, maka dikatakan terkonjugasi.

Dalam sistem konjugasi tersebut, terjadi tumpang tindih orbital π , yang akan menurunkan gap energi antara orbital tetangga.

Hasilnya terjadi pergeseran bathokromik dan hiperkromik.

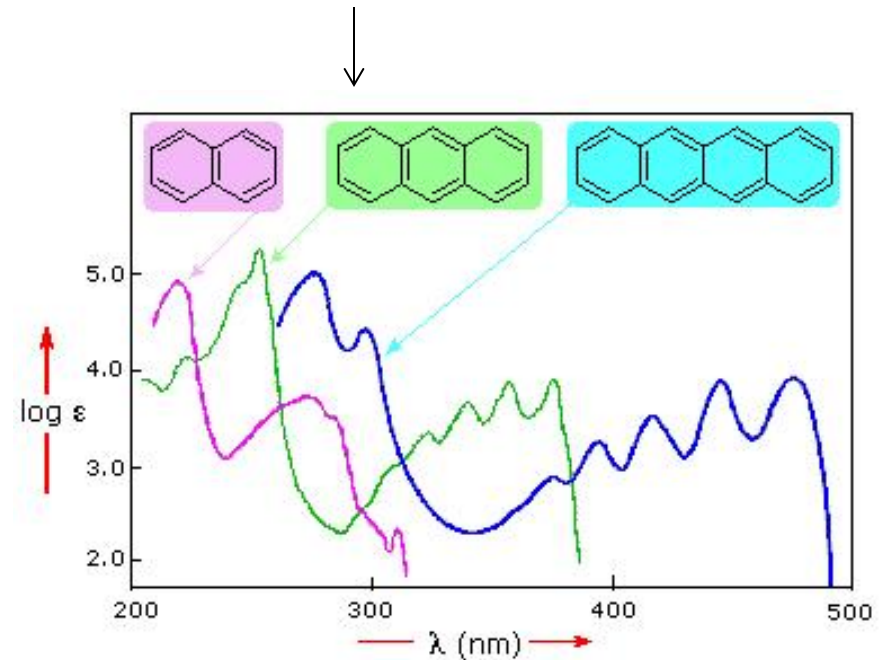
Makin panjang konjugasi, makin tinggi pergeserannya.

Pengaruh Konjugasi



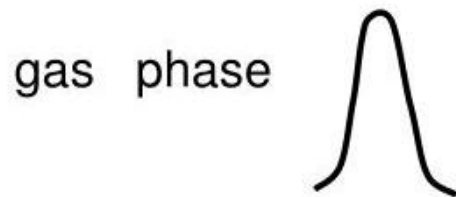
← **Hiperkromik**

← **Bathokromik**

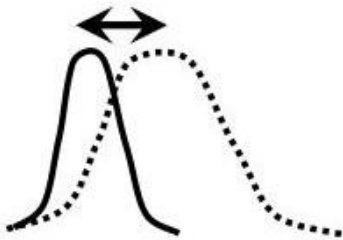


Efek Pelarut

- Solvent has 2 main effects on absorption spectra:
- absorption peaks become broader:



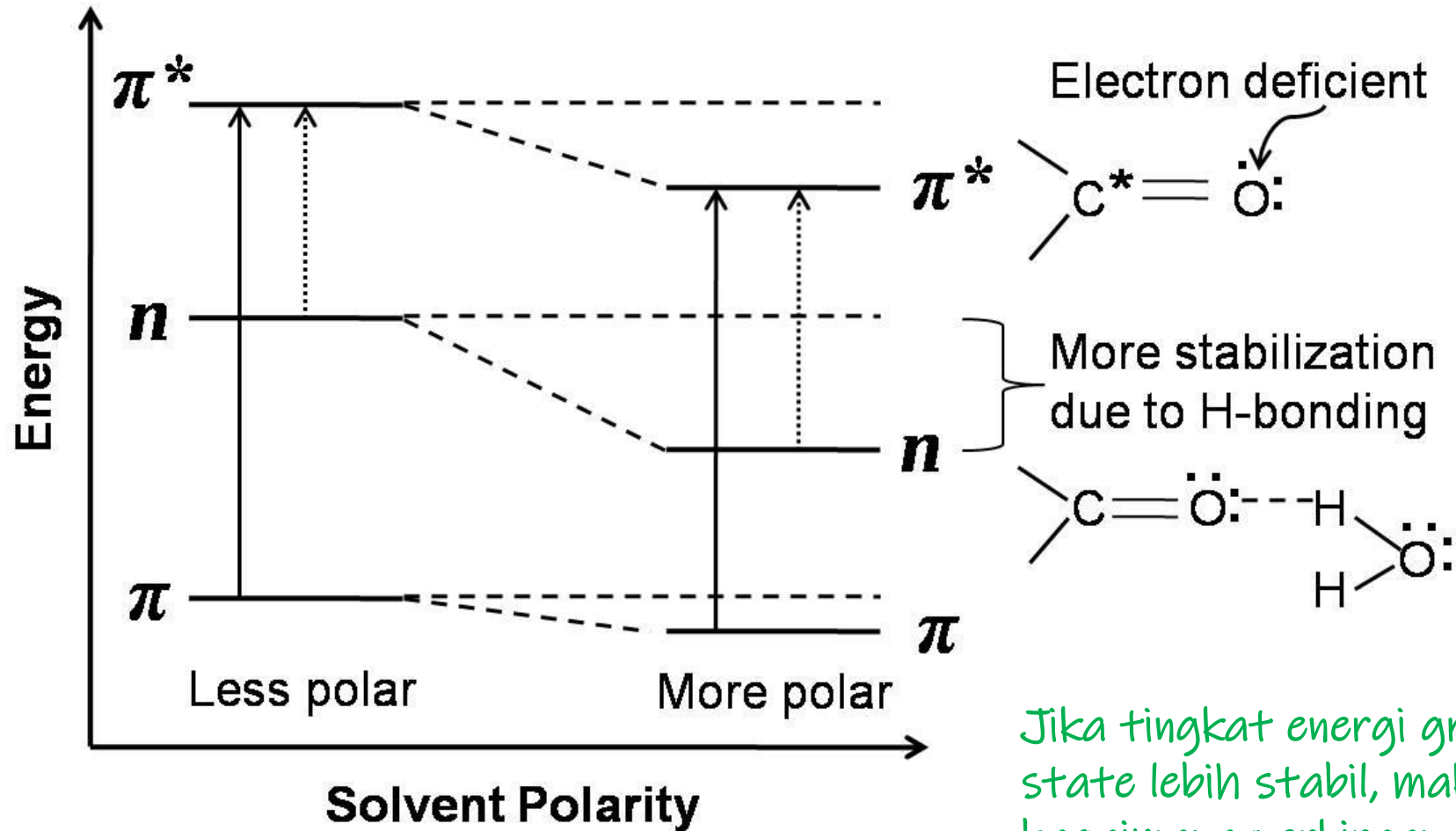
- position of $\lambda_{\max}$ may differ in different solvents:



shift to longer λ : 'red shift' **Bathokromik**

shift to shorter λ : 'blue shift' **Hipsokromik**

Efek Pelarut



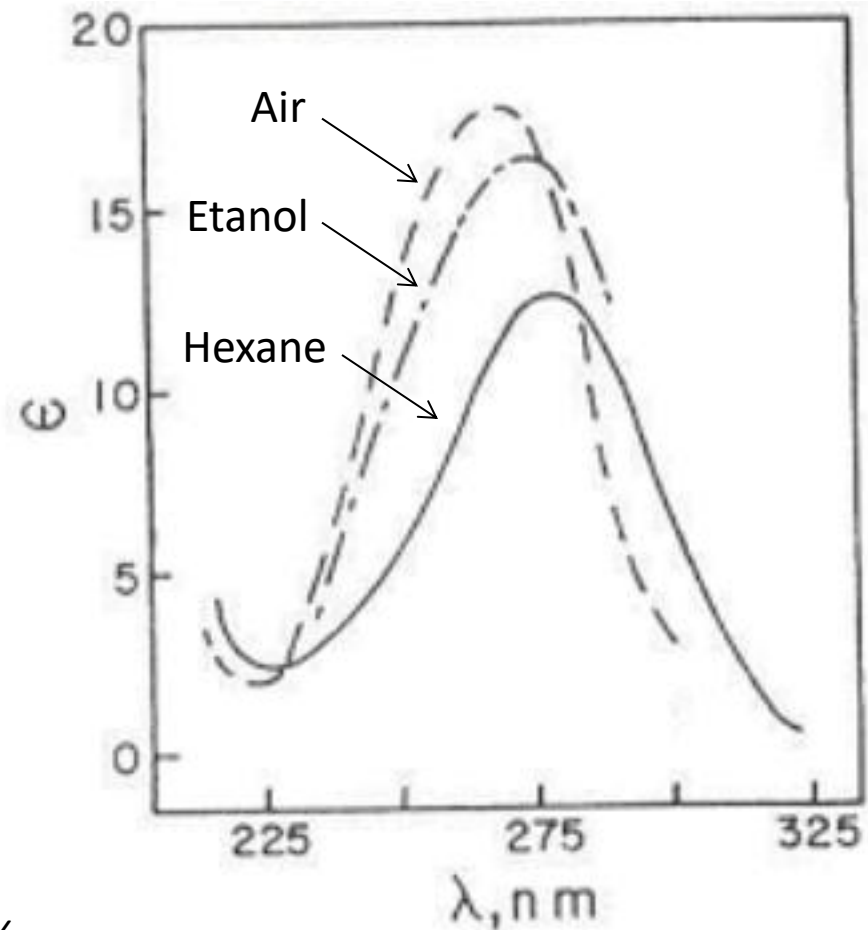
Jika tingkat energi ground state lebih stabil, maka bagaimana perkiraan pergeseran λ ?
Red/blue shift? Jelaskan!

Contoh Efek Hipsokromik

Figure 11-4 Solvent effects on the $n \rightarrow \pi^*$ transition of acetone in hexane (—), in 95% ethanol (— · —), and in water (---).

Analit:
Aseton

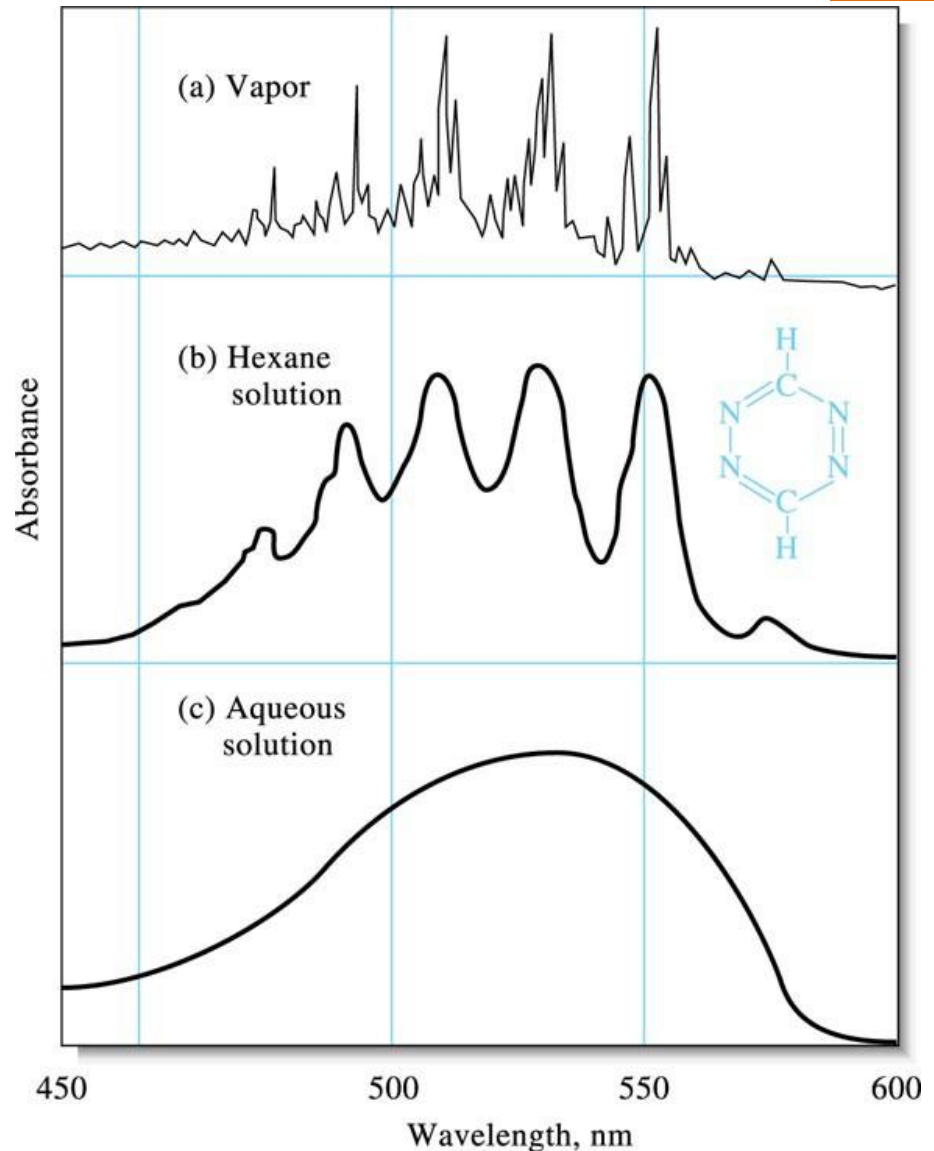
Solven:
Hexane
Etanol 95%
Air



Efek Pelarut

Untuk senyawa organik pemilihan pelarut sangat penting karena dapat menyebabkan pelebaran pita absorpsi (Pengaruh terhadap pita absorpsi & λ_{maks})

Spektrum absorpsi
1,2,4,5-tetrazin



Efek Pelarut

Analit:

PFP (pentafluorophenol)

Phenol

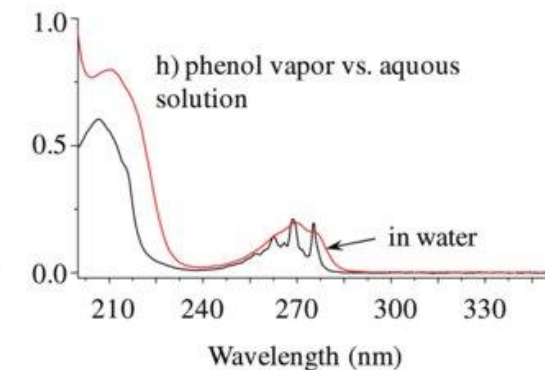
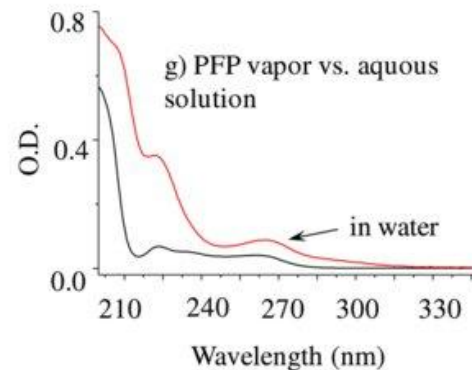
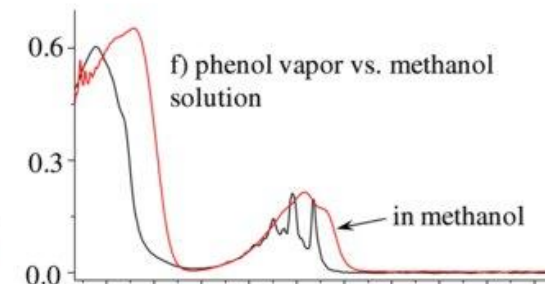
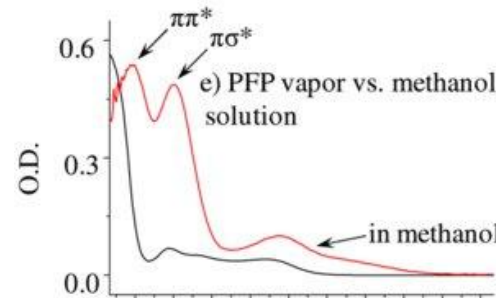
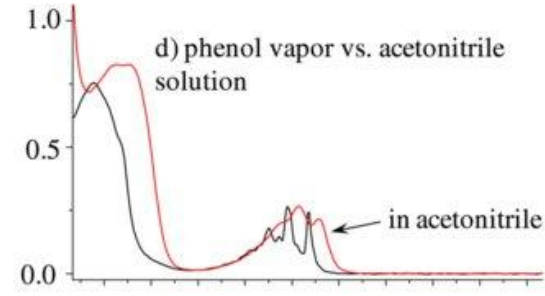
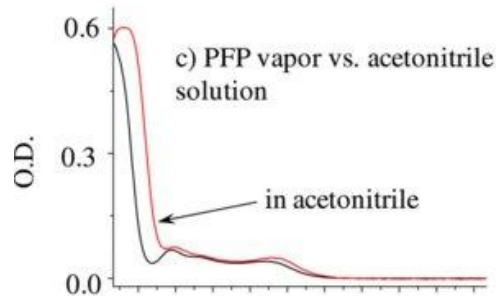
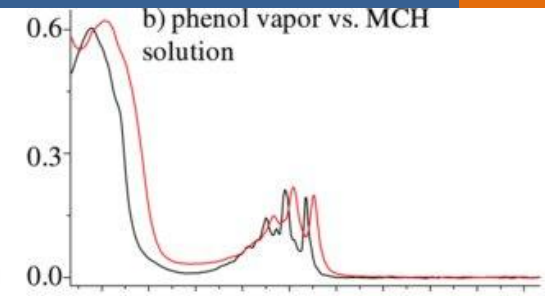
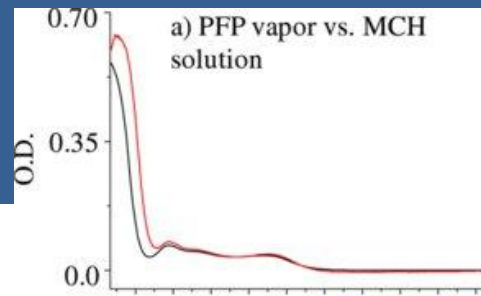
Solvent:

MCH (methylcyclohexane)

Acetonitrile

Methanol

Water



Pemilihan Pelarut

- ◆ **melarutkan** komponen analit,
- ◆ harus **inert** terhadap kuvet,
- ◆ pelarut juga harus relatif **transparan** terhadap (melewatkan) daerah spektrum radiasi yang digunakan untuk pengukuran (tidak menyerap radiasi yang digunakan): pelarut tanpa sistem konjugasi biasanya bagus

Pada spektroskopi ultraviolet pemilihan pelarut sangat penting untuk diperhatikan terutama pelarut organik → kenapa?

Bila digunakan **pelarut organik**, maka pelarut tersebut mungkin saja **menyerap radiasi pengukuran** → nilai penggal (**cut off**) suatu pelarut perlu diperhatikan

Nilai penggal: λ yang menghasilkan absorptivitas molar (ϵ) 1, menghasilkan transparansi minimum

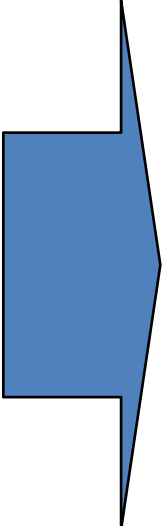
Pemilihan Pelarut

Nilai penggal beberapa pelarut umum

Pelarut	λ (nm)	Pelarut	λ (nm)
Asam asetat	260	Gliserol	207
Aseton	330	Heksana	210
Asetonitril	190	Metanol	210
Benzena	280	Metil etil keton	330
Karbon tetraklorida	265	Metil isobutil keton	230
Kloroform	245	Pentana	210
Sikloheksana	210	1-propanol	210
Dietil eter	218	Toluena	286
Etanol	210	Piridin	330
Etil asetat	255	Xilena	290
Etilen klorida	228	Air	191

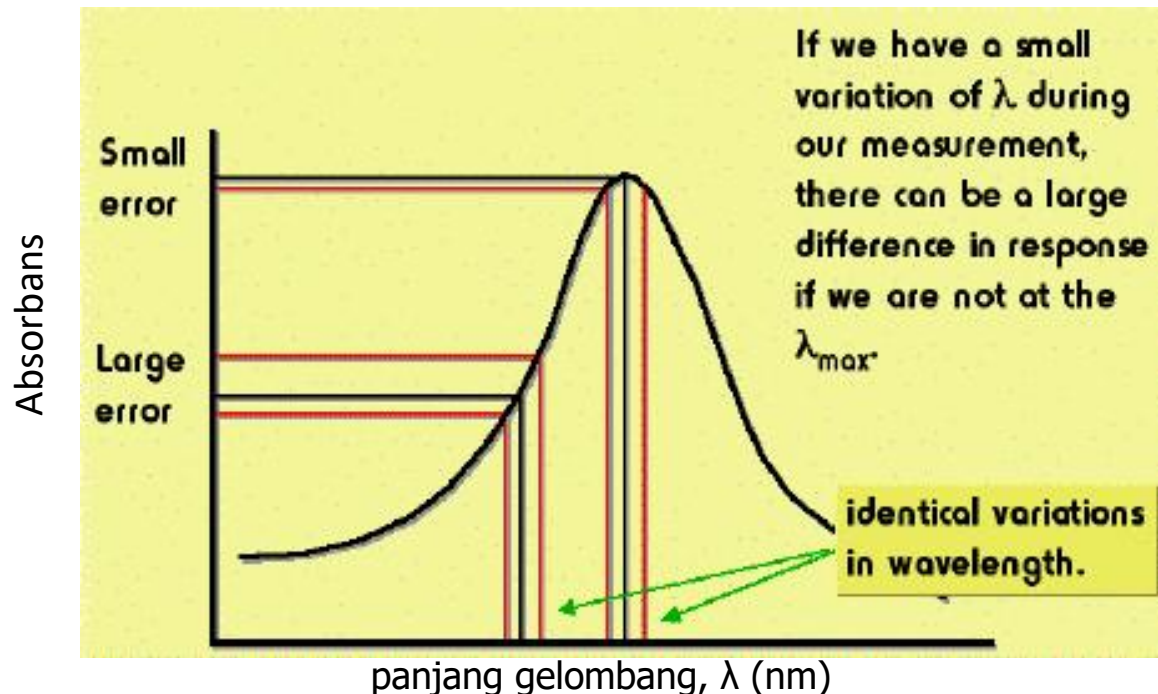
Analisis Kualitatif dan Kuantitatif UV-Vis

Analisis kualitatif → tidak terlalu berguna karena spektrum yang dihasilkan cenderung mempunyai pita yang melebar sehingga informasi yang didapat sangat sedikit

Analisis kuantitatif  kegunaan yang paling banyak dipakai dengan sensitivitas yang baik (limit deteksi 10^{-4} - 10^{-6})
relatif selektif dan spesifik
ketepatan yang cukup baik
relatif sederhana dan murah

Pengukuran Absorbans

- Dalam analisis kuantitatif, pengukuran absorbans → λ_{maks} yaitu panjang gelombang yang memberikan absorbans terbesar (ditentukan dari spektrum absorpsinya)
- Pada λ_{maks} respon sinyal (absorbans) berada dalam kondisi maksimum sehingga akan memiliki sensitivitas baik dan limit deteksi yang rendah serta mereduksi kesalahan dalam pengukuran.

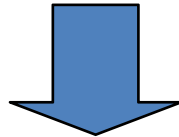


Pengukuran Absorbans

Seluruh kondisi analisis harus dibuat tetap **konstan**

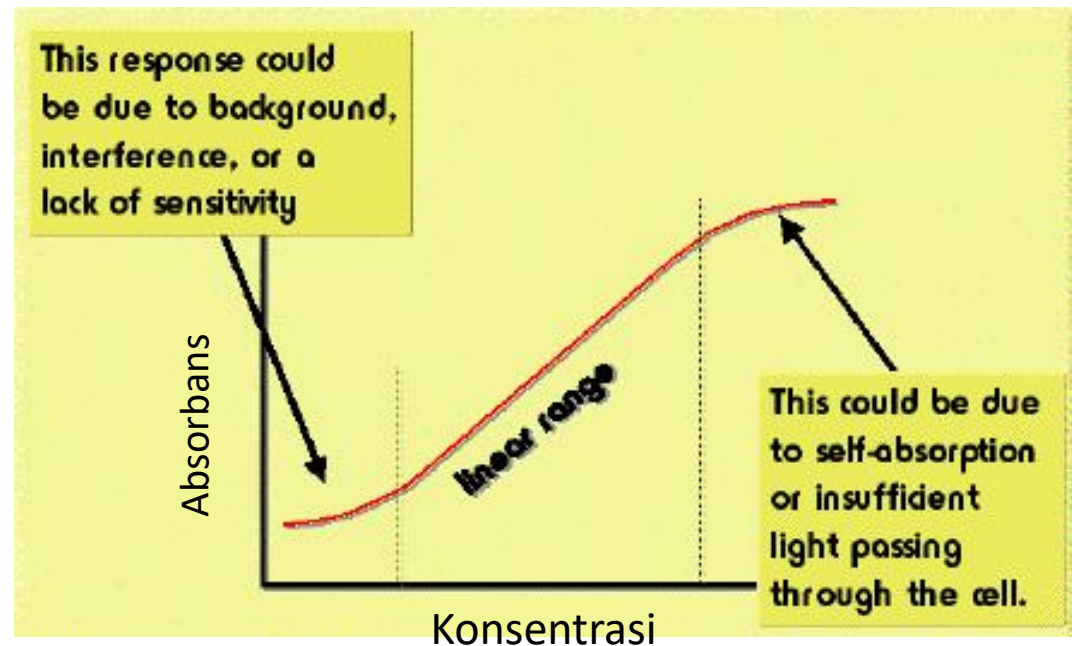
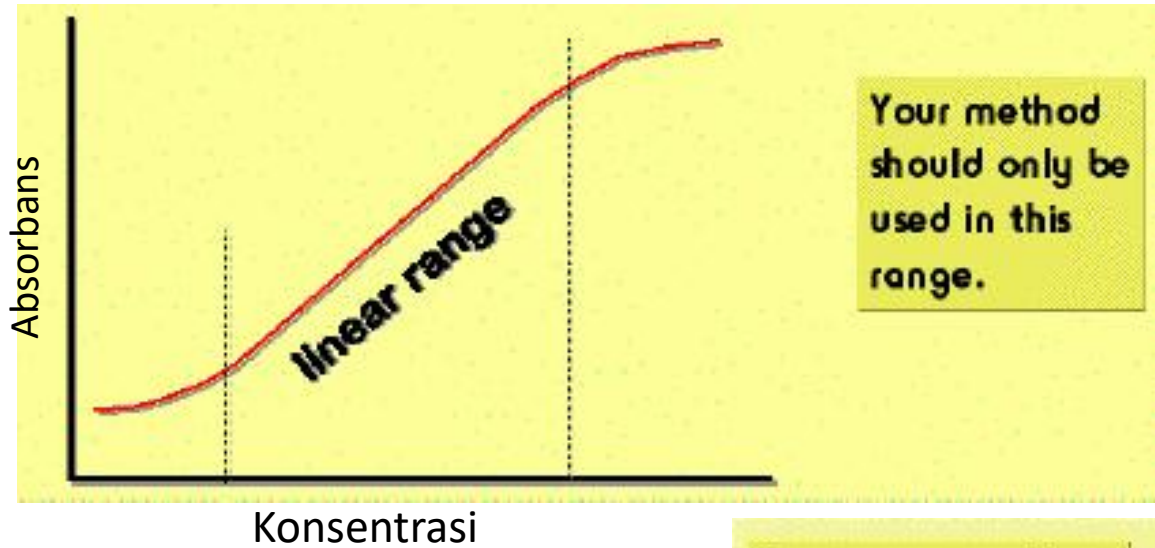
- Variasi pada pelarut, suhu, pH, waktu reaksi, dan faktor lainnya yang dipakai saat **preparasi sampel** agar dapat membentuk senyawa kompleks
- Kondisi **instrumen** harus pula dalam keadaan yang sama saat mengukur standar maupun analit (λ , lebar celah, kuvet dll)

Hubungan antara absorbans dengan konsentrasi harus dibuat agar dapat menentukan konsentrasi/kadar analit → kurva standar/kalibrasi



Hampir seluruh spesi pengabsorbsi hanya akan memberikan respon linear pada beberapa kisaran konsentrasi

Pengukuran Absorbans

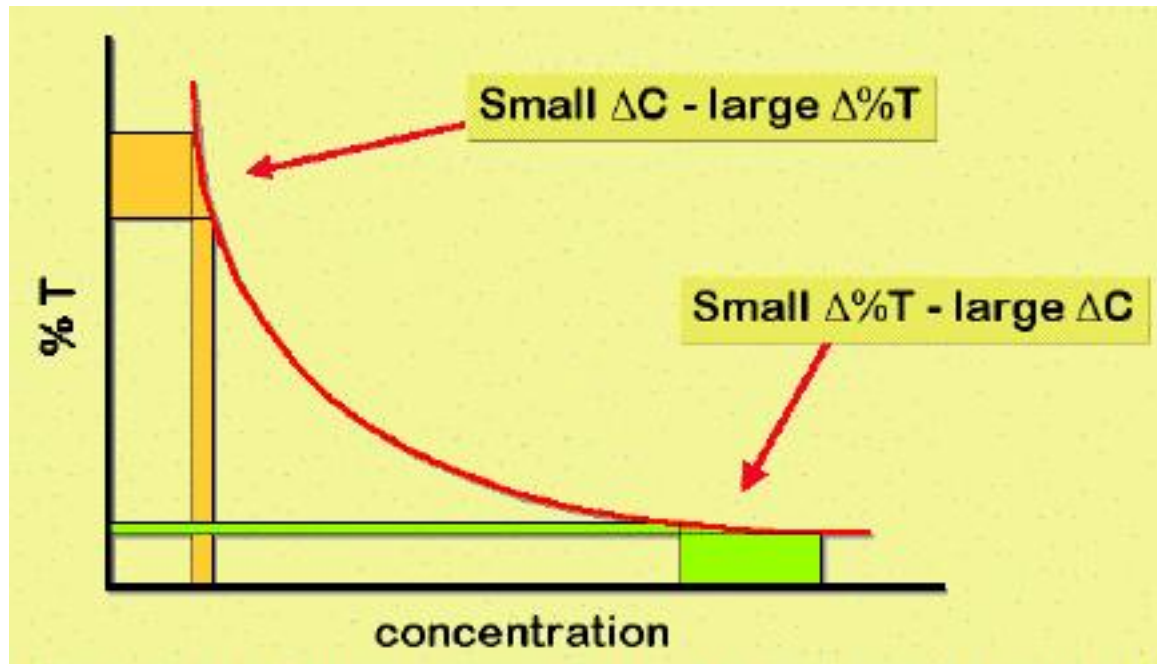


Pengukuran Absorbans

Kesalahan mungkin dapat terjadi saat pengukuran absorbans

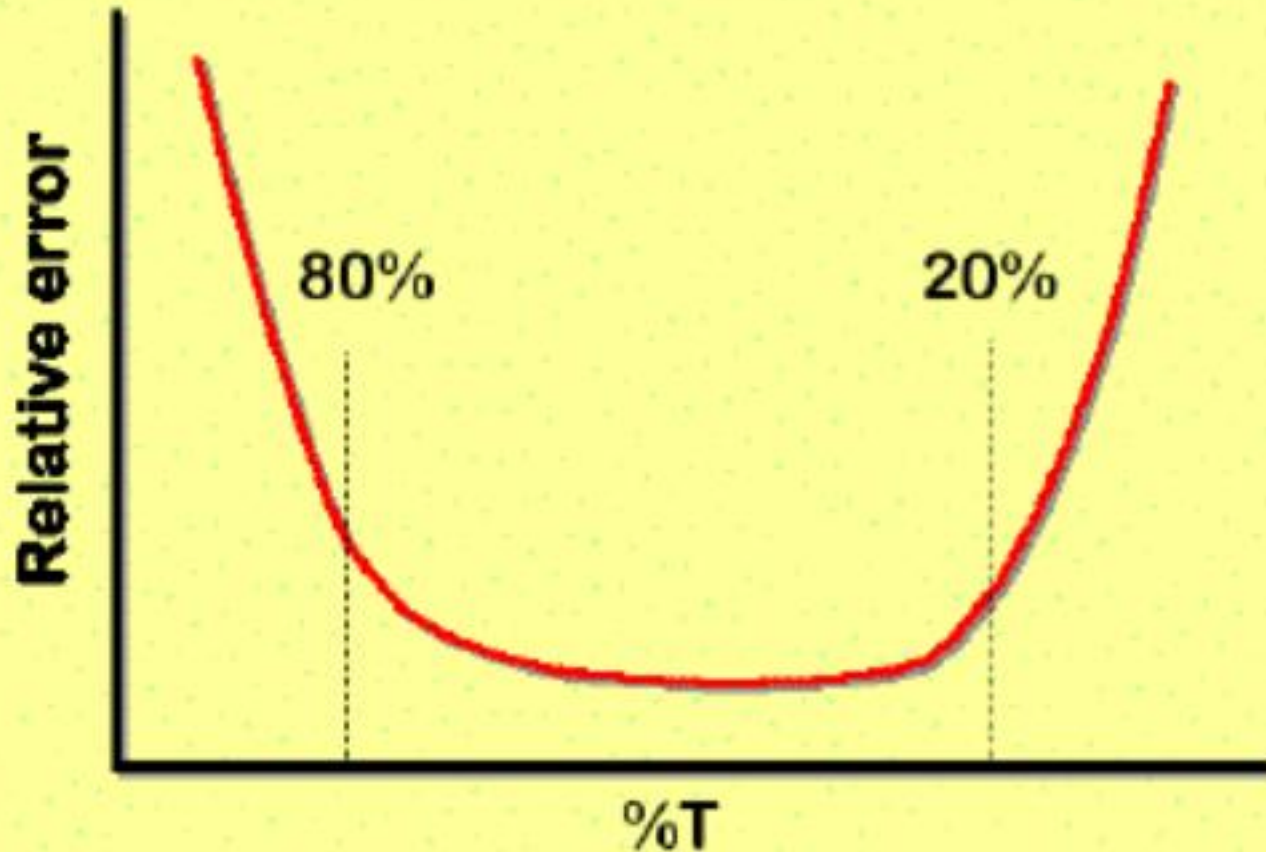
- saat konsentrasi rendah → perubahan kecil konsentrasi dapat menyebabkan perubahan transmitans yang cukup besar
- Saat konsentrasi besar → perubahan transmitans kecil

Pengukuran absorbans yang baik untuk meminimalkan kesalahan yaitu pada nilai **80-20% T**



Pengukuran Absorbans

Relative error vs. %T



Pengukuran Zat

Pengukuran zat dengan spektrofotometri selalu melibatkan analit, blanko, dan standar untuk tujuan kuantitatif

Analit → bahan yang dianalisis yang berarti mengandung komponen yang akan ditentukan konsentrasinya.

Blanko → larutan yang mendapat perlakuan sama dengan analit tetapi tidak mengandung komponen analit.

Blanko dibuat untuk mengetahui besarnya serapan yang disebabkan oleh zat yang bukan analit, baik hanya pelarut untuk melarutkan ataupun mengencerkan ataupun pelarut dan pereaksi tertentu yang ditambahkan.

Pengukuran Zat

- **Selisih** nilai serapan analit (A_a) dengan nilai serapan larutan blangko (A_b) menunjukkan serapan yang disebabkan oleh komponen analit → digunakan pada persamaan Lambert-Beer untuk menghitung konsentrasi komponen dalam analit.
- Bila $A_b = 0$, maka A_a menunjukkan nilai serapan komponen analit dan A_s menunjukkan nilai serapan komponen analit dalam larutan standar.
- Karena itu, dalam praktiknya, serapan blangko memang diatur bernilai nol, sehingga **blangko sering disebut sebagai larutan untuk menolak**

Standar → larutan yang mendapat perlakuan yang sama dengan analit dan mengandung komponen analit dengan konsentrasi tertentu yang diketahui dengan pasti.

- Pada spektrofotometri digunakan suatu seri larutan standar dengan konsentrasi yang berbeda-beda.
- Standar dibuat untuk mencari nilai absorptivitas (ϵ) komponen analit bila tebal larutan (b) diketahui dengan pasti.

Pengukuran Zat

Dalam prakteknya, standar dibuat untuk mencari nilai konstanta **k** yang merupakan perkalian ϵ dan b

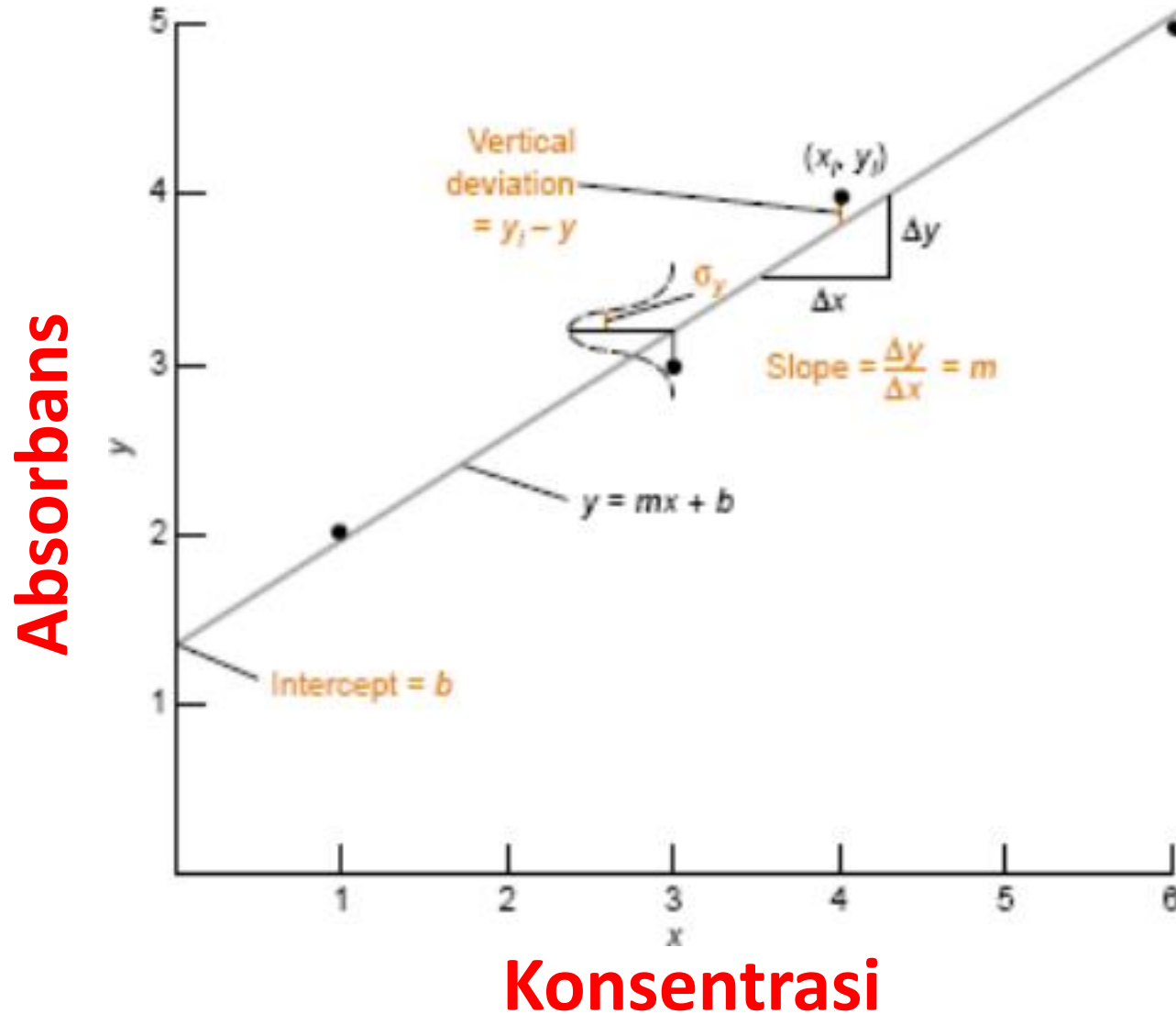
Nilai k tersebut bisa diperoleh dari kurva kalibrasi (standar)

Kurva kalibrasi $\longrightarrow$ merupakan pembuatan hubungan fungsional antara sinyal (**absorbans**) dengan **konsentrasi** standar (analit)

Sinyal $\longrightarrow$ respon sistem dan merupakan variabel dependen (**y**)

Konsentrasi $\longrightarrow$ analit yang diketahui konsentrasinya dan merupakan variabel independen (**x**)

Kurva Kalibrasi / Kurva Baku



Kurva Kalibrasi / Kurva Baku

Kalibrasi yang sederhana:

hubungan **linier** antara sinyal dan konsentrasi



persamaan garis lurus ($y = a + bx$)



Praktisnya:
Menggunakan
software matematik.

metode **kuadrat terkecil (*least square method*)**

(teknik yang paling umum digunakan untuk membuat garis/kurva dengan beberapa titik data)

Dipelajari pada
pertemuan berikutnya



teknik ini didasarkan pada minimisasi kuadrat deviasi dari tiap titik data dan garis

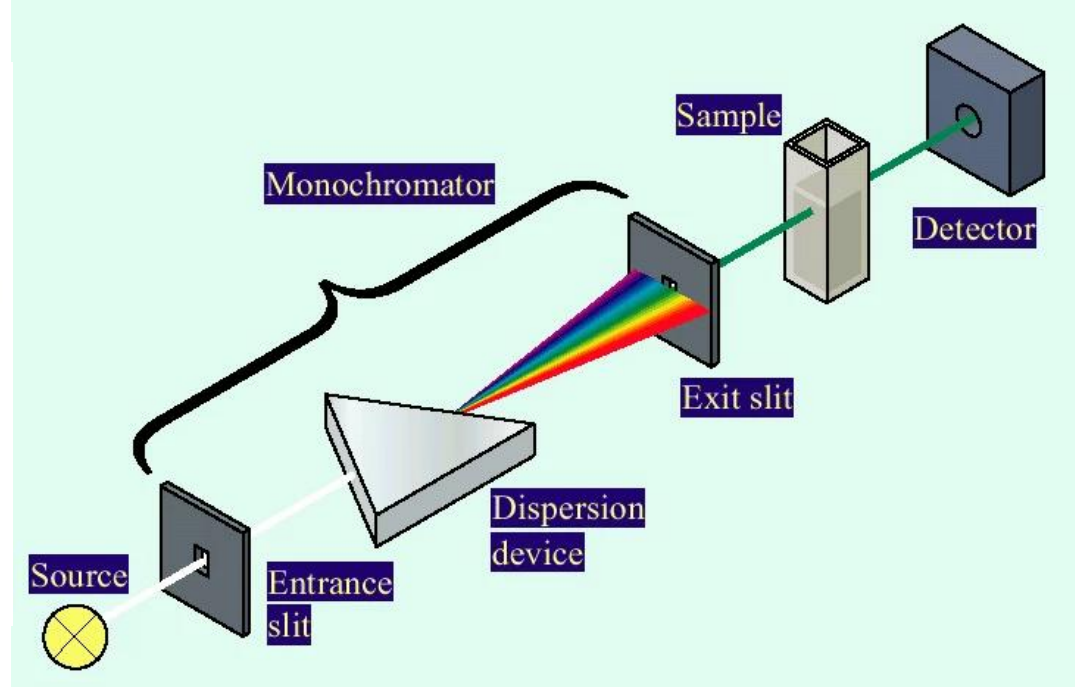
Kurva kalibrasi bisa pula digunakan langsung untuk menentukan konsentrasi zat tanpa perlu menghitung k lebih dulu.

Quizzzz

1. Apa yang dimaksud pengaruh substitusi dan konjugasi?
2. Apa yang dimaksud red shift dan blue shift?
3. Bagaimana efek pelarut terhadap panjang gelombang dan intensitas serapan?
4. Mengapa pengukuran perlu dilakukan pada λ_{maks} ? Apa akibatnya jika pengukuran dilakukan tidak pada λ_{maks} ?

Pahami penjelasan materi, dan persiapkan jawaban atas quiz tersebut.

Pada pertemuan berikutnya, akan ditunjuk secara random yang dipersilahkan menjawab pertanyaan.



the end

thank you

Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Atomic Absorption Spectroscopy
(AAS)

Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA) pertama kali diperkenalkan oleh **Walsh** pada tahun 1953, kemudian dikembangkan di Exhibition of Physical Institute Melbourne yang dipublikasikan pada tahun 1954.

Walsh menyatakan bahwa **"Unsur-unsur logam lebih mudah dan akurat ditentukan kadarnya dengan proses atomik bila dibandingkan dengan proses Emisi"**.

AAS digunakan untuk menganalisa ± 70 unsur logam yang berasal dari sampel biologi, klinik, makanan-minuman, sediaan farmasi, air, tanah, limbah tanaman, dll.

Spektrometri merupakan suatu metode analisis kuantitatif yang pengukurannya berdasarkan banyaknya radiasi yang dihasilkan atau yang diserap oleh spesi atom atau molekul analit.

Salah satu bagian dari spektrometri ialah Spektrometri Serapan Atom (SSA), merupakan metode analisis unsur secara kuantitatif yang pengukurannya berdasarkan penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu oleh atom logam dalam keadaan bebas

Pada dasarnya AAS mempunyai prinsip kerja yang hampir sama dengan Spektrofotometri UV-Vis.

AAS adalah *metode analisis untuk menentukan unsur-unsur logam secara kualitatif dan kuantitatif dalam jumlah sangat kecil (trace element [dalam ppm]) berdasarkan Serapan atau absorpsi radiasi oleh atom bebasnya.*

Interaksi yang terjadi pada AAS antara lain:

- ▶ Absorpsi (penyerapan)
- ▶ Refleksi (pemantulan)
- ▶ Refraksi (Bias)

Penetapan kadar ion logam dilakukan dengan mengukur intensitas serapan cahaya pada λ tertentu dengan mengalirkan larutan zat ke dalam nyala api.

Untuk mendapatkan atom-atom dalam bentuk uap, maka sejumlah kecil logam disemprotkan (berupa aerosol) ke dalam nyala api untuk mendapatkan atom dalam bentuk gas yang bebas.

Dengan menggunakan nyala api tersebut, maka bila dilewatkan atom/ unsur dalam bentuk gas yang berada pada energi dasar maka atom tersebut akan menyerap sejumlah energi pada panjang gelombang yang karakteristik dan atom akan tereksitasi ke energi yang lebih tinggi.

Jumlah atom yang diserap akan sebanding dengan konsentrasi atom yang dilewatkan pada nyala api.

Apabila cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada suatu sel yang mengandung atom-atom bebas yang bersangkutan maka sebagian cahaya tersebut akan diserap dan intensitas penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom bebas logam yang berada dalam sel.

Hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi diturunkan dari:

1. Hukum Lambert.
2. Hukum Beer.

Dari kedua hukum tersebut diperoleh suatu persamaan:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-(\epsilon bc)}, \text{ atau}$$

$$A = -\text{Log } I_t/I_0 = \epsilon bc$$

Dimana :

I_0 = Intensitas sumber sinar

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

ϵ = Absorptivitas molar

b = Panjang medium

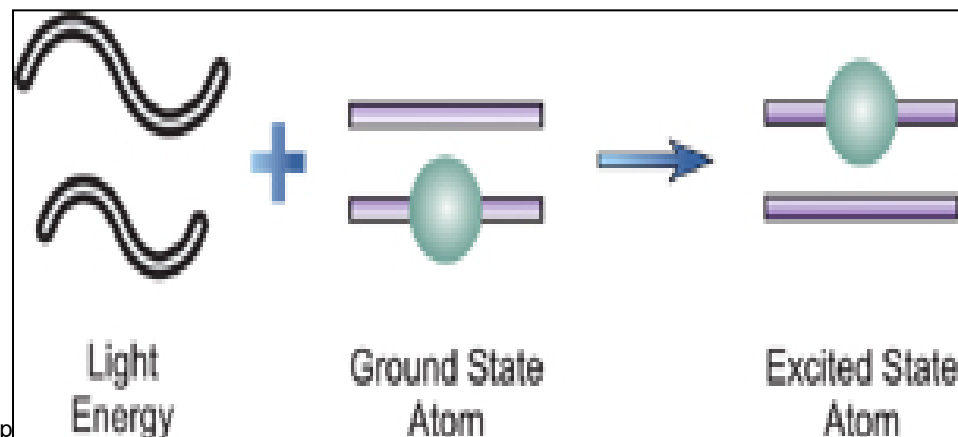
c = Konsentrasi atom-atom yang menyerap sinar

A = Absorbans.

Dari persamaan di atas, dapat disimpulkan bahwa **absorbansi cahaya berbanding lurus dengan konsentrasi atom**

Atomic Absorption Spectroscopy

- ▶ Apabila atom dari keadaan *ground state* mengalami eksitasi ke keadaan bebas maka cahaya dari panjang gelombang yang sesuai dengan atom dalam keadaan bebas tersebut akan bertemu, sehingga atom bebas dapat menyerap cahaya yang memasuki keadaan eksitasi dalam **proses yang dikenal sebagai serapan atom**.
- ▶ Proses penyerapan ini diilustrasikan sebagai berikut:



Atomic Absorption Spectroscopy

- ▶ Pengukuran jumlah Atom yang diserap oleh cahaya sesuai panjang gelombang resonansi dari atom (spesifik), bila jumlah atom besar maka cahaya yang diserap pun akan besar.
- ▶ Dengan mengukur jumlah cahaya yang diserap, maka penentuan secara kuantitatif dari jumlah unsur dalam analit dapat dilakukan.

Keuntungan/Kelebihan AAS:

1. Dapat menentukan kadar logam dari suatu campuran yang sangat kompleks dengan **cepat dan ketepatan yang tinggi**
2. Dapat menentukan kadar logam yang **konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu**
3. Dapat mengukur kandungan logam dengan satuan *part per million / ppm*

Kelemahan AAS:

1. Kurang sensitif untuk penentuan sampel bukan logam
2. Sumber cahaya kontinu tidak dapat digunakan → garis-garis absorpsi lebih sempit dari pita pada spektroskopi biasa. Untuk menyiasatinya digunakan lampu *Hollow Cathode*
3. Kemampuan terbatas pada penentuan tingkat oksidasi dan lingkungan kimiawi sampel yang dianalisis

Preparasi Sampel

Pada preparasi sampel yang akan dianalisa menggunakan AAS, terdapat 2 cara tergantung dari bentuk sampel yaitu:

1. **Destruksi Basah**, adalah metode perombakan sampel dengan menggunakan **Asam kuat** baik tunggal maupun campuran, kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Destruksi dilakukan dengan pemanasan pada suhu tidak lebih dari 300°C . Setelah itu sampel dilarutkan dalam **pelarut asam encer** baik tunggal maupun campuran.

Preparasi Sampel

2. **Destruksi Kering**, adalah perombakan organik logam dalam sampel menjadi logam-logam **anorganik** (dalam **bentuk oksida**) dengan jalan **pengabuan sampel** dalam tanur (*Furnace*) dengan pemanasan yang tertentu.

Pada umumnya destruksi kering dilakukan pada suhu **400°C- 800°C**, tergantung jenis sampel yang dianalisis. **Oksida yang terbentuk kemudian dilarutkan dalam pelarut asam encer** baik tunggal maupun campuran.

Tahapan penentuan Kuantitatif logam:

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi dengan berbagai konsentrasi kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang tertentu (sesuai dengan logam yang dianalisis).
2. Mencari kondisi Optimum
 - Kecepatan gas Pembakar
 - Tekanan gas
 - Tinggi burner (nyala api)

AAS mempunyai 2 macam **sistem optik**, yaitu:

- ▶ berkas tunggal
- ▶ berkas ganda

Sistem optik **“berkas ganda”** pada AAS tidak sama dengan Spektrofotometri UV-Vis.

Berkas sinar yang keluar dari cahaya/nyala yang mengandung unsur yang diukur.

Berkas pertama prinsipnya identik dengan Spektrofotometer UV-Vis, sinar yang lewat dibaca sebagai absorban, **sedangkan sinar kedua hanya mengoreksi variasi sumber radiasi saja dan tidak mengoreksi kesalahan-kesalahan yang berasal dari nyala.**



Atomic absorption spectrometer

Varian Spectr AA880, Double beam spectrometer

Spectral response 190-900 nm

Fast response deuterium background corrector

Rotating 8 - lamp turret

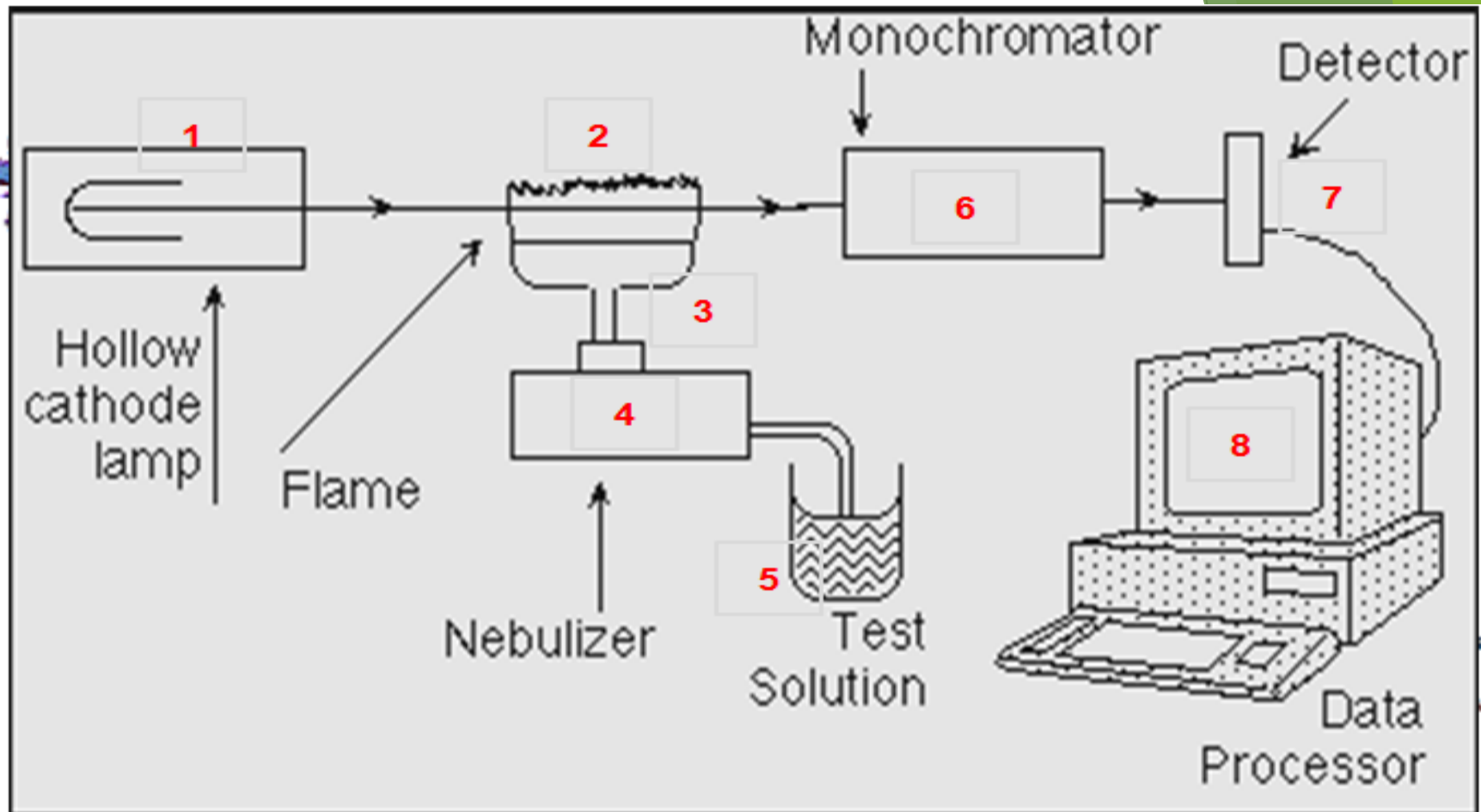
2 burners both for air-acetylene and nitrous oxide-acetylene flame



Atomic absorption spectrometer

Varian Spectr AA300 Zeeman

Single beam spectrometer, spectral response 190-900 nm
Zeeman - effect background corrector
Electrothermal atomization in graphite furnace



1. Sumber Cahaya

2. Flame/Nyala Api yang berasal dari "Burner"

3. Burner/Alat pembakar

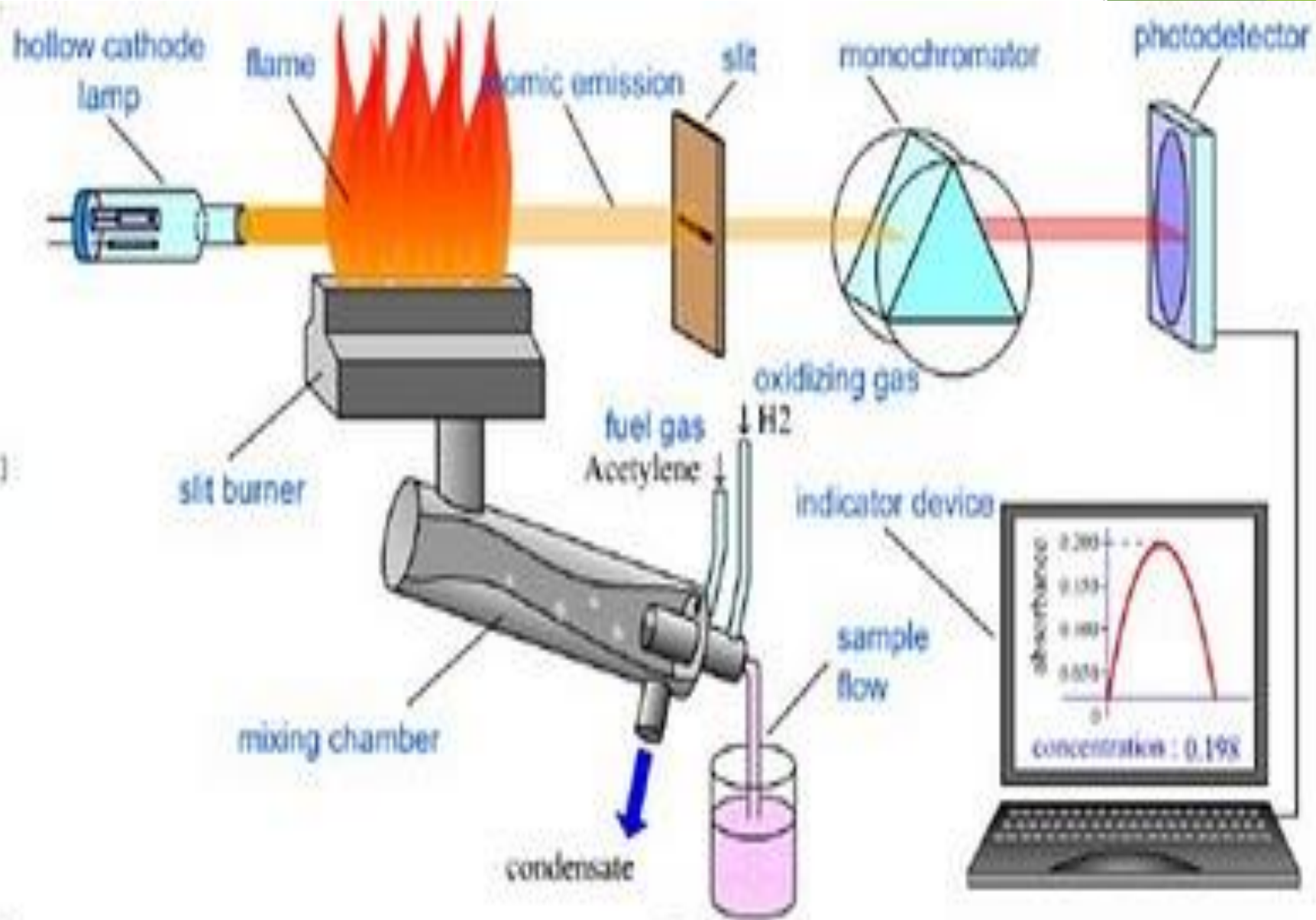
4. Nebulizer

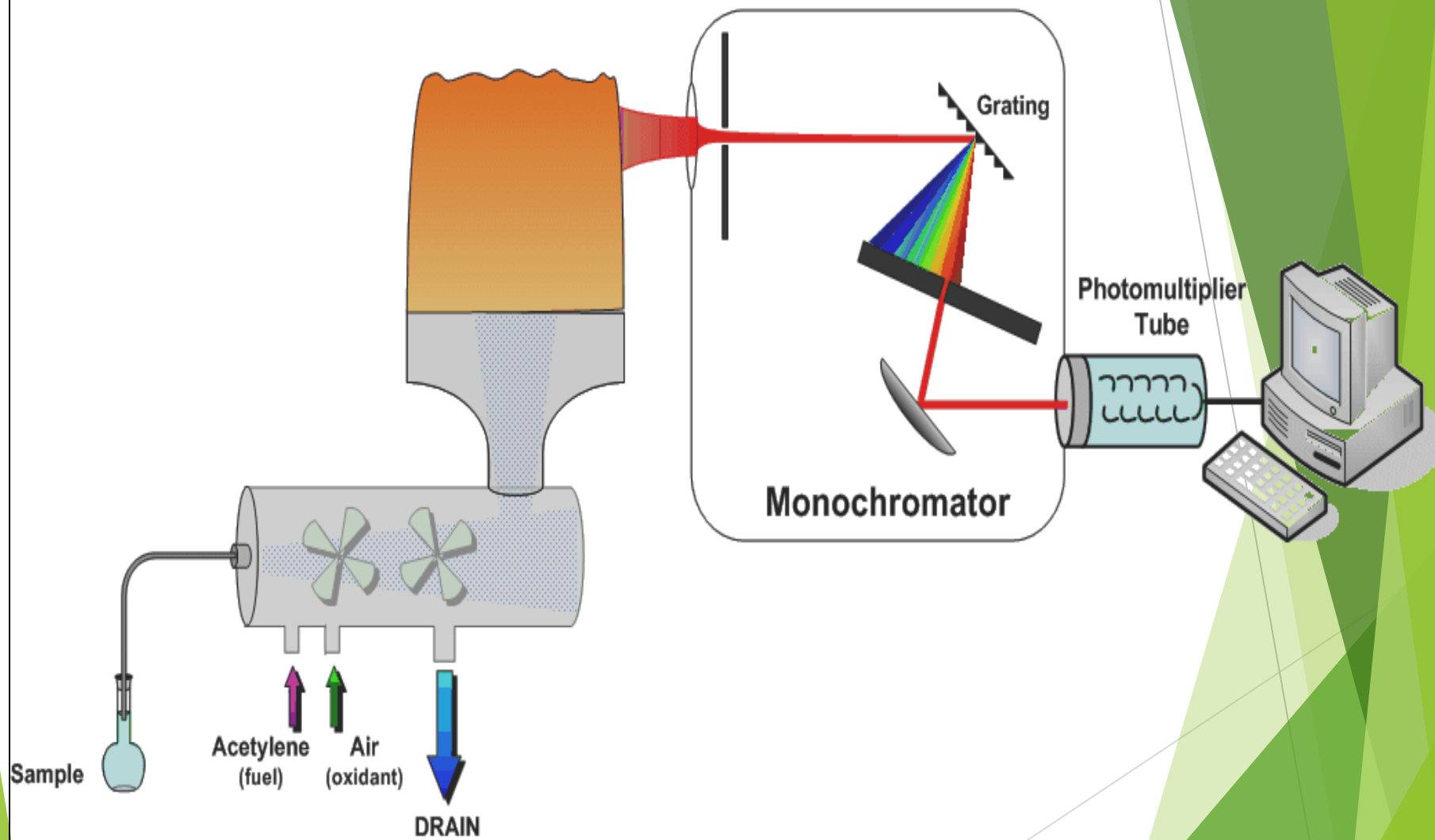
5. Larutan Sampel

6. Monokromator

7. Detektor

8. Rekorder





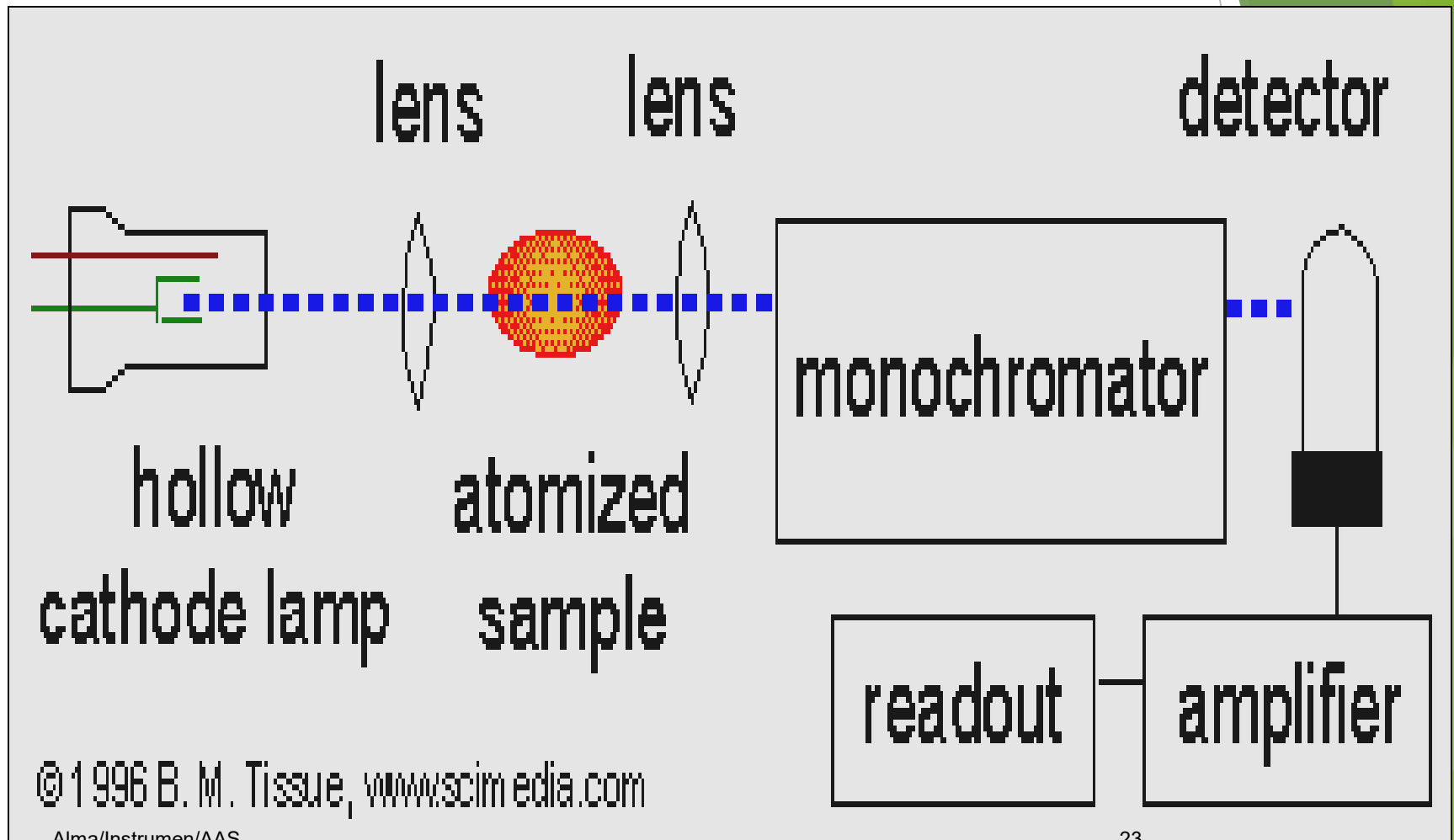
Sumber Cahaya

Sumber cahaya semula yang digunakan adalah lampu Wolfram, akan tetapi intensitas yang diteruskan sangat kecil.

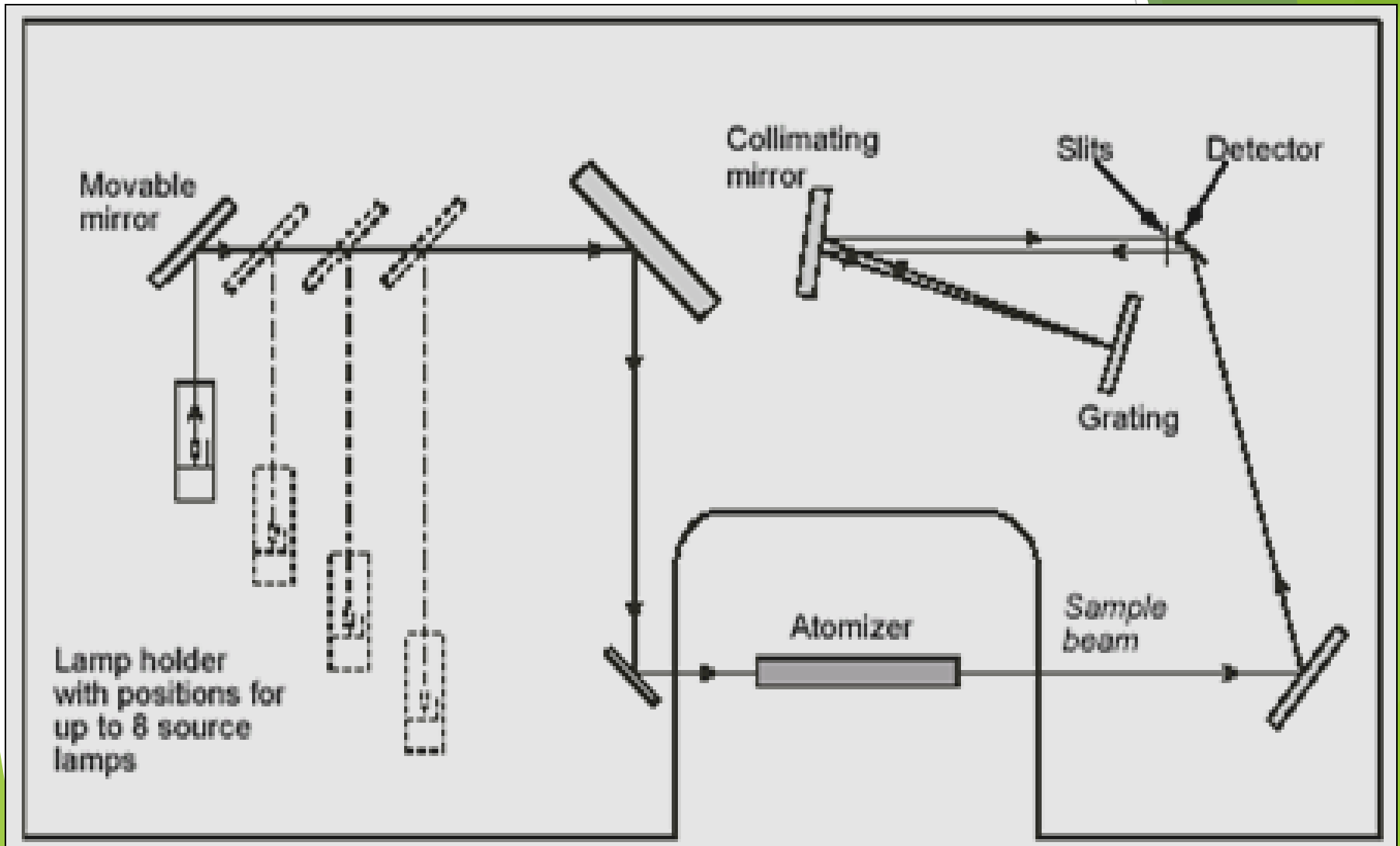
Saat ini digunakan sumber cahaya dengan intensitas radiasi yang besar yaitu:

- ▶ Lampu HCL (*Hallow Cathode Lamp/Lampu Katode Berongga*)
- ▶ Lampu EDL (*Electrode Discharged Lamp/Lampu Tanpa Elektrode*)

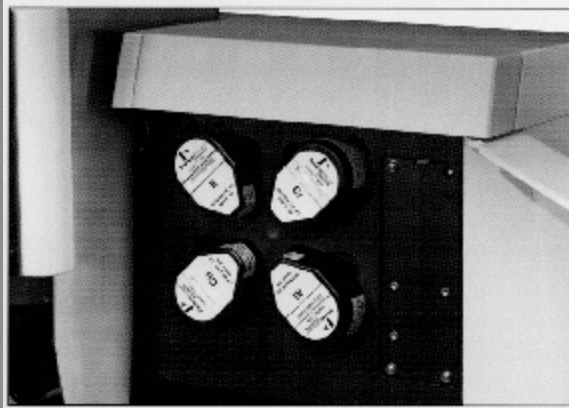
Schematic of an atomic-absorption experiment



Skema Sistem optik pada AAS

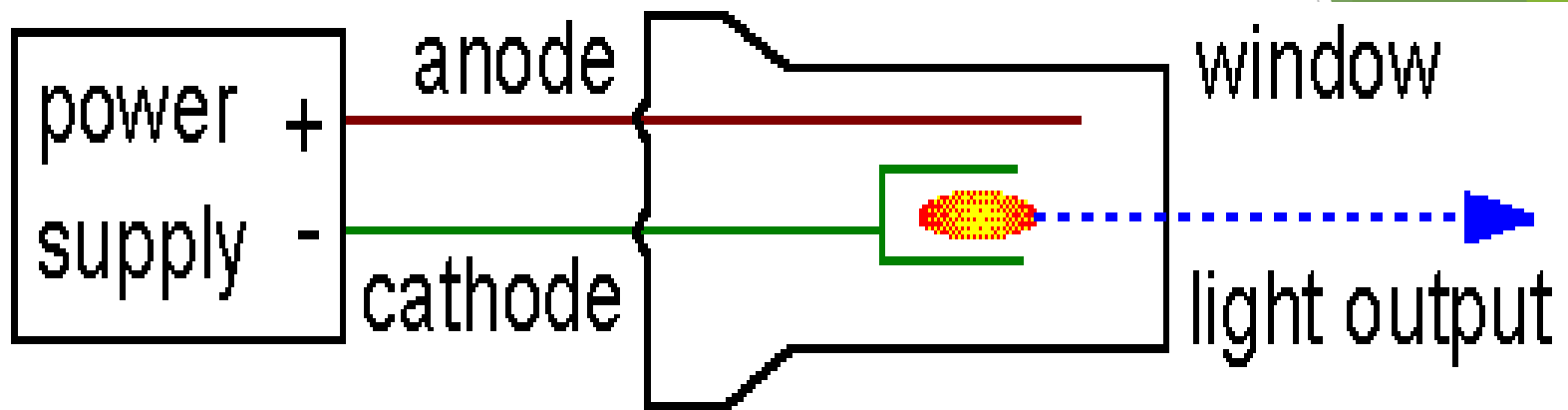


HCL *Hallow Cathode Lamp* EDL *Electrode Discharged Lamp*

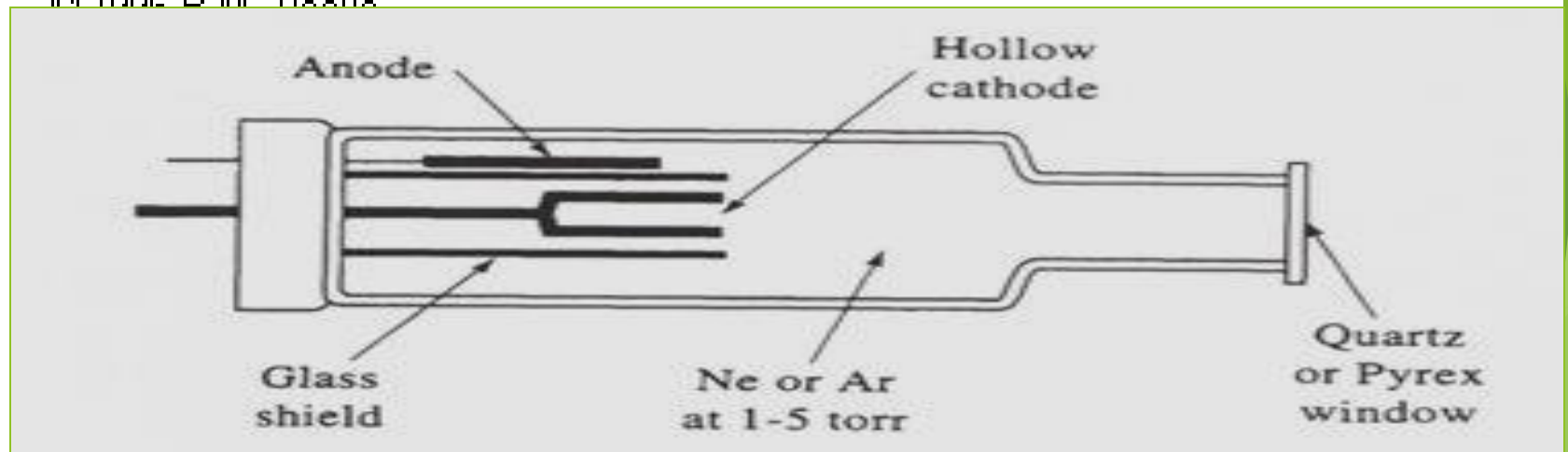


Hollow-cathode Lamps

Schematic of a hollow-cathode lamp



© 1996 P. M. Tietze

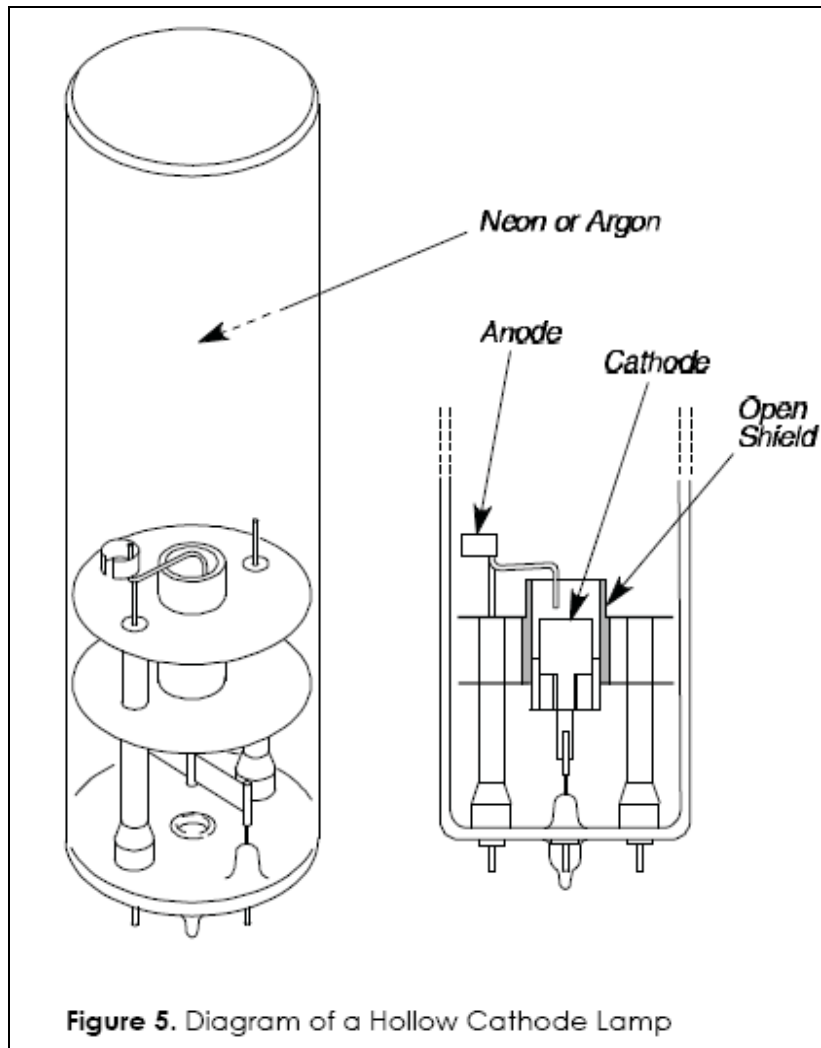


absorption (AA) spectroscopy.

They are also sometimes used as an excitation source for atomic-fluorescence spectroscopy (AFS).

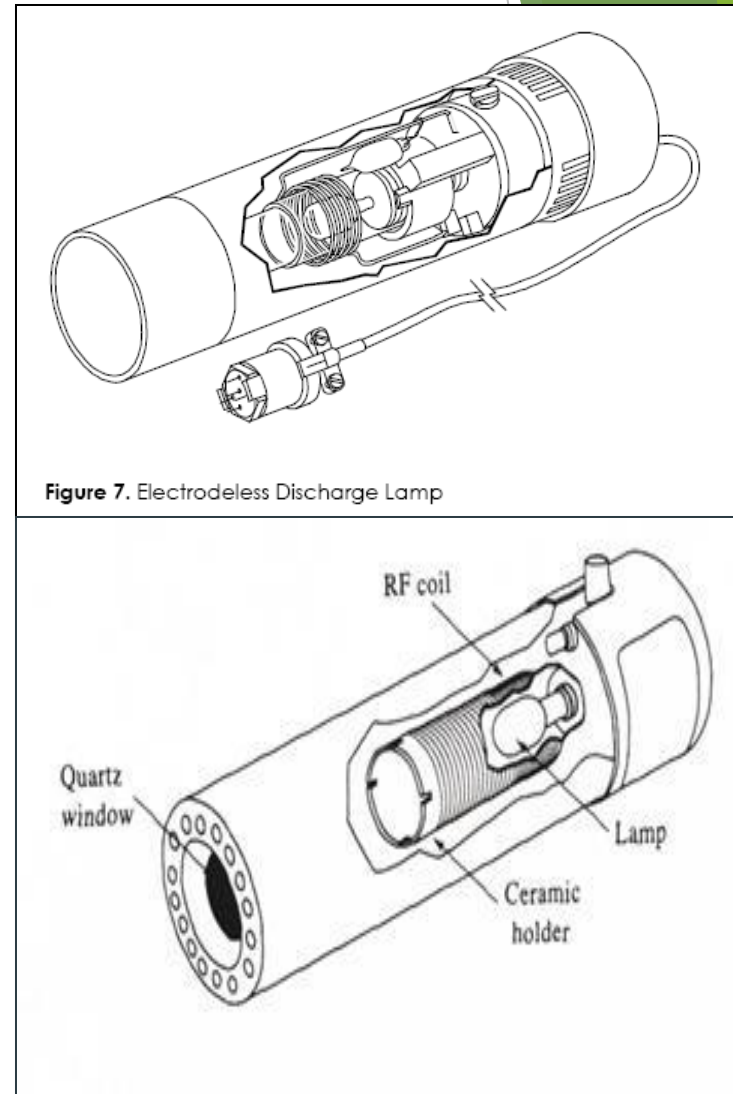
Alma/Instrument/AAS

Lampu HCL (*Hallow Cathode Lamp*)



Alma/Instrumen/AAS

Lampu EDL (*Electrode Discharged Lamp*)



Flame (nyala Api)



Flame (nyala Api)

Catatan:

- Profil nyala api tiap unsur berbeda-beda
- Umumnya tinggi nyala api gas pembakar dibuat ± 5 cm
- Semakin Tinggi Konsentrasi larutan sampel maka semakin banyak energi cahaya yang terserap

Gas Pembakar

Pada SSA dipakai 2 macam **gas pembakar**, yaitu:

1. Yang bersifat oksidasi, seperti
 - udara,
 - udara dan O_2
 - campuran O_2 dan N_2O
2. Bahan Bakar berupa: gas alam, propana, butana, asetilen dan H_2

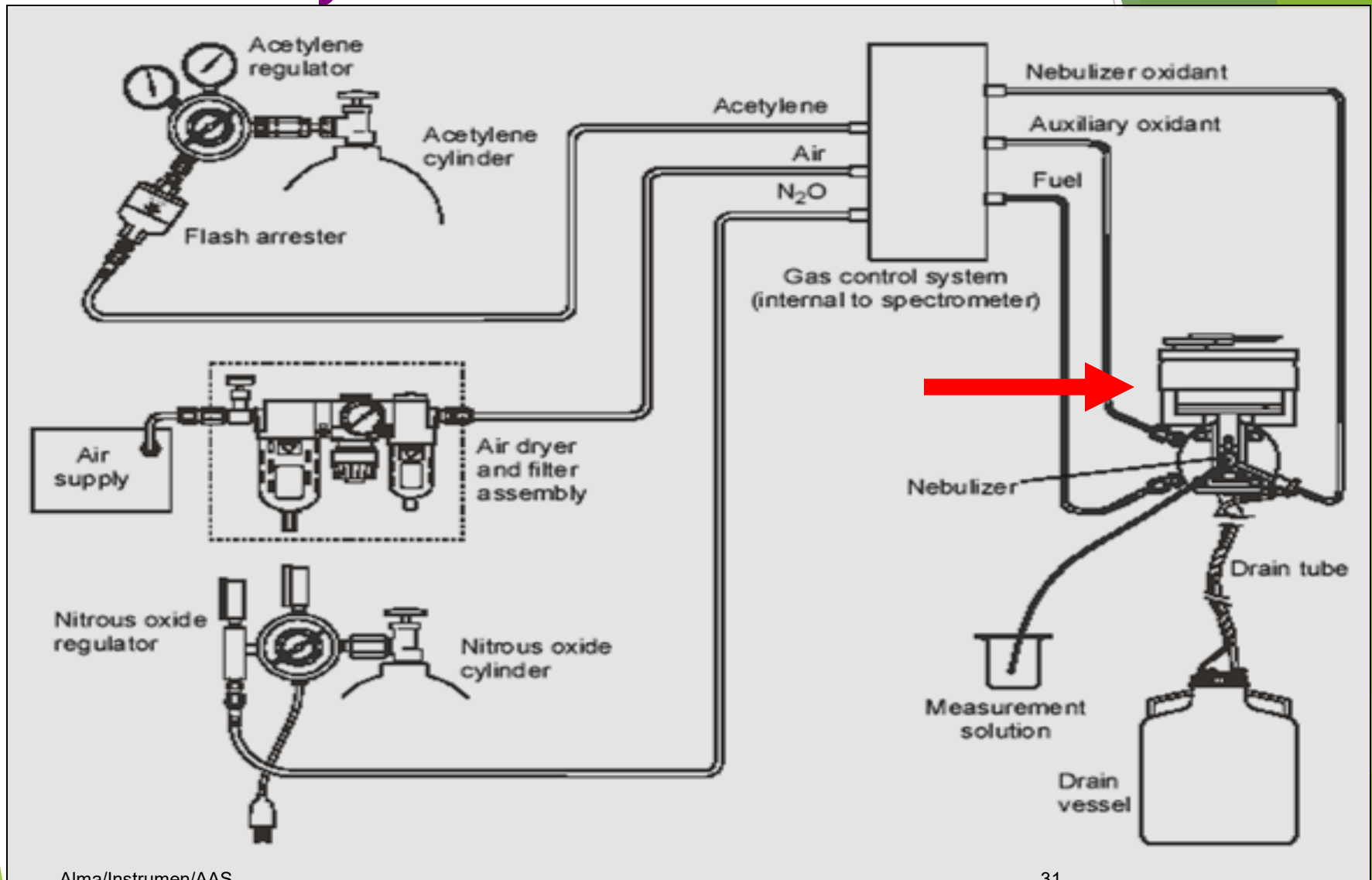
Nyala api

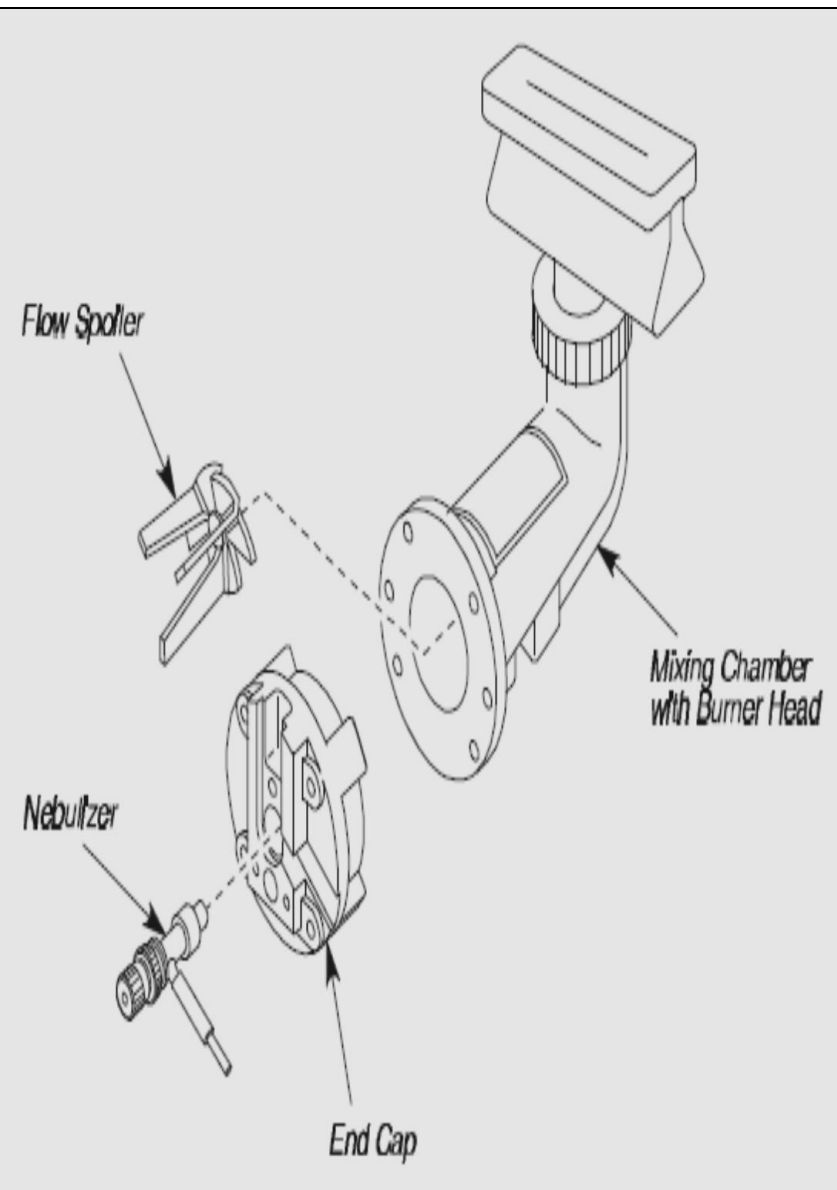
Nyala api dapat diperoleh dari campuran gas pembakar pada temperatur $\pm 2300^{\circ}\text{C}$.

Macam-macam campuran gas pembakar untuk nyala api pada AAS:

1. Asetilen-Udara (terbanyak dipakai)
2. Asetilen- O_2
3. Asetilen-Dinitrogen Oksida
4. Hidrogen-Udara

Burner System

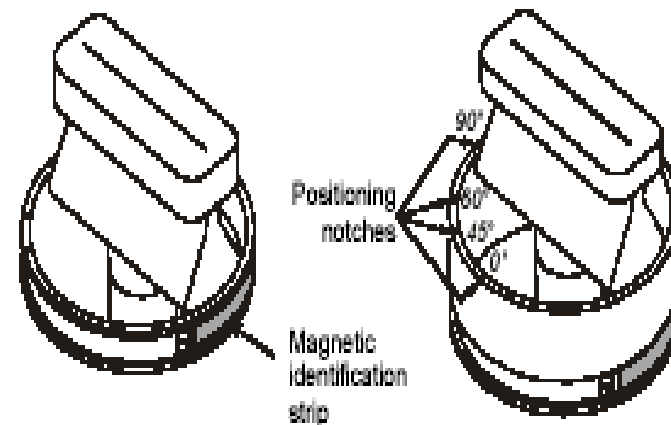




Alma/Instrumen/AAS

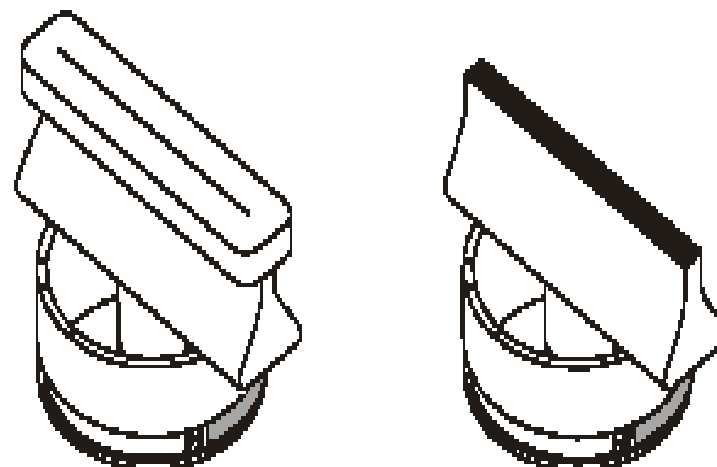
N040-0100, 5 cm,
nitrous oxide operation

N040-0101, 5 cm,
air-acetylene operation



N040-0102, 10 cm,
air-acetylene operation

N040-0103, 10 cm, 3-slot,
air-acetylene operation



Dalam metode SSA, sebagaimana dalam metode spektrometri atomik yang lain, **sampel harus diubah ke dalam bentuk uap atom**.

Proses pengubahan ini dikenal dengan istilah **atomisasi**, pada proses ini contoh diuapkan dan didekomposisi untuk membentuk atom dalam bentuk uap.

Secara umum pembentukan atom bebas dalam keadaan gas melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

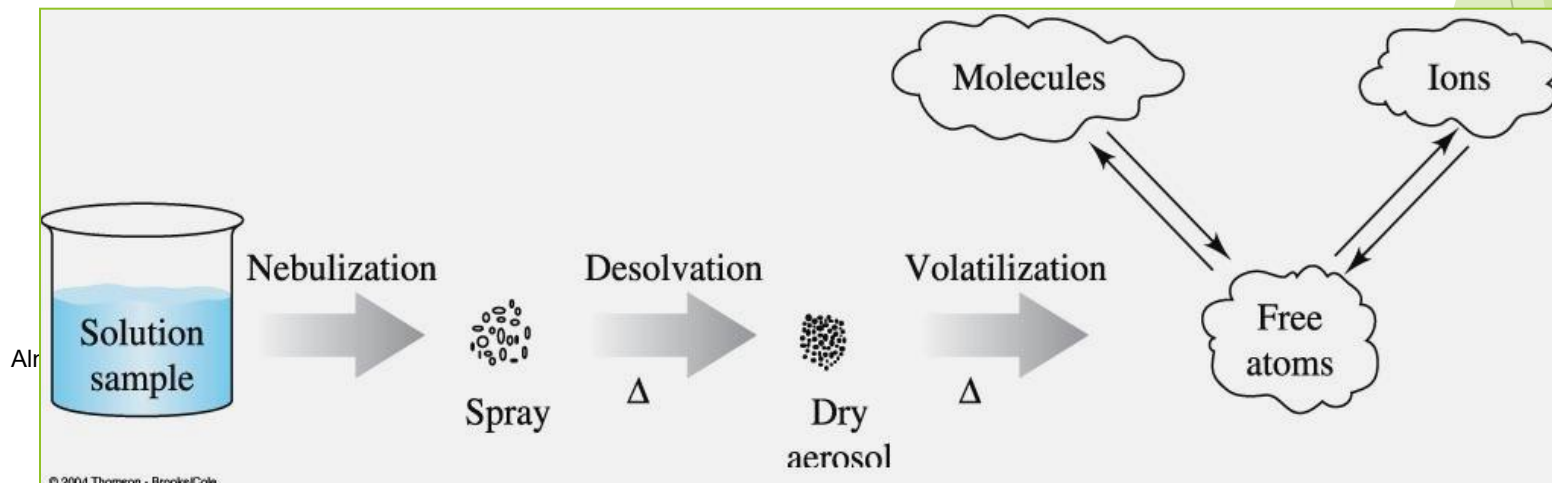
- a. Pengisapan pelarut, pada tahap ini pelarut akan teruapkan dan meninggalkan residu padat.
- b. Penguapan zat padat, zat padat ini terdisosiasi menjadi atom-atom penyusunnya yang mula mula akan berada dalam keadaan dasar.
- c. Beberapa atom akan mengalami eksitasi ke tingkatan energi yang lebih tinggi dan akan mencapai kondisi dimana atom-atom tersebut mampu memancarkan energi.

- Tahap pembentukan atom dari larutan zat:
 1. Pengkabutan
 2. Penguapan pelarut
 3. Penguraian zat menjadi atom
- Contoh proses pembentukan atom Pb dari PbNO_3 adalah sbb:

$$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \text{ ----- } \text{Pb}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}$$

$$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \text{ ----- } \text{PbO} + \text{NO}$$

$$\text{PbO} \text{ ----- } \text{Pb} + \text{O} \text{ (atom-atom netral)}$$

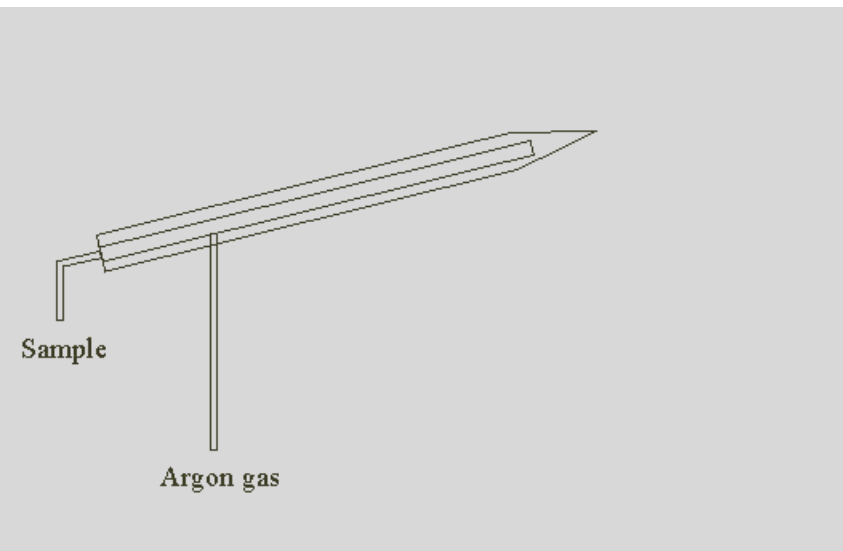
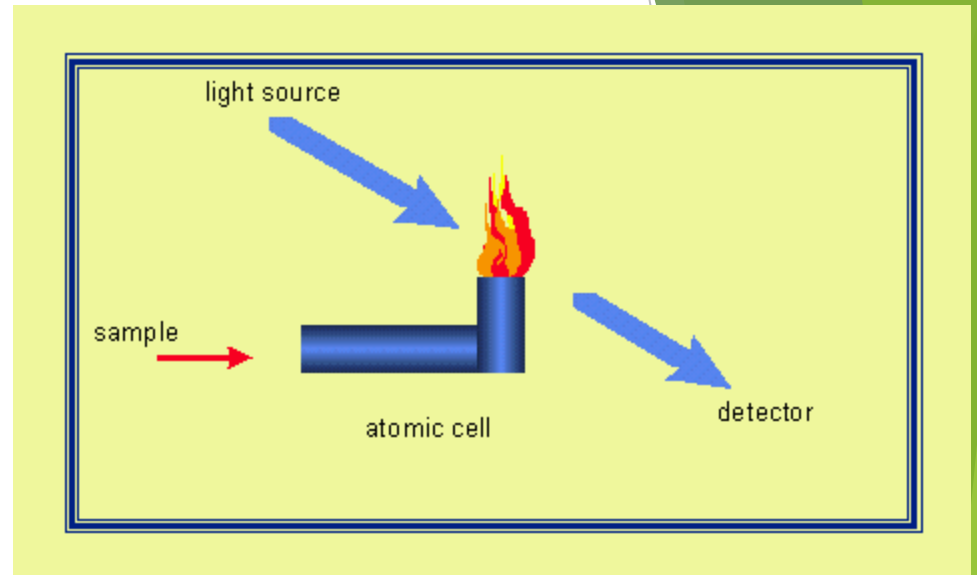


Nebulizer

Nebulizer adalah suatu alat untuk mengubah larutan menjadi Aerosol yaitu **butiran-butiran cairan yang sangat halus yang terdispersi di udara.**

Larutan yang tersedot melalui pipa kapiler yang akan menumbuk *glass bead* dengan kecepatan tinggi maka cairan pecah menjadi butiran yang sangat halus yang tercampur dengan udara membentuk aerosol.

Alat ini bekerja dengan menyembrotkan gas dan sampel ke arah *Burner*.

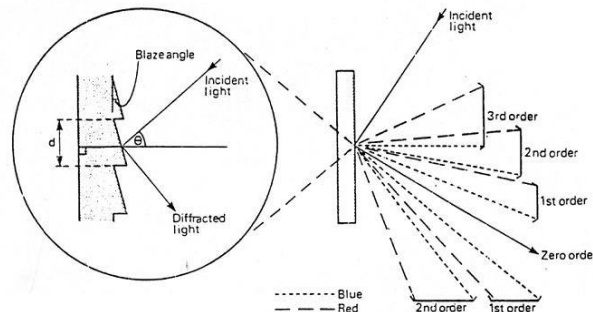
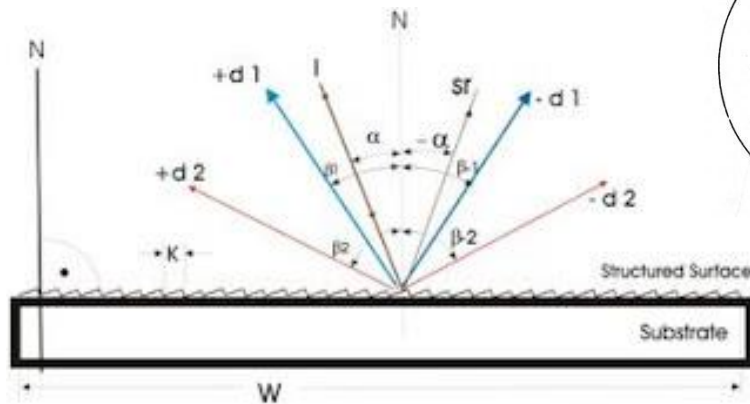


Alma/Instrumen/AAS

Monokromator

Monokromator yang dipakai harus mampu memberikan resolusi yang terbaik. Monokromator berfungsi **memisahkan resonansi** yang telah mengalami absorpsi.

Grating (kisi difraksi)



Monokromator

Monokromator dalam alat SSA akan **memisahkan, mengisolasi dan mengontrol intensitas energi** yang diteruskan ke detektor.

Ada dua macam monokromator yang digunakan pada AAS yaitu **monokromator Celah** dan **Kisi difraksi**.

Monokromator berada diantara nyala dan detektor. Monokromator yang biasa digunakan ialah **monokromator difraksi *grating***.

Berkas cahaya dari lampu katoda berongga akan dilewatkan melalui celah sempit dan difokuskan menggunakan cermin menuju monokromator

- ▶ Kesulitan : monokromator tidak dapat menghalangi radiasi nyala menuju detector.
- ▶ Radiasi nyala dan radiasi yang diteruskan akan bergabung menuju detector.
- ▶ **$P_t = P_o - P_a$ berlaku hukum Lambert - Beer**
 $P_t = P_o - P_a + P_e$ tdk berlaku hukum Lambert - Beer

Detektor

Detektor pada AAS berfungsi mengubah intensitas radiasi yang datang menjadi arus listrik. Pada AAS umumnya dipergunakan adalah tabung Penggandaan Foton (**PMT= Photo Multiplier Tube Detector**)

Recorder

Recorder adalah alat yang berfungsi untuk menampilkan data hasil analisa

Photo Multiplier Tube



The Photomultiplier Tube Movie

Analisa Kuantitatif

► Transmittance

$$T = \frac{P}{P_0}$$

► Persen Transmittance

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100\%$$

► Absorbance

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P}{P_0}$$



Teknik Analisa Kuantitatif dengan AAS

- Menguji beberapa larutan *standard* yang mengandung unsur yang ingin diuji dengan variasi konsentrasi yang telah diketahui ke dalam alat AAS untuk mendapatkan nilai absorbansinya.
- Memplotkan variasi C (konsentrasi unsur yang ingin diuji pada beberapa larutan *standar*) dengan nilai absorbansinya. $y = bx + a$
dimana **absorbansi (A) : sumbu y** dan
konsentrasi (C) : sumbu x.

Teknik Analisa Kuantitatif dengan AAS

- Menguji larutan sampel ke dalam alat AAS untuk mendapatkan nilai absorbansinya.
- Setelah itu masukan nilai A sebagai y ke dalam persamaan garis linear yang telah didapat pada langkah sebelumnya.

Dari persamaan itu kita akan mendapatkan nilai x yaitu nilai konsentrasi unsur yang ingin diuji dalam sampel.

Describe the principles of AA.

- ▶ When metals are exposed to heat, they absorb light.
- ▶ Each metal absorbs light at a characteristic frequency. For example:

Metal	Zn	Fe	Cu	Ca	Na
λ (nm)	214	248	325	423	589

- ▶ The metal vapor absorbs energy from an external light source, and electrons jump from the ground to the excited states
- ▶ The ratio of the transmitted to incident light energy is directly proportional to the concentration of metal atoms present
- ▶ A calibration curve can thus be constructed [Concentration (ppm) vs. Absorbance]

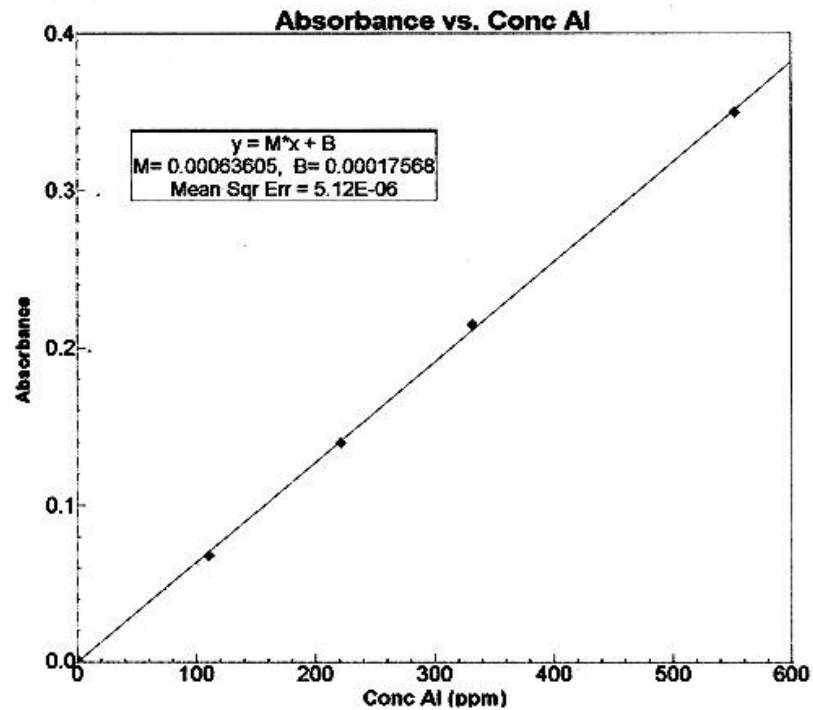
Determine the concentration of a solution from a calibration curve.

- ▶ AA can be used to identify the presence of an element (*qualitative analysis*), or the concentration of a metal (*quantitative analysis*)
- ▶ Quantitative analysis can be achieved by measuring the absorbance of a series of solutions of known concentration.
- ▶ A calibration curve and the equation for the line can be used to determine an unknown concentration based on its absorbance.

Determine the concentration of a solution from a calibration curve.

Data Set 1: Data		
Row Num	Conc Al (ppm)	Absorbance ()
1	0.00	0.001
2	110.50	0.068
3	221.00	0.140
4	331.50	0.215
5	552.50	0.350
Number	5	5
Mean	243.10	0.155
Min	0.00	0.001
Max	552.50	0.350
Std Dev	212.55	0.135

Calibration Curve for the Determination of Aluminum by Atomic Absorption Spectroscopy



Gangguan Pada analisa SAA

- Penyebab: faktor matriks sample dan faktor kimia

Faktor matriks sample dapat berupa:

- **pengendapan unsur** yang dianalisa,
Penyebab : hidrolisis ion-ion logam dalam air dan reaksi dg anion lain.
Pencegahan: mengasamkan larutan (mencegah hidrolisa),
- Jumlah cuplikan dan standar yang mencapai nyala tidak sama
Penyebab : perbedaan sifat-sifat **fisik larutan cuplikan dan standar**

Faktor kimia:

a. Disosiasi tak sempurna dari senyawa-senyawa

Pembentukan senyawa refraktori, spt : kalsium fosfat, syw-syw fosfat, silikat, aluminat, dan oksida-oksida dari logam alkali tanah dan Mg.

Penanggulangan:

- Penggunaan nyala yang **lebih tinggi suhunya**
- Penambahan **unsur pembebas** (releasing agent), Contoh: Sr dan La, akan mengikat fosfat
- **Ekstraksi unsur** pengganggu atau unsur yang akan dianalisa

b. Ionisasi atom-atom di dalam nyala

Penanggulangan : menambahkan zat-zat yang memiliki potensial ionisasi lebih rendah dari zat yang dianalisa dalam jumlah yang cukup besar, baik dalam cuplikan maupun larutan standar

c. Penyerapan non atomic

Penyebab : konsentrasi cuplikan tinggi, Suhu nyala kurang tinggi, Panjang gelombang molekul berimpit dengan puncak atau garis serapan atom Unsur yang dianalisa

Penanggulangan:

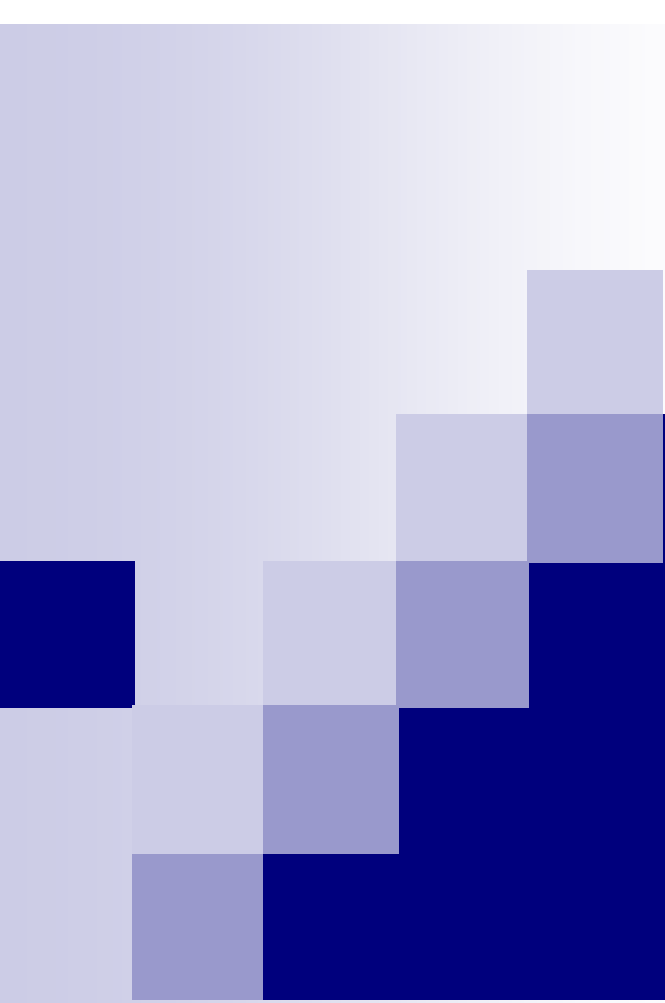
1. Bekerja pada panjang gelombang yang lebih tinggi
2. Dengan menggunakan nyala yang suhunya lebih tinggi
3. Mengukur besarnya penyerapan non atomic

Koreksi terhadap **adanya penyerapan non atomic dapat dilakukan dengan cara:**

1. Absorban cuplikan diukur seperti biasa dengan menggunakan **lampu hollow katoda**
2. Dilakukan lagi pengukuran absorban pada pgg gelombang yang sama tetapi menggunakan sinar lampu hydrogen, sehingga yang diukur adalah absorban non atomic
3. Absorban atomic = selisih hasil pengukuran 1 dan 2.

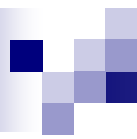
1. Beberapa hal yang perlu diperhatikan. Larutan sampel diusahakan seencer mungkin (konsentrasi ppm atau ppb). **Kadar unsur yang dianalisis tidak lebih dari 5%** dalam pelarut yang sesuai.
2. **Hindari pemakaian pelarut aromatik atau halogenida.** Pelarut organik yang umum digunakan adalah **keton, ester dan etil asetat.**
3. Pelarut yang digunakan adalah pelarut untuk **analisis (p.a)**

Terima kasih



Spektrofotometri Fluoresensi Sinar Visibel

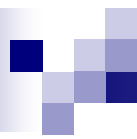
Kimia Analisis



TEORI

■ Dasar analisis :

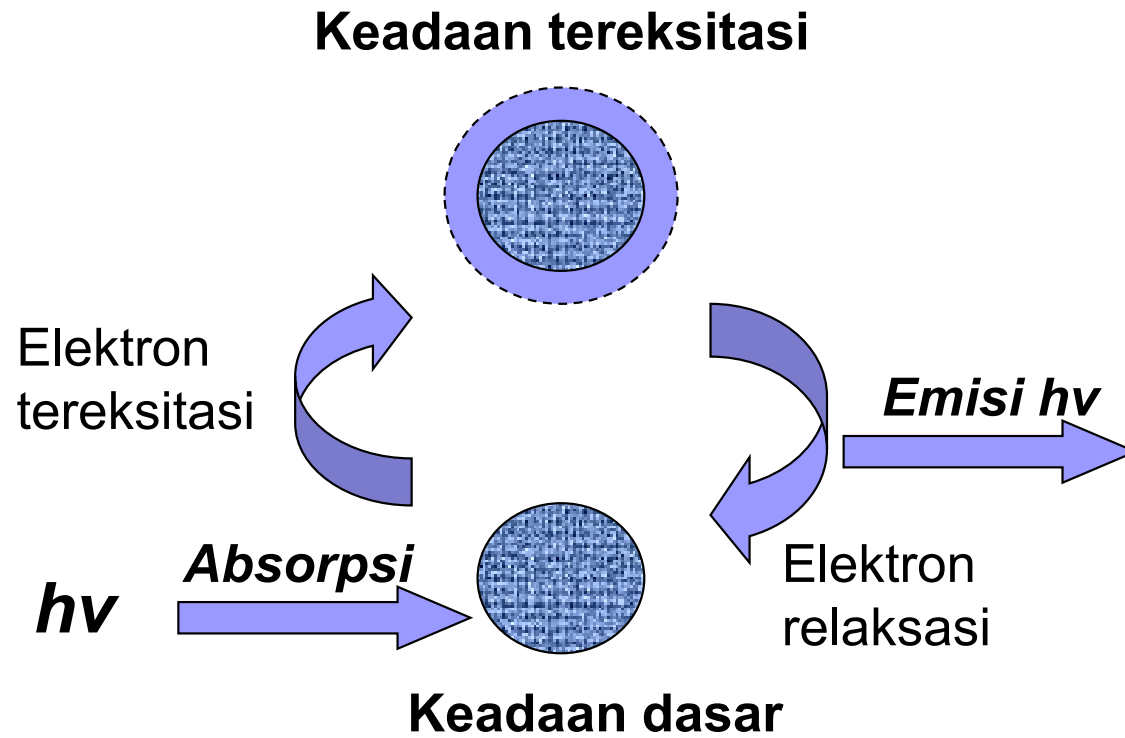
- Pemancaran/emisi sinar visibel oleh molekul yang mempunyai gugus kromofor setelah menyerap/absorpsi sinar visibel
- Interaksi REM(radiasi elektromagnetik)-materi :
 - Absorpsi, diikuti emisi
- Pemancaran :
 - Fluoresensi
 - Fosforesensi



Definisi

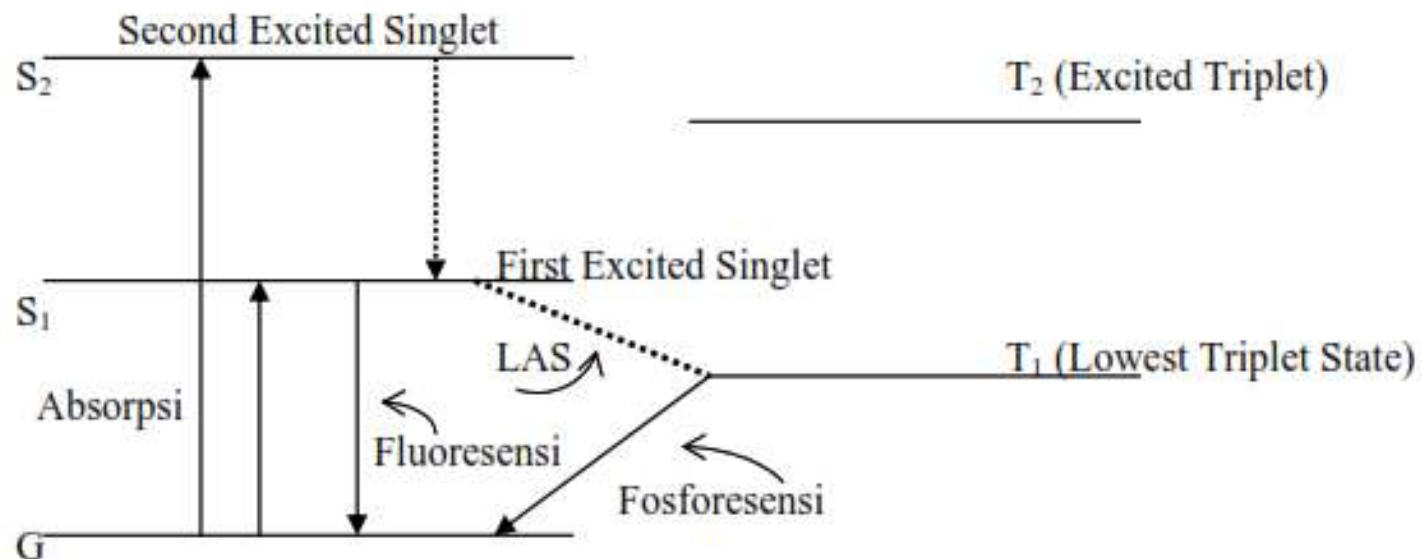
Spektrofotometri fluoresensi merupakan suatu prosedur yang menggunakan pengukuran **intensitas cahaya fluoresensi** yang dipancarkan oleh **zat uji** dibandingkan dengan yang dipancarkan oleh **suatu baku tertentu**.

Energi yang diserap oleh molekul untuk transisi elektronik ke **level energi yang lebih tinggi** (first excited singlet) harus dilepaskan kembali pada waktu kembali ke **level energi terendah** (ground singlet). Energi yang dilepaskan ini dapat berupa panas dan untuk beberapa molekul tertentu sebagian dari energi yang diserap **dipancarkan kembali berupa cahaya (fluoresensi)**.



Apabila terjadi transisi dari "first excited singlet" ke "**lowest triplet state**" (**intersystem crossing**), maka elektronik state disebut **fosforesensi**.

Diagram transisi energi dari eksitasi, fluoresensi dan fosforesensi



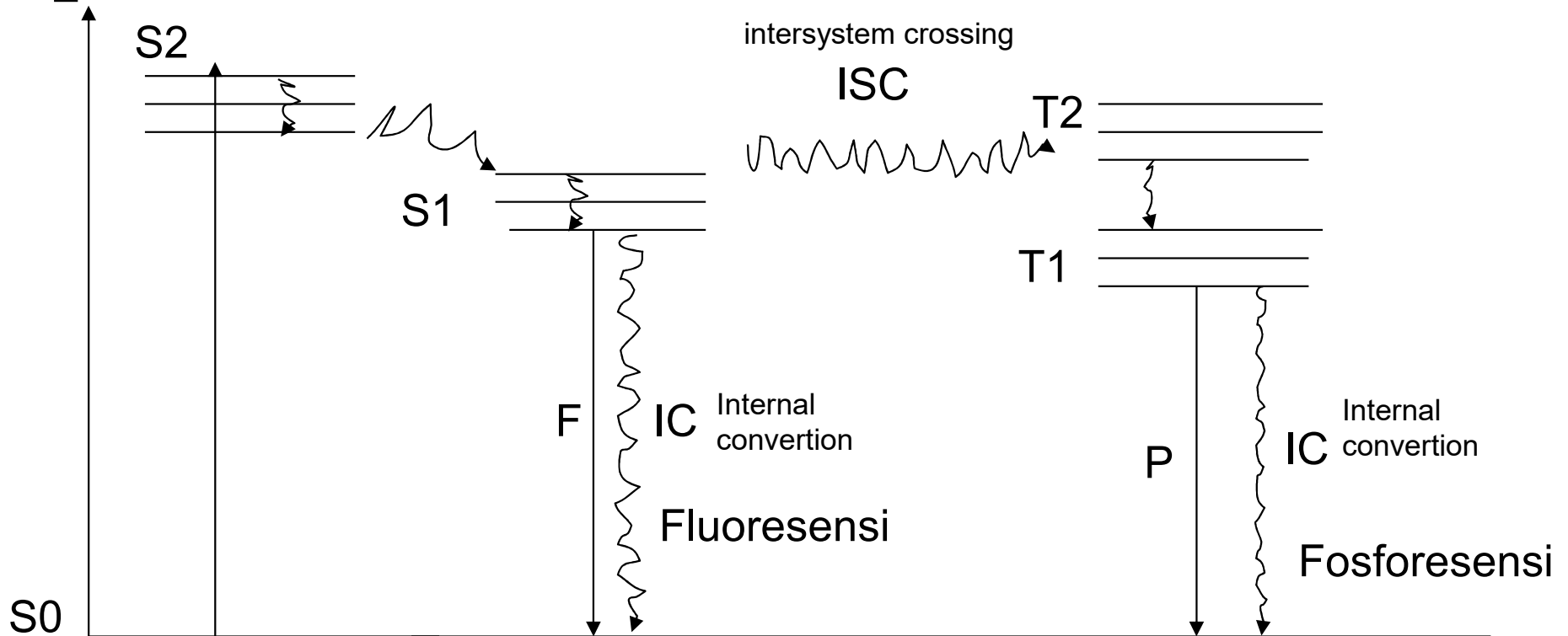
Ket: G = Ground Singlet
S₁ = First Excited Singlet
S₂ = Second Excited Singlet
T₁ = Lowest Triplet State
T₂ = Excited Triplet

LAS = Lintas Antar Sistem
(Intersystem Crossing)

- 
- Jenis spektroskopi fluoresensi :
 - Sinar **Visibel/tampak** : molekuler
 - **Sinar-X** : atomik → XRF (Xray Fluorescence)

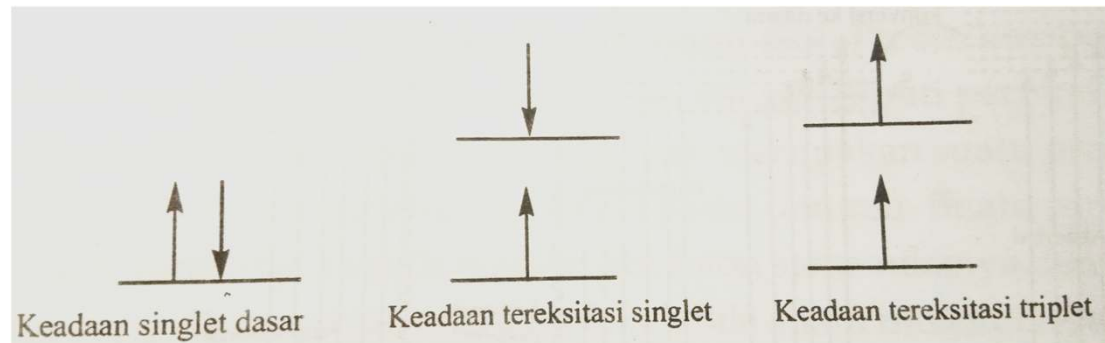
TEORI

■ Proses fluoresensi :



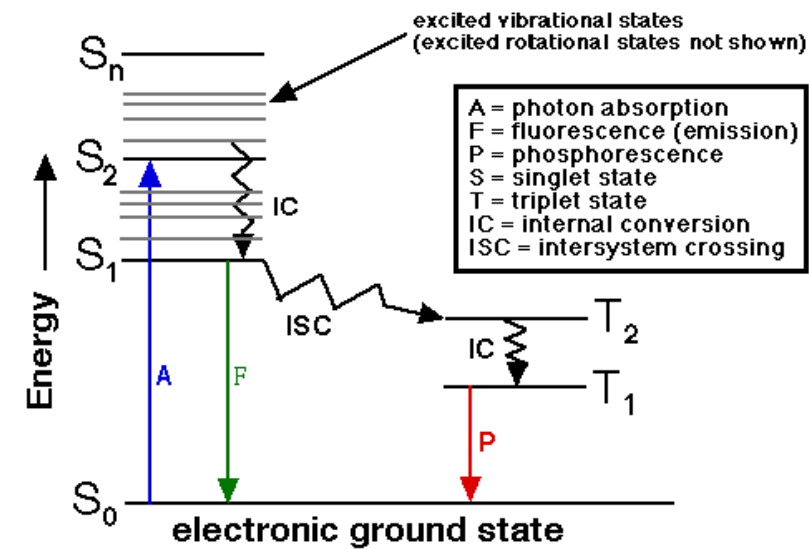
■ Untuk molekul dwiatomik :

- S: tingkat singlet : mempunyai **elektron berpasangan (spin electron masih berlawanan arah)**
- T : tingkat triplet : terkesitasi, spin berubah dari berlawanan arah menjadi searah.
- So : tingkat dasar yang merupakan tingkat singlet
- Tingkat energi $S > T$



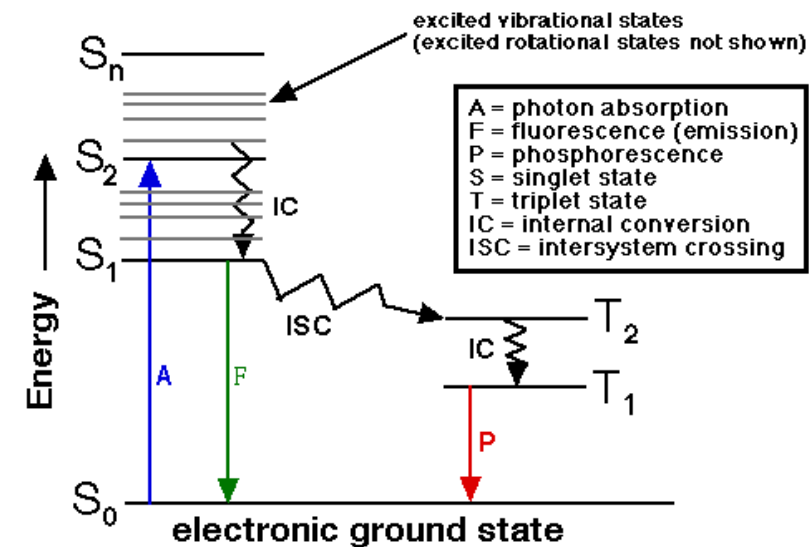
■ Fluoresensi

- Pada saat molekul mengabsorpsi sinar visibel, elektron ikatan tereksitasi dari S_0 ke S_2
- Elektron dalam S_2 bervibrasi dari 2 ke S_1 .
- Elektron dalam S_1 kembali ke S_0 sambil emisi radiasi → Fluoresensi
- Ada sebagian elektron yang tidak mengemisikan radiasi, namun mengalami *internal conversion (IC)*/pembalikan internal → *nonradiative/radiationless* : melepas panas
- Beberapa dimiliki oleh tanaman dan hewan laut yang bersinar lenih terang saat diberikan cahaya



■ Fosforesensi :

- Pada saat molekul mengabsorpsi sinar visibel, elektron ikatan tereksitasi dari S_0 ke S_2
- Elektron dalam S_2 bervibrasi dari S_2 ke S_1 .
- Elektron dalam S_1 mengalami intersystem crossing (ISC) : penyilangan antar sistem → pembalikan spin elektron → menempatkan elektron pada T_2
- Elektron pada T_2 : relaksasi vibrasi ke T_1
- Elektron pada T_1 → relaksasi ke S_0 sambil emisi radiasi → Fosforesensi
- Ada sebagian yang mengalami radiationless/nonradiative

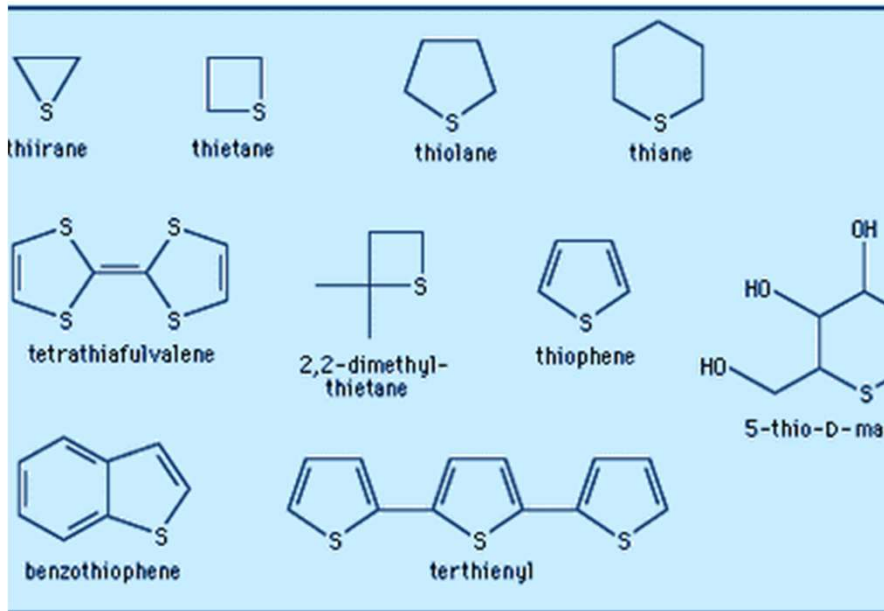




■ Fosforesensi

- waktu pemancaran lebih lama
- Cahaya benda akan terpendar setelah beberapa detik terkena sumber Cahaya.(aplikasi jam tangan, rambu lalu lintas, binatang/tumbuhan laut)

Supaya terjadi fluoresensi, harus terjadi peresapan cahaya yang kuat oleh suatu molekul. Hal ini dapat terjadi pada **senyawa aromatic**, senyawa **heterosiklik** dan molekul dengan **system konjugasi**. Senyawa dengan transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$, mempunyai kemungkinan yang lebih besar untuk berfluoresensi daripada transisi $n \rightarrow \pi^*$.



97 Encyclopaedia Britannica, Inc.

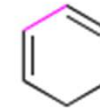
heterosiklik



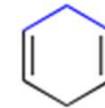
3,5-Octadiene
(Conjugated)



2,5-Octadiene
(Non-Conjugated)



1,3-Cyclohexadiene
(Conjugated)



1,4-Cyclohexadiene
(Non-Conjugated)

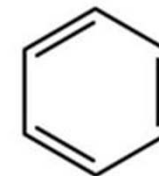
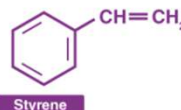
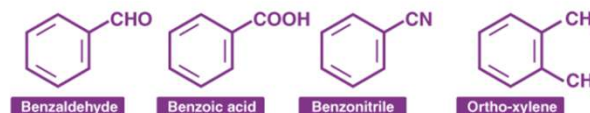
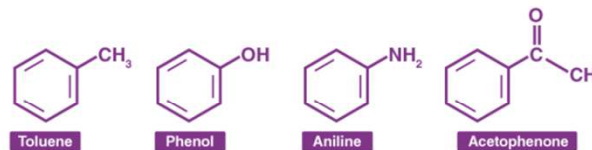


1,3-Butadiene
(Conjugated)

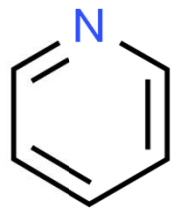


1,4-Pentadiene
(Non-Conjugated)

system konjugasi

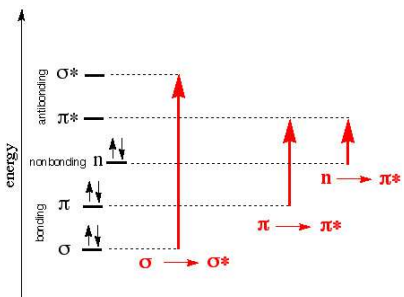


Benzene
berfluorosensi



Piridin
tidak berfluorosensi

senyawa aromatic



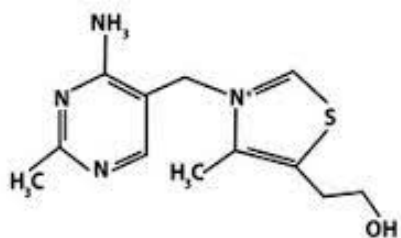
Contoh senyawa yang ber-fluoresensi

Senyawa	pH	Panjang gelombang, nm		Konsentrasi minimum (ppm)
		Eksitasi	Fluoresensi	
Asam p-amino-salisilat	11	300	405	0,004
Sianokobalamin	7	275	305	0,003
Kinina	1	250, 350	450	0,002
Reserpina	1	300	375	0,008
Kloropromazina	11	350	480	0,1

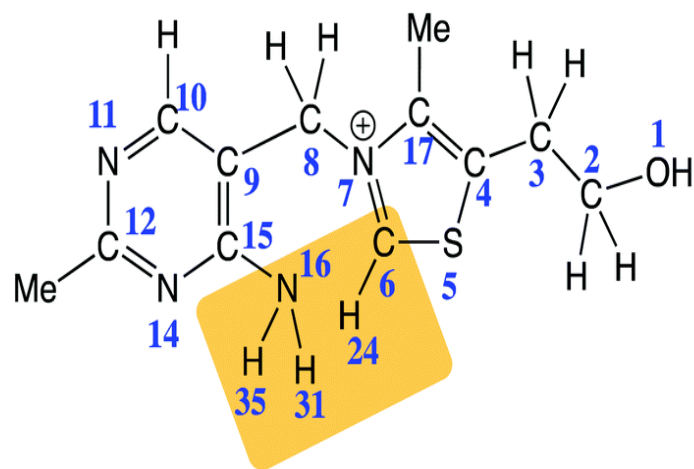
Dengan suatu pereaksi tertentu, **senyawa yang tidak berfluoresensi dapat diubah menjadi senyawa yang berfluoresensi**. Metode ini penting baik untuk senyawa organik maupun anorganik, dan banyak senyawa anorganik membentuk kompleks yang mudah berfluoresensi dengan pereaksi organik. Misalnya, kepekan pada penetapan So dapat dipertinggi sampai $0,002 \mu g$ dengan menggunakan **2,3-diaminonaftalena** sebagai pembentuk kompleks. **Vitamin B1** dalam sediaan Farmasi atau makanan dapat ditetapkan secara spektrofotometri setelah **dioksidasi menjadi tiokrom** yang mudah berfluoresensi.

Vitamin B1

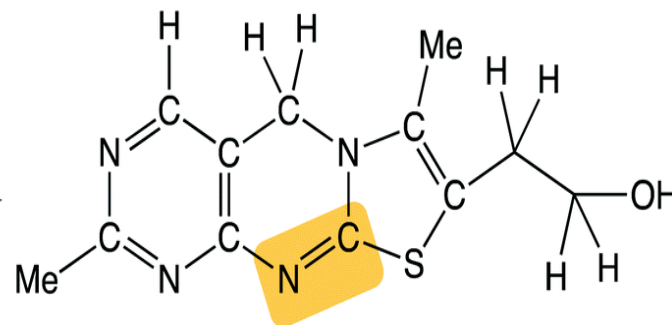
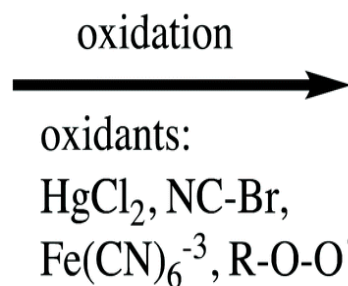
Thiamine



While thiamine is visible in the UV range, its relatively common wavelength for absorbance ($\lambda_{\text{max}} = 242 \text{ nm}$) and low extinction coefficient do not lend to specific or sensitive analyses. Hence, most commonly, thiamine is converted to thiochrome prior to measurement. This product of oxidation is highly **fluorescent with excitation and emission wavelengths of 360 nm and 450 nm**, respectively.



thiamine (vitamin B1)



thiochrome

Aplikasi analisis menggunakan instrument Spectrofluorometry

Pharmacy:

Possible direct or indirect analysis drugs such as:

- vitamins (vitamin A -vitamin B2 -vitamin B6 -vitamin B12 -vitamin E -folic acid)
- catecholamines (dopamine-norepinephrine)
- Other drugs (quinine-salicylic acid–morphine-barbiturates –lysergic acid diethylamide (LSD))
- to measure the amount of impurities present in the sample.

Pada larutan dengan konsentrasi tinggi, sebagian besar cahaya diserap lapisan larutan yang paling dulu kontak dengan radiasi eksitasi, sehingga **fluoresensi hanya terjadi pada bagian yang menyerap cahaya tersebut**. Dengan demikian, pada analisis kuantitatif harus digunakan **larutan yang encer** supaya dapat memenuhi persamaan fluoresensi:

$$F = 2,3I_0Qabc \quad \text{atau} \quad F = kc$$

Keterangan:

F = fluoresensi

k = konstan = $2,3I_0abc$

I_0 = intensitas sumber cahaya

Q = efisiensi fluoresensi

a = daya serap

b = tebal larutan

c = konsentrasi

Efisiensi Fluoresensi (Φ)

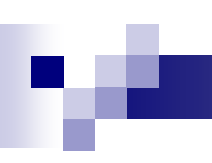
$$\Phi = \frac{R_f}{R_e} \qquad 0 < \Phi < 1$$

R_f : jumlah molekul **yang memancarkan fluoresensi**

R_e : jumlah molekul **yang tereksitasi setelah menyerap radiasi**

$$R_e = R_n + R_f$$

R_n = jumlah molekul yang radiationless

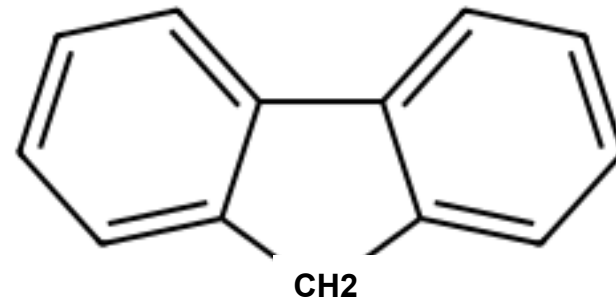
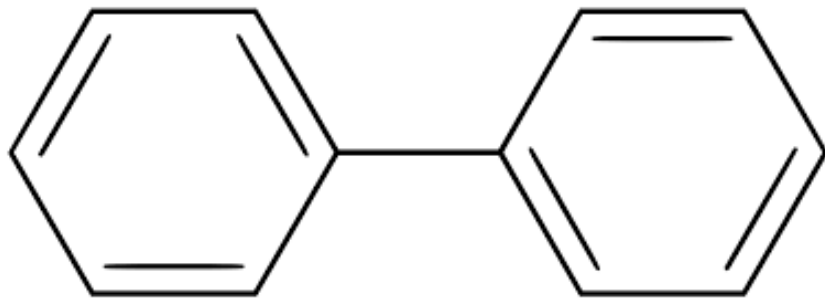


Faktor yang mempengaruhi Flourosensi :

- ☐ Struktur
- ☐ Konsentrasi
- ☐ Suhu
- ☐ pH
- ☐ Pelarut
- ☐ Pengaruh oksigen terlarut
- ☐ Pengaruh pemadaman sendiri (self quenching) & penyerapan sendiri

Pengaruh **struktur** terhadap fluoresensi

Fluoresensi dapat terjadi dengan baik jika molekul2 struktur yang kaku (rigid)



Lebih rigid lebih sulit bergerak maka Φ lebih tinggi

$$\Phi = \frac{R_f}{R_e}$$

■ Pengaruh struktur :

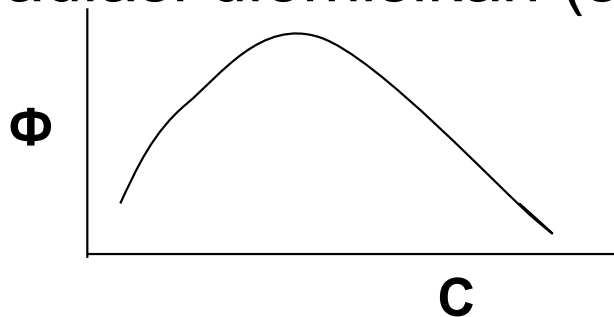
□ Struktur rigid(kaku) → sulit bergerak → Φ tinggi

■ Pengaruh konsentrasi (C):

□ C rendah → R_e rendah → R_f rendah → Φ rendah

□ C tinggi → R_e tinggi → R_f tinggi → Φ besar

□ C terlalu tinggi → R_e tinggi → molekul lain menyerap radiasi diemisikan (self absorption) → Φ rendah



$$\Phi = \frac{R_f}{R_e}$$

■ Pengaruh suhu :

- Kenaikkan suhu → meningkatkan gerakan molekul → molekul deaktif (energi molekul eksitasi dilepas ke pelarut/konversi keluar besar) → R_f rendah → Φ rendah

■ Pengaruh pelarut :

- Viskositas tinggi → gerakan molekul lambat → R_f tinggi → Φ tinggi
- Pelarut makin polar → intensitas fluoresensi (R_f) makin besar → Φ tinggi.

■ Pengaruh pH :

- pH mempengaruhi kestabilan molekul kompleks → mempengaruhi R_e dan R_f tergantung senyawanya.

Terkait dengan bentuk **terionisasi atau tidak**. Fenol dalam suasana asam bentuk molekul utuh (panjang gel 285-365), sementara dalam suasana basa akan terionisasi (Panjang gel 310-400)

❑ Pengaruh oksigen terlarut

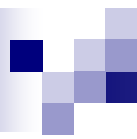
Adanya gas oksigen akan **memperkecil intensitas fluoresensi** yang disebabkan terjadinya **oksidasi senyawa** karena pengaruh Cahaya. Pengurangan intensitas fluoresensi disebut pemadaman sendiri atau **quenching**. Molekul oksigen bersifat paramagnetic, dan molekul yang bersifat seperti ini dapat mempengaruhi kemungkinan terjadinya fluoresensi dan sebaliknya memperbesar **kebolehjadian fosforesensi**.

❑ Pemadaman sendiri (self quenching) dan penyerapan sendiri

Disebabkan oleh **tabrakan2 antar molekul** zat itu sendiri yang menyebabkan energi yang akan dilepas sebagai **fluoresensi ditransfer ke molekul lain** sehingga intensitas fluoresensi berkurang.

Oksigen merupakan contoh pemadaman bagi senyawa **poliaromatis hidrokarbon**, maka oksigen harus dihilangkan sebelum dilakukan analisis.

Penyerapan sendiri terjadi jika panjang gelombang fluoresensi **bertumpang tindih dengan puncak serapan senyawa** yang bersangkutan, sehingga **intensitas fluoresensi berkurang** pada saat berkas sinar melalui larutan sampel.

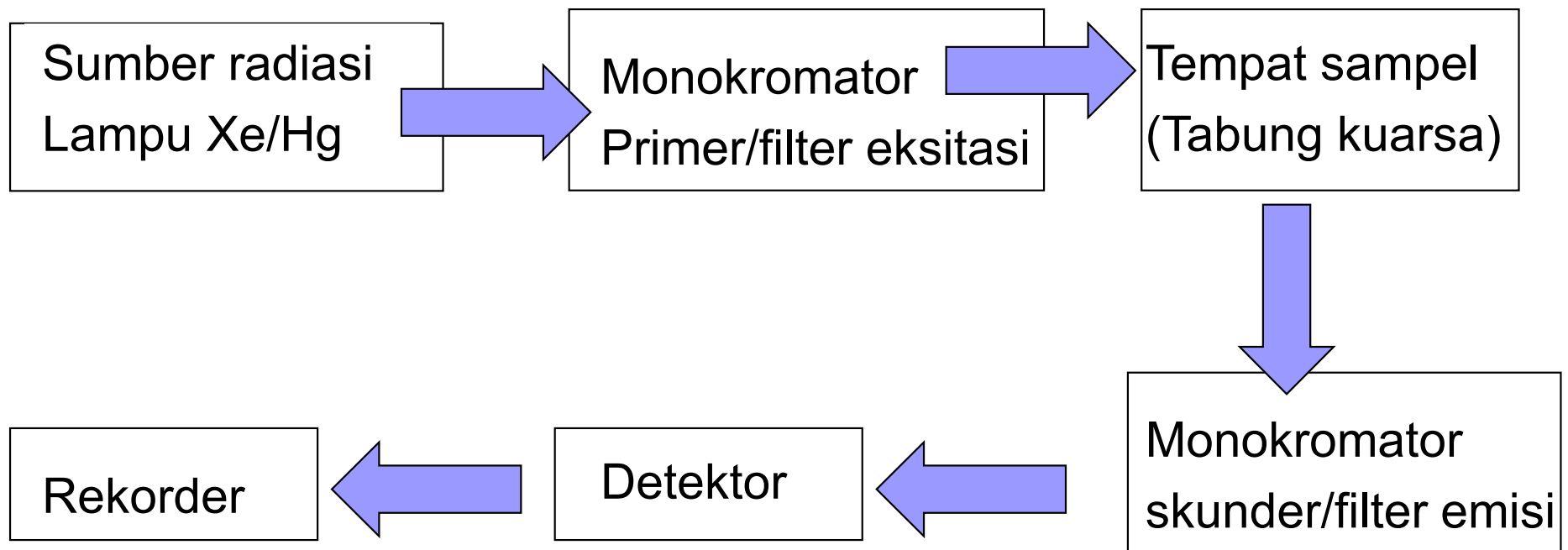


■ Quenching :

- Penurunan intensitas fluoresensi atau bahkan pemadaman
- Jenis :
 - Q-konsentrasi : **absorpsi radiasi eksitasi** maupun fluoresensi **oleh larutan**
 - Self-Q : **absorpsi radiasi fluoresensi oleh molekul lain** (pada konsentrasi tinggi)
 - Q-kimia : oleh **perubahan struktur kimia**

Instrumentasi

■ Susunan alat



Analisis kuantitatif

■ Dasar :

- Intensitas fluoresensi sebanding dengan konsentrasi
- Mengikuti hukum Lambert-Beer :

$$F = k C$$

F : intensitas fluoresensi
k : konstante
C : konsentrasi



■ Teknik analisis :

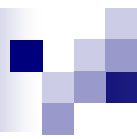
□ Langsung :

- Reaksi antara analit dengan pengompleks membentuk molekul kompleks penyerap radiasi dan menghasilkan fluoresensi
- **Intensitas fluoresensi** sebanding dengan **konsentrasi senyawa kompleks**
- Biasanya untuk analit kation
- Untuk standar tunggal, kurva standar, maupun adisi standar



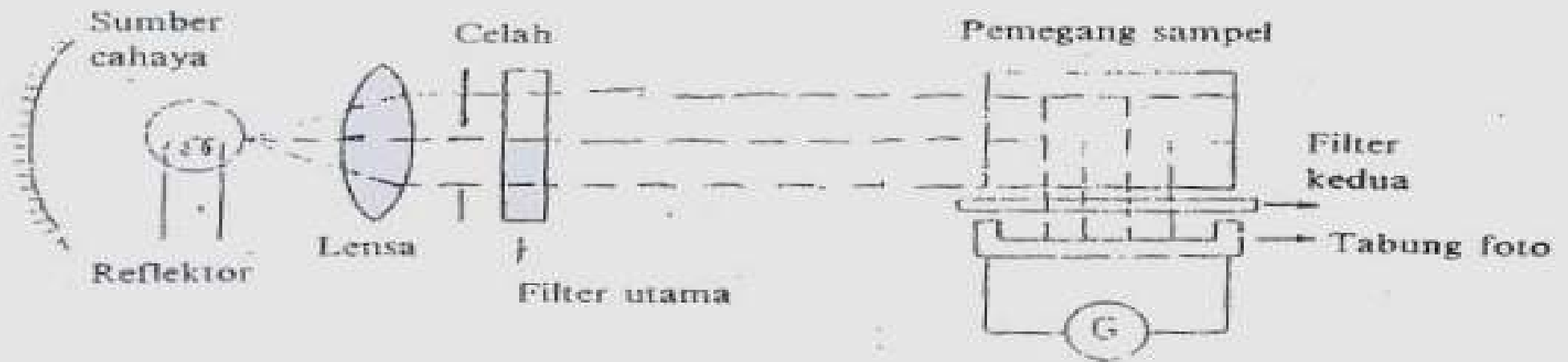
Kelebihan fluorometer dan fosforimeter dalam analisis kuantitatif:

- Metode ini **selektif dan tidak terjadi interferensi spektral**. Interferensi ini bila timbul dapat diatasi dengan **pemilihan panjang gelombang yang tepat** baik pada eksitasi maupun pemendarannya.
- Metode ini **sensitif**. Pada fosforometer, resolusi waktunya cukup besar, karena panjangnya waktu hidup. Hal ini juga mengeliminasi penghamburan sampel.



Prosedur analisis

Prosedur analisis, yaitu mula-mula **dibuat kurva kalibrasi** (grafik **hubungan fluoresensi dengan konsentrasi**). Tahap selanjutnya adalah **mengukur intensitas fluoresensi dari zat yang diperiksa, lalu membaca konsentrasi dari kurva kalibrasi tersebut**. Selama pengukuran, kondisi percobaan harus dijaga supaya tetap konstan. Pengotoran dapat menurunkan efisiensi dari fluoresensi sehingga mengurangi sensitivitas (quenching). **Analisa campuran dilakukan dengan memilih radiasi eksitasi pada panjang gelombang yang berbeda dimana masing-masing komponen campuran tersebut**. Bila tidak mungkin, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang yang berbeda dimana masing-masing komponen campuran tersebut berfluoresensi.



Sumber Radiasi

Banyak terdapat sumber radiasi. Lampu merkuri relatif stabil dan memancarkan energi terutama pada panjang gelombang diskret. Lampu tungsten memberikan energi kontinyu di daerah tampak. Lampu pancar xenon bertekanan tinggi seringkali digunakan pada spektrofлуorometer karena alat tersebut merupakan sebuah sumber

Monokromator

Sepasang filter atau monokromator untuk menyeleksi panjang gelombang eksitasi dan emisi.

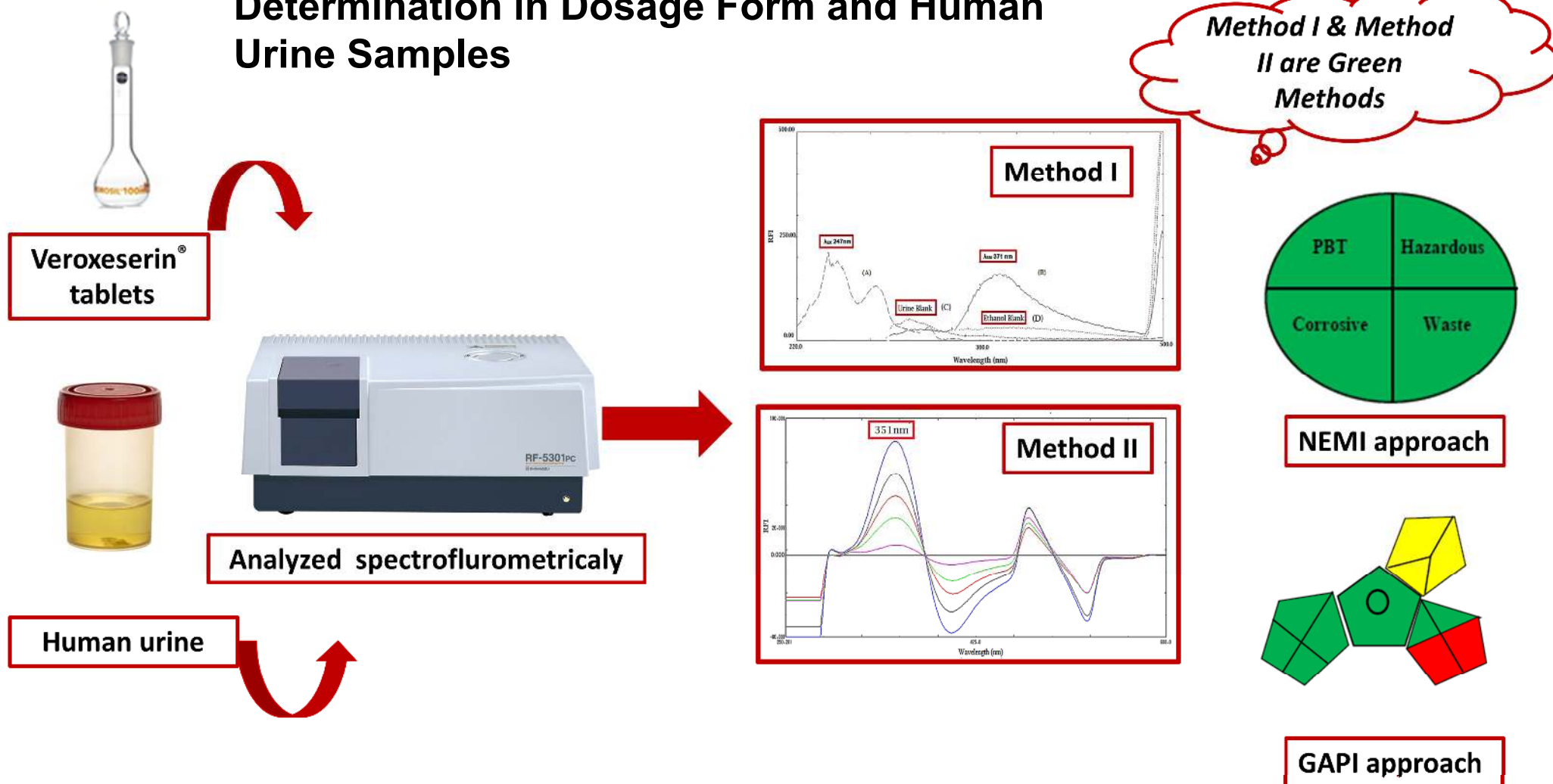
Sampel (dalam kuvet)

Sel spesimen yang digunakan dalam pengukuran fluoresensi dapat berupa tabung bulat atau sel empat persegi panjang (kuvet), sama seperti yang digunakan pada spektrofotometri resapan.

Detektor

Seperti pada spektrofotometri, detektor yang biasa digunakan adalah '**fotomultiplier tube**' atau '**thermocouple**'. Pada umumnya, detektor ditempatkan di atas sebuah poros

Development and Greenness Evaluation of Spectrofluorometric Methods **for Flibanserin** Determination in Dosage Form and Human Urine Samples



<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/21/4932>

Penentuan kadar kinin sulfat menggunakan spektrofлуorometri

Spektrofлуorometri untuk mengukur kadar Kinin Sulfat

Persiapan dan langkah kerja:

- Disiapkan larutan standard kinin yaitu 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 ppm dengan pengenceran dari larutan stok dengan 0,1 N H₂SO₄
- Larutan kinin sulfat 1 µg/ml dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian ditempatkan ke dalam ruang pengukuran pada spektrofлуorometer.
- Besar intensitas fluororesensi maksimum untuk monokromator eksitasi dari literatur dimasukkan pada alat spektrofлуorometer.
- Besar intensitas fluororesensi maksimum monokromator emisi dari literatur dimasukkan pada alat spektrofлуorometer.
- Dilakukan pengukuran intensitas fluororesensi (pada monokromator eksitasi) untuk blanko (asam sulfat 0,1 N).
- Dilakukan pengukuran intensitas fluororesensi (pada monokromator eksitasi) untuk masing-masing larutan yang diencerkan.
- Dilakukan pengukuran intensitas fluororesensi (pada monokromator eksitasi) untuk sampel.

Bahan	Intensitas pada $\lambda=450\text{ nm}$	Intensitas Bahan- Blanko pada $\lambda=450\text{nm}$
Blanko	0,4	-
Sampel	31	30,6
0,1 ppm	14	13,6
0,15 ppm	19,9	19,5
0,2 ppm	26	25,6
0,25 ppm	32	31,6
0,3 ppm	39	38,6

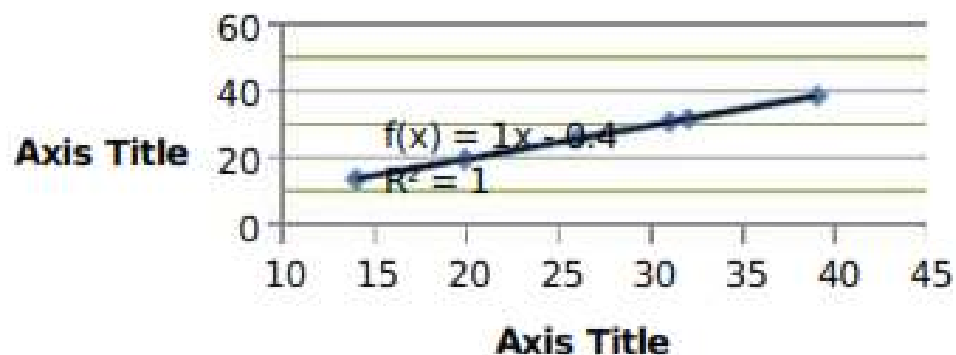
Panjang gelombang (λ) eksitasi : 350 nm

Panjang gelombang(λ) emisi : 300-400 nm

Panjang Gelombang (λ) max : 450 nm

Alat : Shimadzu Data Recorder DR-3

Grafik Hubungan

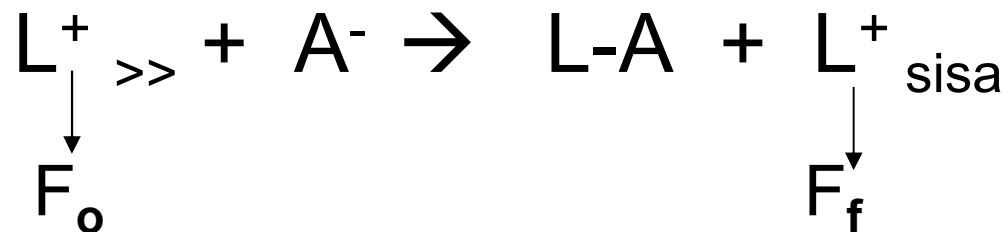


Jika dari pengukuran I sample pada λ 450nm adalah 30,6, maka konsentrasi sample nya adalah sebesar 4,6ppm. (I dimasukkan ke dalam persamaan regresi tersebut.

$$I = 124,2 C + 0,94$$

■ Teknik tidak langsung :

- Tergantung pada diminution/quenching → fluoresensi dari pengompleks
- Intensitas terukur sebanding dengan molekul yang mengalami quenching
- Biasanya untuk anion
- Contoh :



- Intensitas analit →

$$F_x = F_o - F_f$$



■ Contoh :

1. Larutan standar yang mengandung Al(III) 5 mg/L yang membentuk kompleks dengan oksin, memberikan intensitas fluoresensi 0,45. Berapa konsentrasi larutan yang memberikan intensitas 0,85
2. Larutan standar yang mengandung ion Co(II) 2 mg/L yang telah dikomplekskan, memberikan intensitas 0,36. Jika 5 ml larutan standar tersebut ditambahkan ke dalam 5 ml larutan sampel memberikan intensitas 0,42. Tentukan konsentrasi ion Co(II) dalam sampel. (addisi standar)

Contoh soal : teknik tak langsung

Diberikan data pada analisis ion F dalam sampel air :

- Jika 10 ml sampel air direaksikan dengan 10 ml pengompleks dan diencerkan menjadi 50 ml, memberikan intensitas 43. Hitung konsentrasi ion F dalam sampel air tersebut

V.std 10 mg/L (ml)	V pengom pleks (ml)	V. air (ml)	Inten sitas
0	10	40	85
2,5	10	37,5	70
5	10	35	56
7,5	10	32,5	38
10	10	30	24
12,5	10	27,5	16

KROMATOGRAFI

Buku acuan: Kimia Farmasi Analisis
Oleh: Prof.Dr.Ibnu Gholib Ganjar, DEA,Apt
Abdul Rohman, M.Si,Apt

Dasar-dasar Kromatografi

Defenisi

Prinsip
kromatografi

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan berdasarkan **interaksi suatu senyawa** pada **dua fase yang berbeda** (**fase gerak** dan **fase diam**) ketika senyawa melewati suatu medium penyokong.

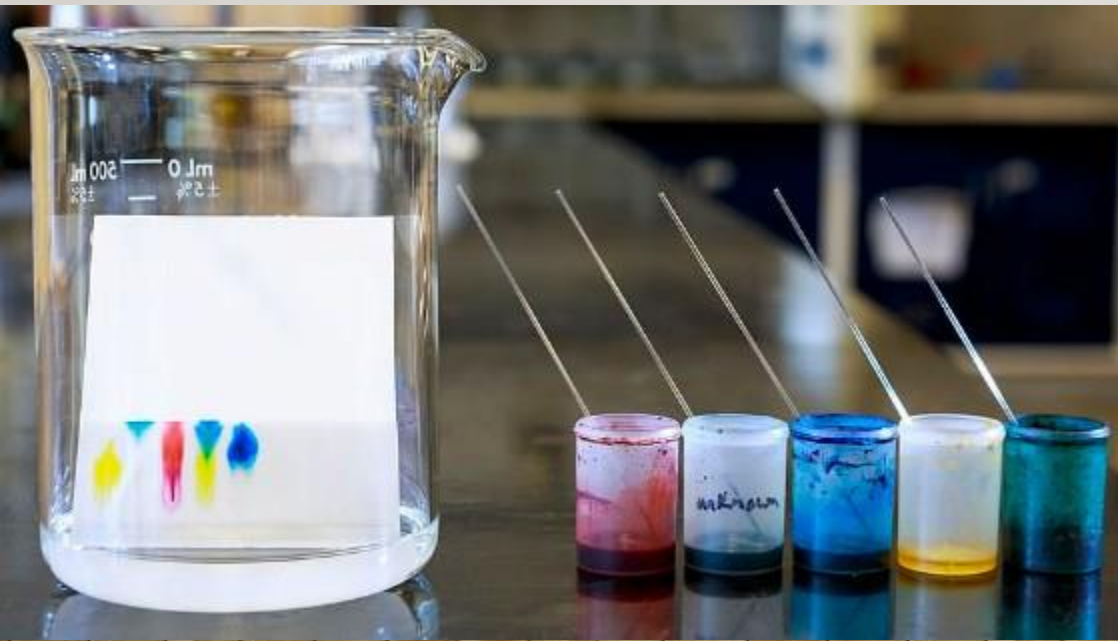
Komponen:

Overveiw
video

fase gerak: suatu pelarut yang mengalir melalui medium penyokong.

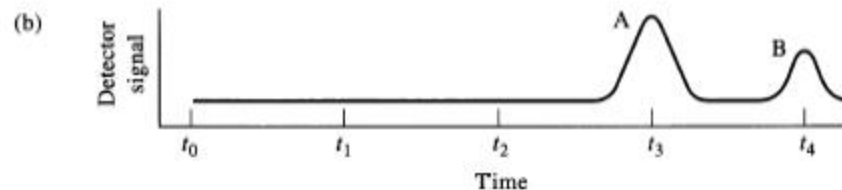
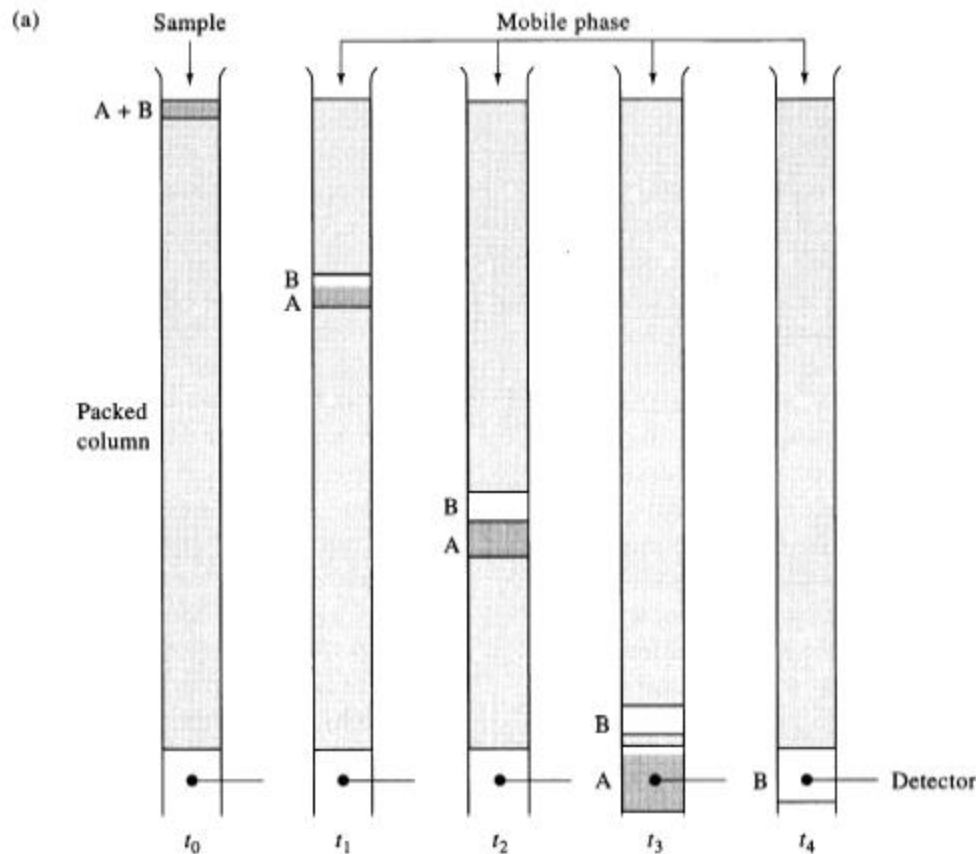
Fase diam: suatu lapisan atau selubung yang melapisi medium penyokong yang berinteraksi dengan analit

Medium penyokong: suatu permukaan padatan dimana fase diam terikat atau terlapisi.



KLT/TLC





Analit yang berinteraksi lebih kuat dengan fase diam akan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk melewati sistem dibandingkan dengan analit yang memiliki interaksi yang lebih lemah.

Interaksi-interaksi ini umumnya merupakan interaksi kimia, namun dalam beberapa kasus merupakan interaksi fisik.

Kromatogram dari detektor

Jenis-jenis kromatografi: - kromatografi dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis fase gerak, fase diam, dan material pendukung

TABLE 26-1 Classification of Column Chromatographic Methods

General Classification	Specific Method	Stationary Phase	Type of Equilibrium
Liquid chromatography (LC) (mobile phase: liquid)	Liquid-liquid, or partition	Liquid adsorbed on a solid	Partition between immiscible liquids
	Liquid-bonded phase	Organic species bonded to a solid surface	Partition between liquid and bonded surface
	Liquid-solid, or adsorption	Solid	Adsorption
	Ion exchange	Ion-exchange resin	Ion exchange
	Size exclusion	Liquid in interstices of a polymeric solid	Partition/sieving
Gas chromatography (GC) (mobile phase: gas)	Gas-liquid	Liquid adsorbed on a solid	Partition between gas and liquid
	Gas-bonded phase	Organic species bonded to a solid surface	Partition between liquid and bonded surface
	Gas-solid	Solid	Adsorption
Supercritical-fluid chromatography (SFC) (mobile phase: supercritical fluid)		Organic species bonded to a solid surface	Partition between supercritical fluid and bonded surface

Jenis Kromatografi

1.) pembagian utama dari teknik kromatografi **didasari dari jenis fase gerak** yang digunakan pada sistem:

Jenis Kromatografi

Kromatografi gas (GC)

Kromatografi cair (LC)

Jenis Fase gerak

gas

cair

2.) pembagian lebih lanjut dapat dilakukan berdasarkan **jenis fase diam** yang digunakan dalam sistem :

Kromatografi Gas

Metode kromatografi gas

kromatografi Gas-padat

Kromatografi Gas-cair

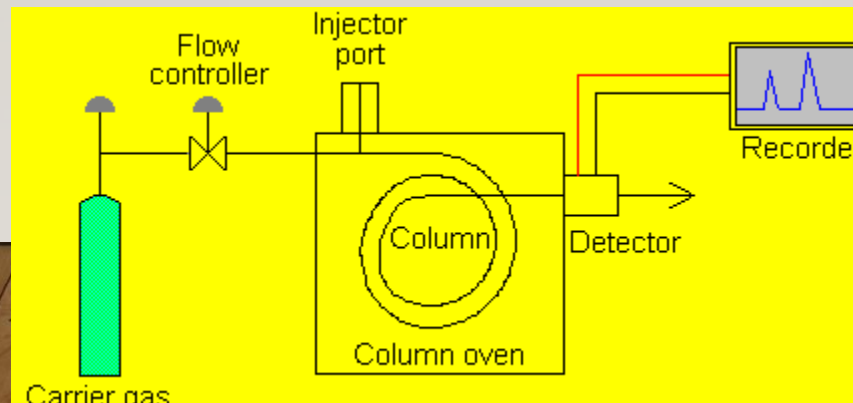
kromatografi gas-fase terikat

jenis fase diam

material padat yang tidak terderivatisasi

material terlapsi cairan

material terderivatisasi secara kimia



Jenis Kromatografi

Kromatografi Cair

Nama metode kromatografi cair

kromatografi adsorpsi

Kromatografi partisi

Kromatografi penukar ion

kromatografi eksklusi ukuran

kromatografi afinitas

Type of Stationary Phase

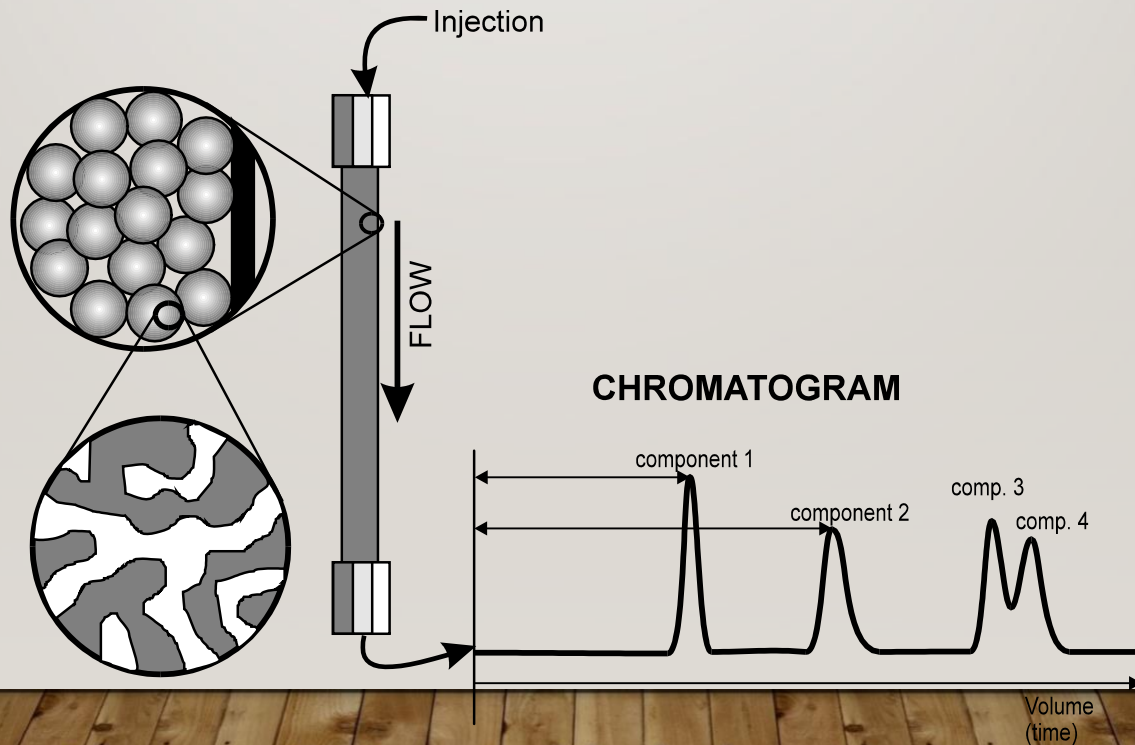
material padat tak terderivatisasi

material terderivatisasi atau terlapisi cairan

material memiliki muatan tetap

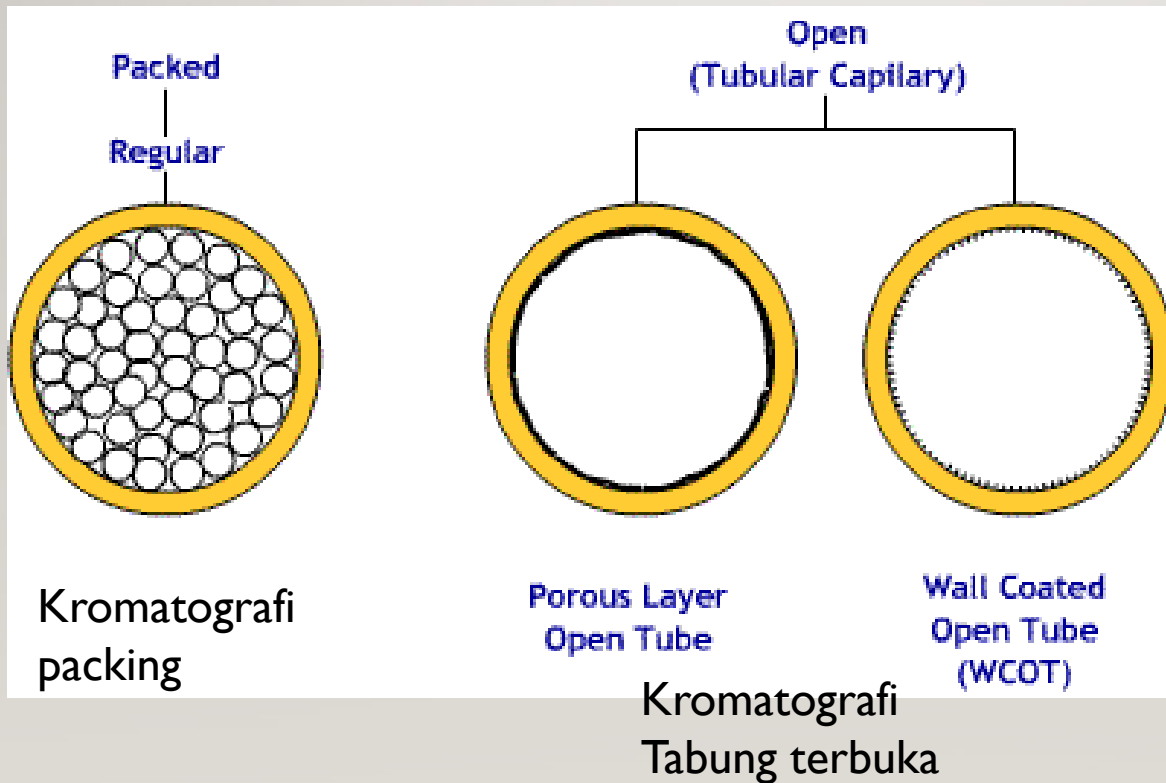
material berpori

material terimobilisasi ligan



3.) teknik kromatografi juga dapat diklasifikasikan berdasarkan **material pendukung** yang digunakan dalam sistem:

kromatografi **packing (kolom padat)**
kromatografi **tabung terbuka** (kapiler)
Kromatografi **alas terbuka (planar)**



Kromatografi Alas terbuka/Planar

KLASIFIKASI LAIN KROMATOGRAFI DILIHAT CARA APLIKASINYA

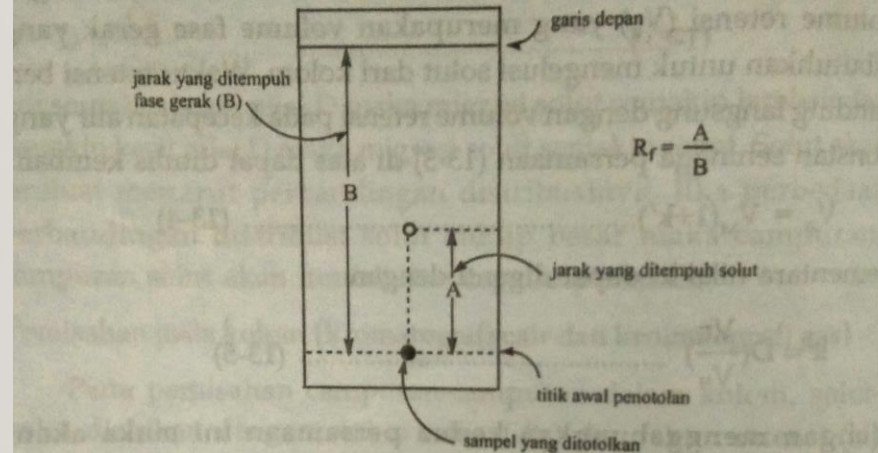
Teknik	Fase diam	Fase gerak	Bentuk	Mekanisme sorpsi yang utama
Kromatografi kertas	Kertas (selulosa)	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion, eksklusi)
Kromatografi lapis tipis (KLT)	Silika, selulosa, resin penukar ion, padatan yang porusnya dikendalikan	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion, eksklusi)
<i>Kromatografi gas</i> Kromatografi gas-cair (KGC)	Cair	Gas	Kolom	Partisi
Kromatografi gas-padat (KGP)	Padat	Gas	kolom	Adsorpsi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	Padatan atau fase terikat	Cair	Kolom	Partisi yang dimodifikasi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi eksklusi ukuran	Padatan dengan porositas yang dikendalikan	Cair	Kolom	Eksklusi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi penukar ion	Resin penukar ion atau fase terikat	Cair	Kolom	Pertukaran ion
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi kiral	Pemilih kiral padat	cair	Kolom	Adsorpsi secara selektif

Pemisahan pada kromatografi planar (kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis)

Kromatografi planar dihentikan sebelum semua fasa gerak melewati batas permukaan fasa diam. Solut pada kedua kromatografi ini dikarakterisasi dengan jarak migrasi solute terhadap ujung fasa geraknya. Waktu retardasi solute (R_f) didefinisikan sebagai:

$$R_f = \frac{1}{1+k} \quad (13-8)$$

Gambaran untuk menghitung nilai R_f terdapat dalam gambar 13.1 berikut ini:



$$R_f = \frac{A}{B}$$

Gambar 13.1.
Bagaimana harga R_f diukur dan dihitung.
(sumber: Gritter *et al*, 1991)

Nilai R_f dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan (13-9):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fasa gerak}} \quad (13-9)$$

INTERAKSI FASA DIAM DAN FASA GERAK YANG TERJADI DALAM PROSES KROMATOGRAFI

Proses Sorpsi

Proses **pemindahan solute dari fasa gerak ke fasa diam**. Kebalikannya proses desorpsi. Proses sorpsi dan desorpsi terjadi secara terus menerus selama proses pemisahan terjadi, karena proses kromatografi terjadi dalam keadaan kesetimbangan dinamis. Solut akan terdistribusi diantara 2 fasa yang bersesuaian dengan perbandingan distribusinya (D) untuk menjaga kesetimbangan. $D = C_s/C_m$

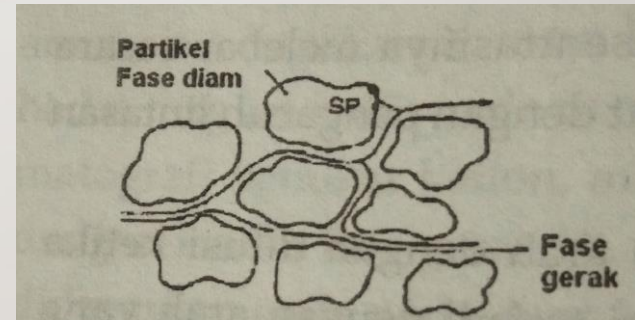
- Sorpsi =
1. Adsorpsi : **Penyerapan pada permukaan saja** dengan interaksi elektrostatis seperti ikatan hidrogen, penarikan dipol, penarikan induksi oleh dipol. Silika gel (gugus Si-O-Si dan Si-OH) gugus ini bersifat asam dan dapat membentuk ikatan hidrogen dengan solute yang agak polar sampai sangat polar.
 2. Partisi : Analog dengan proses ekstraksi, **dimana fasa diam cair diikatkan pada padatan lapis tipis yang inert**.
 3. Pertukaran ion : Solute pada fasa gerak dapat bertukar dengan ion-ion yang bermuatan sama yang terikat dengan fasa diam (resin penukar ion (kation/anion)).
 4. Eksklusi: Pemisahan berdasarkan **ukuran partikel** dari fasa diam yang di **packing (prinsipnya porositas fasa diam)**. **(pemisahan didasarkan struktur dan ukuran molekul)** mirip penyaringan.

Profil puncak dan pelebaran puncak

Puncak yang ideal dalam kromatogram adalah puncak yang sempit, tajam, dan simetri. Namun demikian banyak terjadi puncak yang melebar, adapun beberapa factor penyebabnya adalah sbb:

1. Sorpsi dan desorpsi terus menerus antara fasa diam dan fasa gerak secara inheren akan menghasilkan profil konsentrasi Gaussian yang akan melebar karena solute bermigrasi lebih lanjut.

2. Perjalanan solute melalui partikel fase diam yang berbeda sehingga menyebabkan profil konsentrasinya melebar secara simetris.



3. Spesies solute menyebar ke segala arah dengan difusi Ketika bereada di fasa gerak. Difusi bisa searah dan berlawanan arah dengan aliran fasa gerak (longitudinal atau axial) sehingga terjadi pelebara pita.

4. Desorpsi yang lambat dapat juga mengakibatkan puncak yang asimetris.

5. Adanya variasi rasio distribusi solute dengan total konsentrasinya.

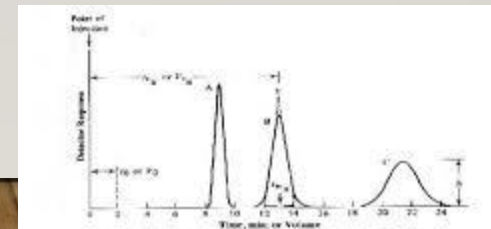
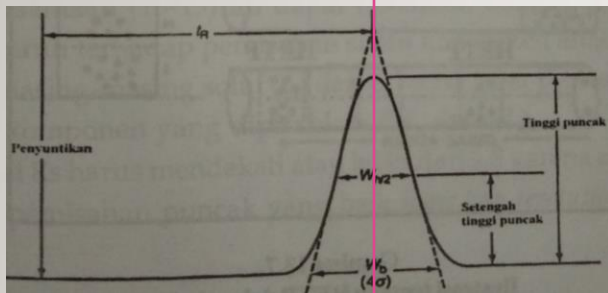
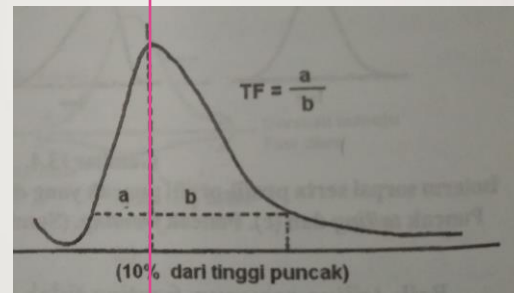


FIGURE 21.2. Chromatogram of the detector response of Figure 21.1. t_m is time for solvent to elute; t_r is retention time of solute; h is peak height; W is peak width. Units can also be given in terms of volume rather than time: t_m , t_r , h , and W .

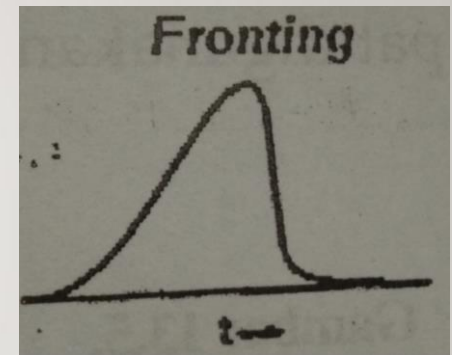
t_m , t_r = Waktu migrasi, t_r = waktu retensi, h = tinggi puncak
 W , W = lebar puncak, random fluctuations



Puncak simetri

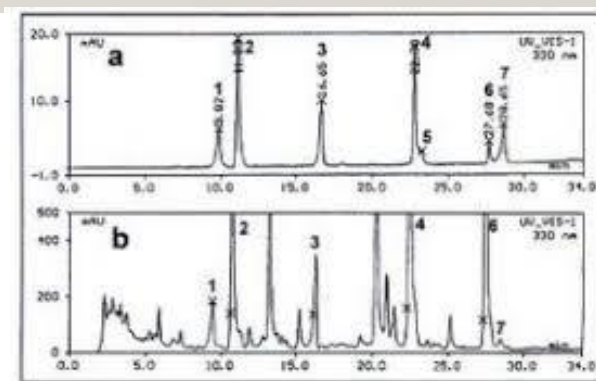
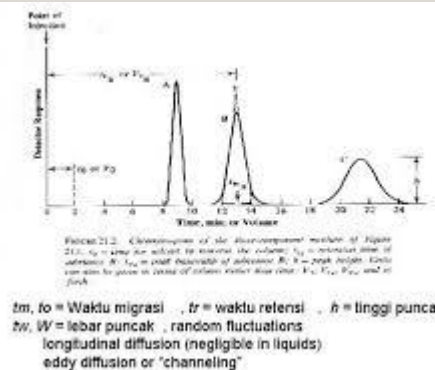


Puncak asimetri



Terjadinya puncak yang asimetris disebabkan oleh:

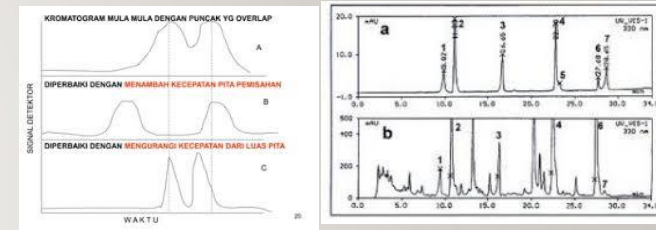
1. Ukuran sample yang terlalu pekat untuk dianalisis. Rawan terjadi tailing (ekor melebar).
2. Interaksi yang terlalu kuat antara solute dengan fasa diam sehingga sulit untuk terelusi, sehingga terjadi tailing.
3. Adanya kontaminan dalam sample yang dapat muncul terlebih dahulu sehingga menimbulkan puncak mendahului (fronting) (melebar/condong kedepan).



Efisiensi kolom

Ada 2 parameter untuk menilai kualitas pemisahan:

1. Efisiensi : Ukuran banyaknya pelebaran puncak masing2 puncak solute.
2. Resolusi : tingkat pemisahan puncak-puncak yang berdekatan.



Efisiensi berkaitan dengan jumlah lempeng (plate number) atau N , dan jumlah lempeng berkaitan dengan waktu retensi t_R . Hubungan ini disajikan dalam persamaan sebagai berikut:

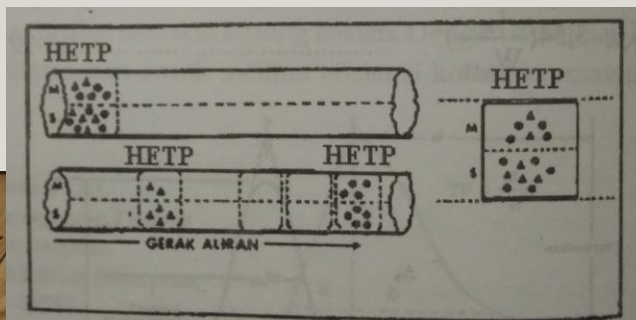
N : jumlah lempeng, t_R : waktu retensi, σ (sigma) standar deviasi lebar puncak.

Dalam prakteknya lebih mudah mengukur lebar puncak (W_b) dan lebar setengah puncak $W_{b/2}$

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma_t} \right)^2$$

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \dots\dots$$
$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$$

Pemisahan kolom juga tergantung pada **tinggi lempeng (H)** atau juga disebut tinggi setara plate teori (**HETP= Height Equivalent Theoretical Plate**).



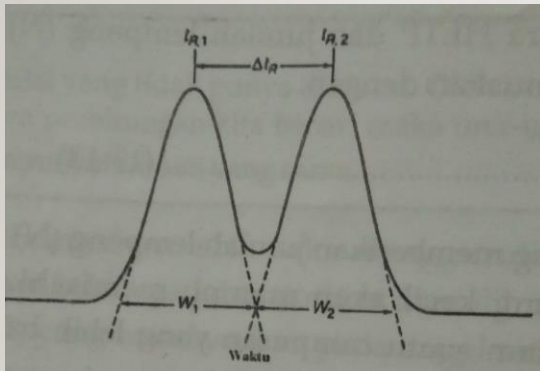
Hubungan antara H dan N adalah ;

$H = L/N$ dimana N jumlah lempeng, dan L panjang kolom

Semakin kecil H maka semakin efisien dalam pemisahan

Resolusi Kromatogram

Resolusi kromatogram didefinisikan sebagai perbedaan antara waktu retensi 2 puncak yang paling berdekatan ($\Delta t_R = t_{R2} - t_{R1}$) dibagi dengan rata-rata lebar puncak $(W_1 + W_2)/2$



$$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)} \dots\dots$$

W= lebar puncak

T = waktu retensi

R_s= resolusi.

Pengukuran resolusi 2 puncak yang berdekatan

$$R_s = \frac{1}{4} \left(\sqrt{\frac{L}{H}} \right) \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \left[\frac{k'}{1 + k'} \right] \dots$$

Yang mana:

R : Resolusi

N : bilangan lempeng

α : selektifitas

k' : faktor retensi

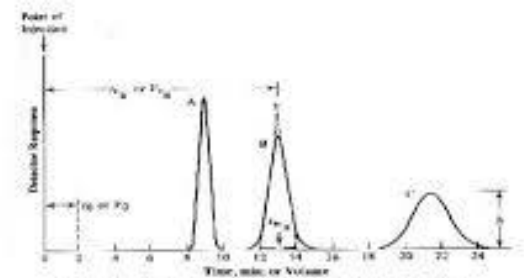
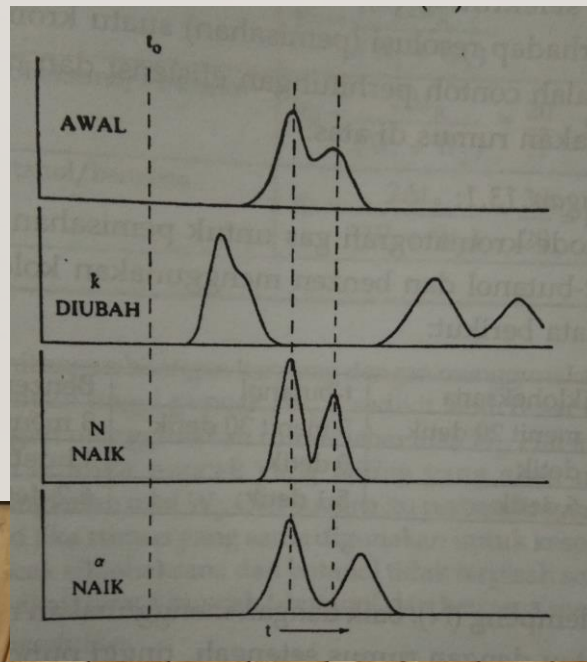
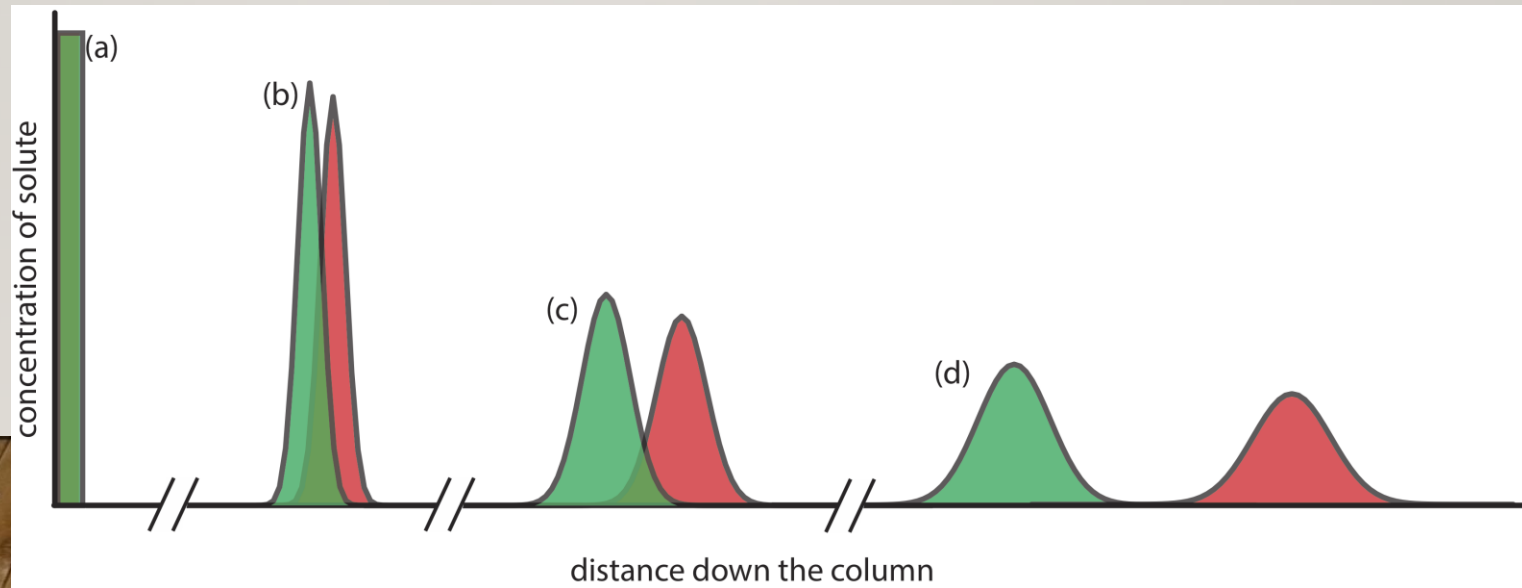
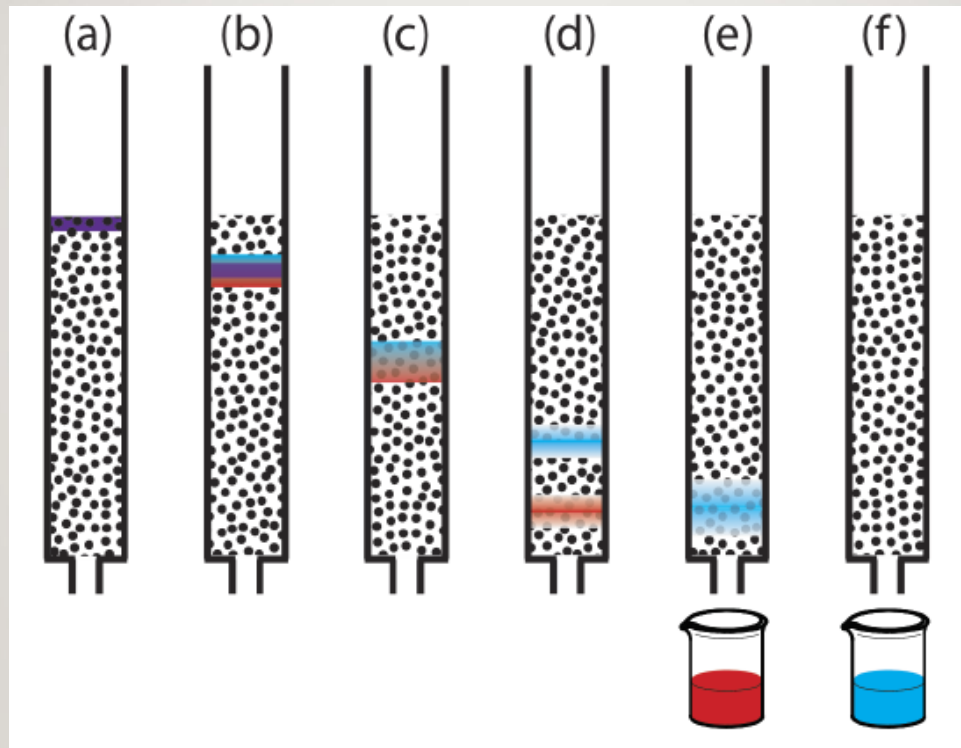


FIGURE 21.2. Chromatogram of the three-component mixture of Figure 21.1. t_0 is time for solvent to move the column; t_{R1} is retention time of substance A; t_{R2} is peak height of substance B; h = peak height. Each component is given its own set of labels: t_{R1} , t_{R2} , t_{R3} , and h .

t_m , t_0 = Waktu migrasi, t_R = waktu retensi, h = tinggi puncak
 h , W = lebar puncak, random fluctuations
 longitudinal diffusion (negligible in liquids)
 eddy diffusion or "channeling"



Contoh perhitungan 13.1:

Suatu metode kromatografi gas untuk pemisahan campuran sikloheksana, *t*-butanol dan benzen menggunakan kolom kapiler memberikan data berikut:

Parameter	Sikloheksana	<i>t</i> -butanol	Benzena
t_R	3 menit 20 detik	3 menit 30 detik	3 menit 45 detik
W_b	8 detik	9 detik	11 detik
$W_{h/2}$	4,6 detik	5,1 detik	6,2 detik

Hitunglah:

- Bilangan lempeng (N), baik dengan menggunakan rumus lebar puncak atau dengan rumus setengah tinggi puncak.
- Tinggi setara lempeng teoritis (H).
- Resolusi antara 2 pasang solut yang berdekatan

Jawab:

(a)	Bilangan lempeng:	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2$	$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$
	sikloheksana	$N = 16 \left(\frac{200}{8} \right)^2$ $= 10.000$	$N = 5,54 \left(\frac{200}{4,6} \right)^2$ $= 10.473$
	<i>t</i> -butanol	$N = 16 \left(\frac{210}{9} \right)^2$ $= 8711$	$N = 5,54 \left(\frac{210}{5,1} \right)^2$ $= 9393$
	Benzena	$N = 16 \left(\frac{225}{11} \right)^2$ $= 6694$	$N = 5,54 \left(\frac{225}{6,2} \right)^2$ $= 7296$

(b)	Tinggi lempeng	$H = \frac{10.000}{N}$	
	sikloheksana	$H = 1,0 \text{ mm}$	$H = 0,95 \text{ mm}$
	<i>t</i> -butanol	$H = 1,15 \text{ mm}$	$H = 1,06 \text{ mm}$
	Benzena	$H = 1,49 \text{ mm}$	$H = 1,37 \text{ mm}$
(c)	Resolusi	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)}$	
	Sikloheksana/ <i>t</i> -butanol	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)} = \frac{20}{17} = 1,2$	
	<i>t</i> -butanol/benzena	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)} = \frac{30}{20} = 1,5$	

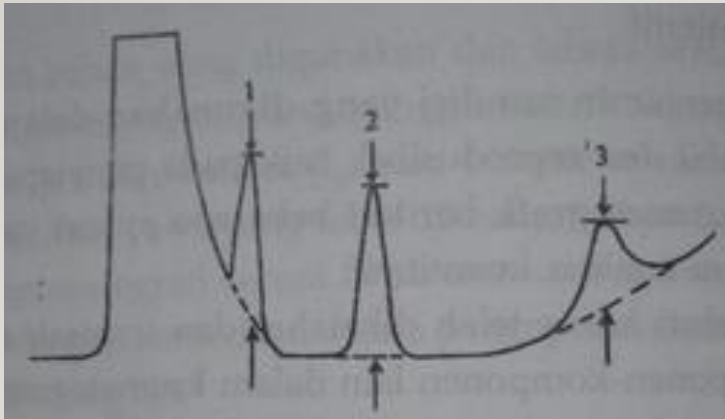
Analisis kualitatif dan kuantitatif

Analisis kualitatif:

1. Dengan cara membandingkan data retensi solute yang dicari dengan retensi bakustandar (yang sudah diketahui) pada kondisi yang sama.
2. Dengan cara spiking. Manambahkan sampel yang mengandung senyawa tertentu yang dicari dengan senyawa standar yang sudah diketahui. Diamati perubahan setelah penambahan standar pada sample.
3. Menggabungkan alat kromatografi dengan spectrometer massa (HPLC-MS_

Analisis kuantitatif:

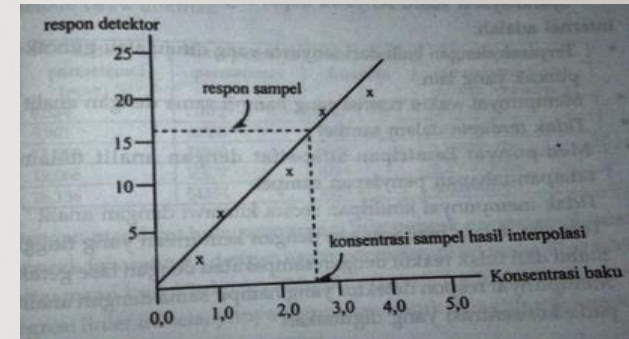
1. Perhitungan tinggi puncak. (pengukuran garis dasar ke puncak maksimum
2. Perhitungan luas puncak. Mengukur luas sebagai hasil kali tinggi puncak dan lebar pada setengah tinggi ($W_{1/2}$).



Analisis kuantifikasi:

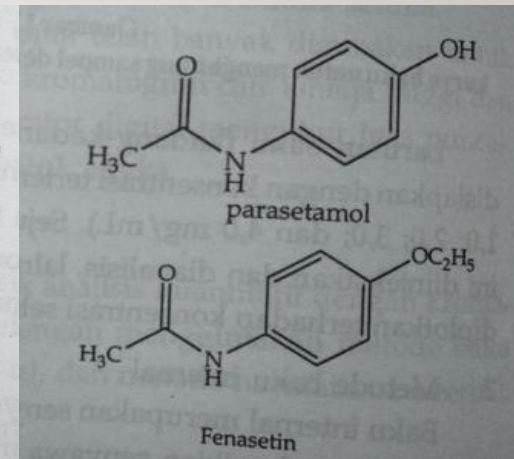
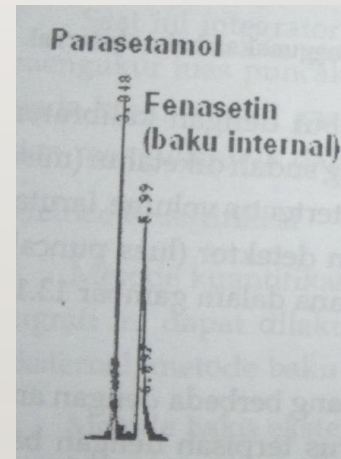
1. Metode baku eksternal :

Penentuan konsentrasi senyawa target dalam suatu sample dengan menggunakan plot kalibrasi menggunakan baku eksternal.



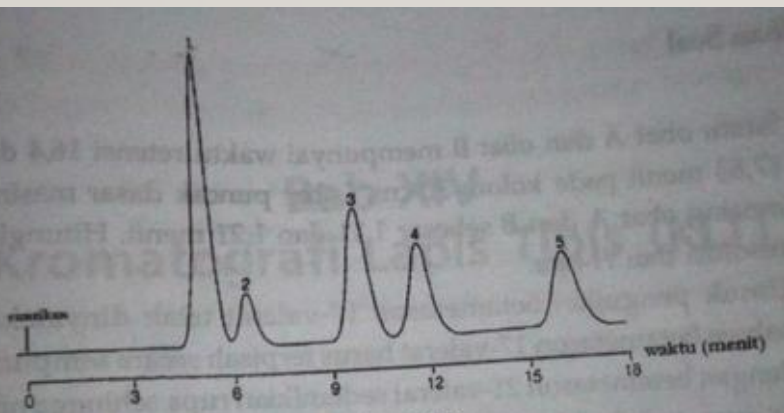
2. Metode baku internal :

Penentuan konsentrasi senyawa target dalam suatu sample dengan menggunakan senyawa yang berbeda dengan analit tapi memiliki kemiripan. Misal penentuan kadar parasetamol menggunakan baku internal fenasetin.



3. Normalisasi internal :

Jumlah relative analit dalam suatu multikomponen yang dibutuhkan. Biasanya digunakan persen atau fraksi



Komponen	Luas puncak terukur	Persen relatif
1	167,8	35,9
2	31,63	6,8
3	108,3	23,2
4	80,63	17,3
5	78,38	16,8
Total	466,94	100

Latihan Soal

1. Suatu obat A dan obat B mempunyai waktu retensi 16,4 dan 17,63 menit pada kolom 30 cm. Lebar puncak dasar masing-masing obat A dan B sebesar 1,11 dan 1,21 menit. Hitunglah resolusi dan H-nya.
2. Untuk pengujian betametason 17-valerat telah dinyatakan bahwa betametason 17-valerat harus terpisah secara sempurna dengan betametason 21-valerat sedemikian rupa sehingga nilai R_s -nya $> 1,0$. Mana diantara kolom ODS berikut yang memenuhi spesifikasi?

Kolom ODS	t_R betameta-son 17-valerat (menit)	t_R betameta-son 21-valerat (menit)	Lebar dasar betameta-son 17-valerat (menit)	Lebar dasar betameta-son 21-valerat (menit)
1	9,5	8,5	0,4	0,5
2	9,3	8,6	0,4	0,4

3. Suatu prosedur operasional baku menyatakan bahwa suatu kolom harus mempunyai efisiensi > 30.000 lempeng/m. Manakah kolom dengan panjang 15 cm berikut yang memenuhi spesifikasi?

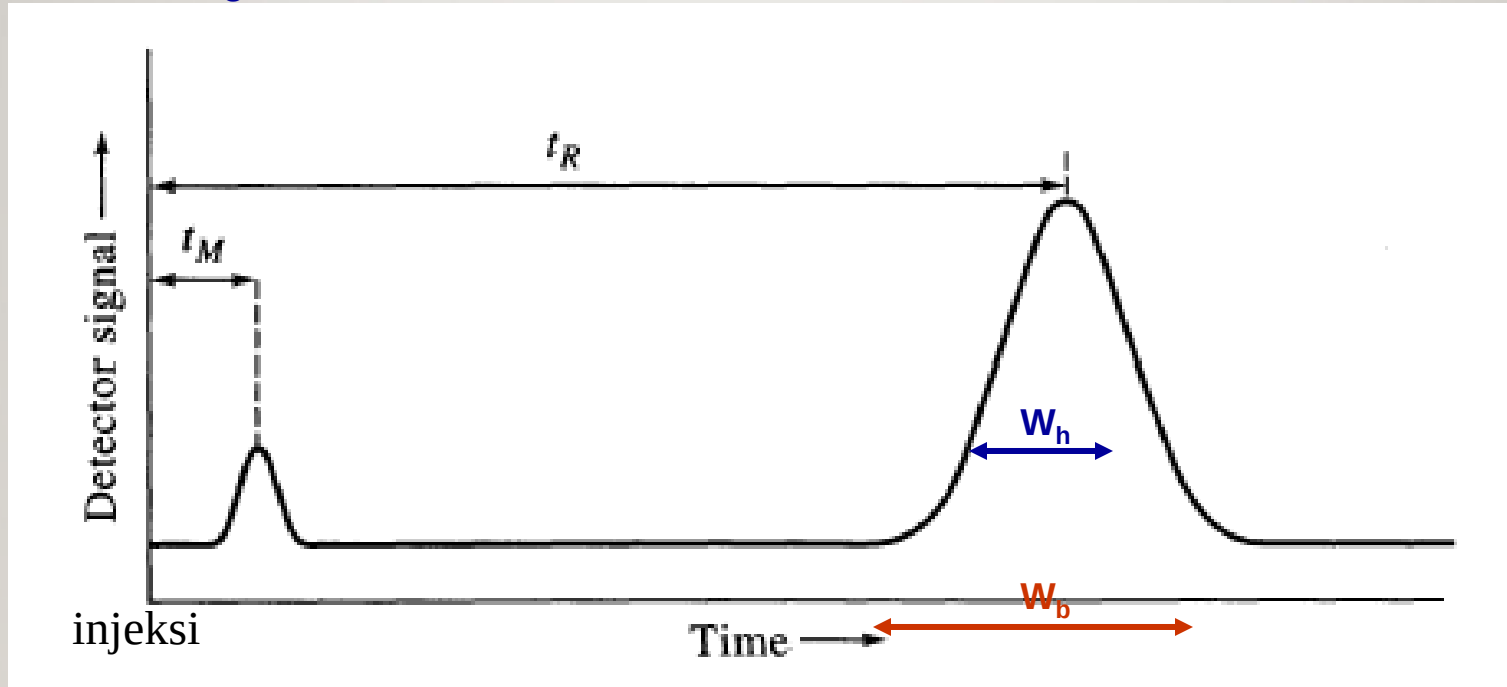
Kolom	t_R analit (menit)	$W_{1/2}$ (menit)
1	6,4	0,2
2	5,6	0,2
3	10,6	0,6

SILAHKAN
DIKERJAKAN
DIRUMAH
SEBAGAI TUGAS.
Jawaban ditulis
tangan dan
dikumpulkan
dengan diupload

Teori kromatografi

1.) jenis respons yang didapat dari kromatografi (misalnya: sebuah kromatogram):

kromatogram- konsentrasi versus aktu elusi



dimana:

t_R = waktu retensi

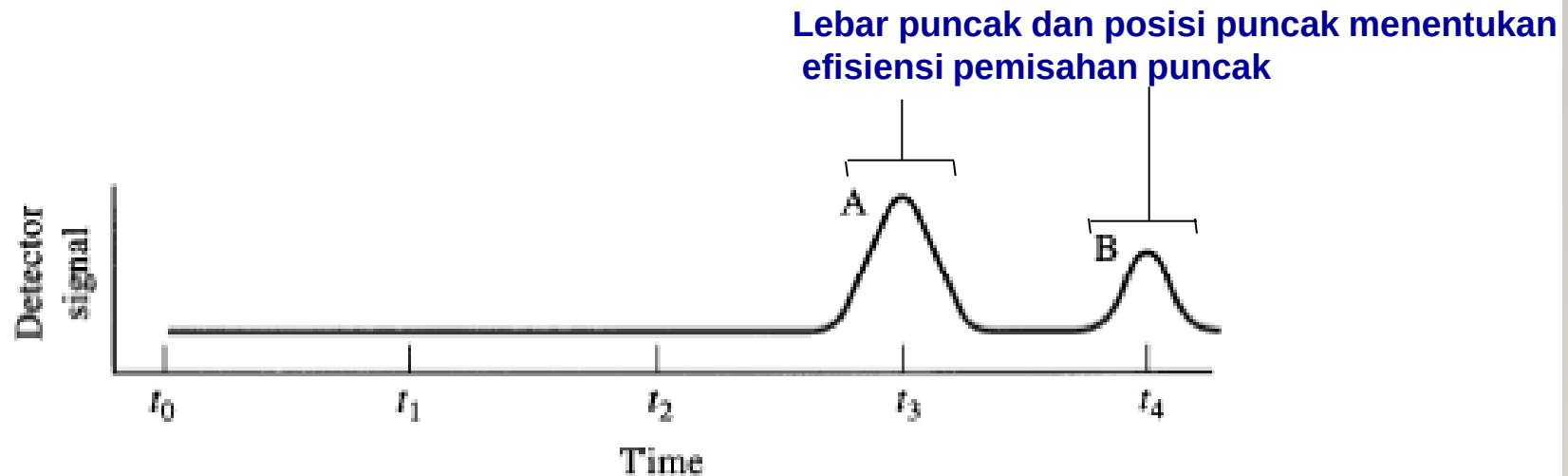
t_M = waktu kosong

W_b = lebar baseline puncak dalam satuan waktu

W_h = lebar setengah tinggi puncak dalam satuan waktu

Catatan: pemisahan analit pada kromatografi bergantung pada dua faktor:

- (a) beda waktu retensi tiap analit (misalnya: beda waktu atau volume elusi analit)
- (b) ketajaman puncak dari analit (misalnya, efisiensi sistem pemisahan yang bagus)



kurva yang sama juga bisa dibuat dengan mengganti waktu dengan volume elusi. Jika volume yang digunakan, volume fase gerak yang digunakan untuk mengelusi suatu puncak keluar dari kolom disebut sebagai volume retensi (V_R) dan jumlah fase gerak yang digunakan untuk mengelusi komponen yang tidak tertahan oleh fase diam disebut volume kosong (V_M).

2.) Retensi zat terlarut:

waktu retensi atau volume retensi analit pada kromatografi berhubungan secara langsung dengan kuat interaksi zat terlarut dengan fase diam dan fase gerak.

Retensi pada suatu kolom berhubungan dengan faktor berikut:

- ukuran kolom
- laju gerak fase diam

$$\text{average migration rate } \bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad \text{column length}$$

Faktor kapasitas (k'): secara lebih universal merupakan ukuran retensi yang ditentukan dari t_R atau V_R .

$$k' = (t_R - t_M)/t_M$$

atau

$$k' = (V_R - V_M)/V_M$$

faktor kapasitas sangat berguna untuk membandingkan hasil yang diperoleh dari berbagai sistem karena faktor kapasitas ini tidak bergantung pada panjang kolom dan laju alir.

nilai faktor kapasitas sangat berguna dalam memahami mekanisme retensi analit mengingat definisi dasar dari k' adalah:

$$k' = \frac{\text{mol } A_{\text{fase diam}}}{\text{Mol } A_{\text{fase gerak}}}$$

k' berhubungan langsung dengan kekuatan interaksi antara analit dengan fase diam dan fase gerak.

Mol $A_{\text{fase diam}}$ dan mol $A_{\text{fase gerak}}$ menunjukkan jumlah analit yang terdapat pada tiap fase pada saat kesetimbangan.

kesetimbangan tercapai pada puncak dari suatu puncak kromatogram.

Ketika k' bernilai # 1,0; pemisahan jelek
Ketika k' bernilai > 30 , pemisahan terlalu lambat
Ketika k' bernilai = 2-10, pemisahan optimum

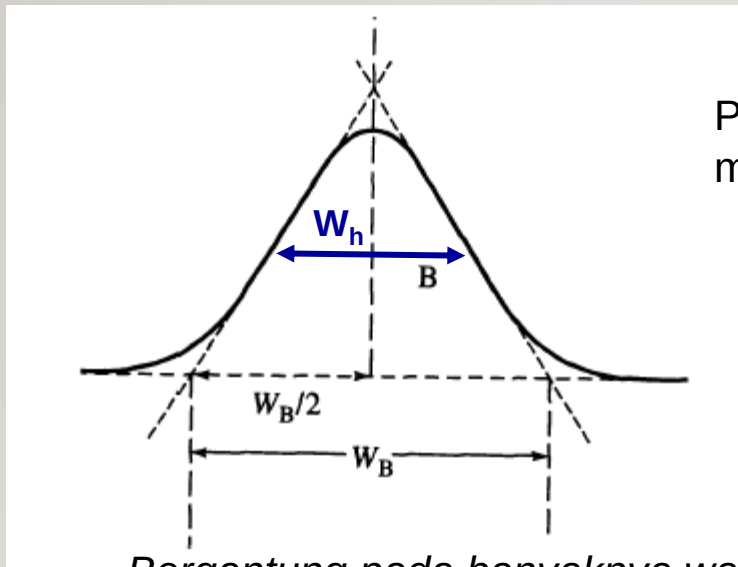
3.) efisiensi:

efisiensi berhubungan dengan lebar puncak dari analit.

- suatu sistem yang efisien akan menghasilkan puncak yang langsing
- puncak yang langsing $\rightarrow$ beda interaksi yang kecil dalam pemisahan dua zat terlarut

efisiensi secara teoritis berhubungan dengan berbagai proses kinetik yang terlibat dalam proses retensi dan perpindahan analit dalam kolom.

- menunjukkan lebar atau standart deviasi (σ) dari masing-masing puncak



Penentuan σ dari lebar puncak, dengan mengasumsikan bahwa puncak ternormalisasi :

$$W_b = 4\sigma$$

$$W_h = 2.354\sigma$$

Bergantung pada banyaknya waktu yang analit habiskan dalam kolom (k' atau t_R)

Jumlah lapisan teoritis (N): menunjukkan perbandingan efisiensi suatu sistem untuk analit-analit yang memiliki waktu retensi yang berbeda.

$$N = (t_R/\sigma)^2$$

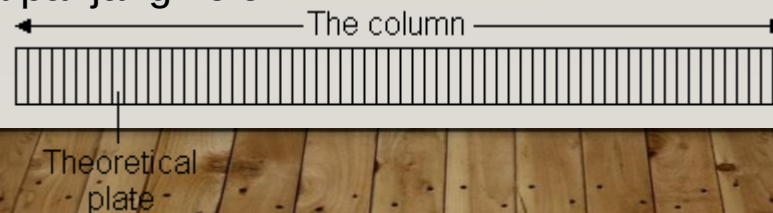
atau untuk puncak ternormalisasi

$$N = 16 (t_R/W_b)^2$$

$$N = 5.54 (t_R/W_h)^2$$

Semakin besar nilai N suatu kolom, semakin bagus pemisahan yang dilakukan pada dua senyawa.

- semakin bagus kemampuannya dalam memisahkan analit-analit yang memiliki beda retensi yang kecil.
- N bergantung pada retensi zat terlarut.
- N bergantung pada panjang kolom



Tinggi lapisan atau tinggi ekuivalen suatu lapisan teoritik (H atau HETP): menunjukkan perbandingan kolom-kolom yang memiliki panjang yang berbeda:

$$H = L/N$$

dimana: L = panjang kolom

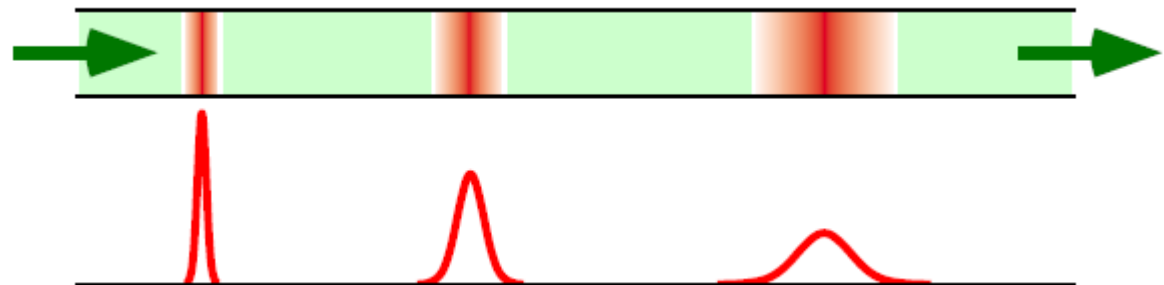
N = jumlah lapisan lapisan teoritis untuk kolom tertentu

Catatan: H secara sederhana menunjukkan panjang dari satu lapisan teoritik.

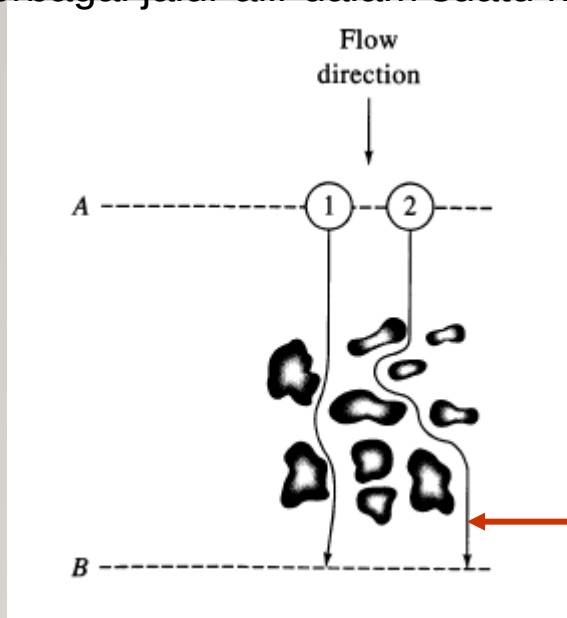
H dapat juga digunakan untuk menghubungkan berbagai parameter kromatografi (misalnya: laju alir, ukuran partikel, dll) dengan proses kinetik yang menghasilkan pelebaran puncak:

Mengapa puncak dapat mengalami pelebaran?

- a. Difusi Eddy
- b. Transfer massa fase gerak
- c. Transfer massa fase gerak stagnan
- d. Transfer massa fase diam
- e. difusi longitudinal

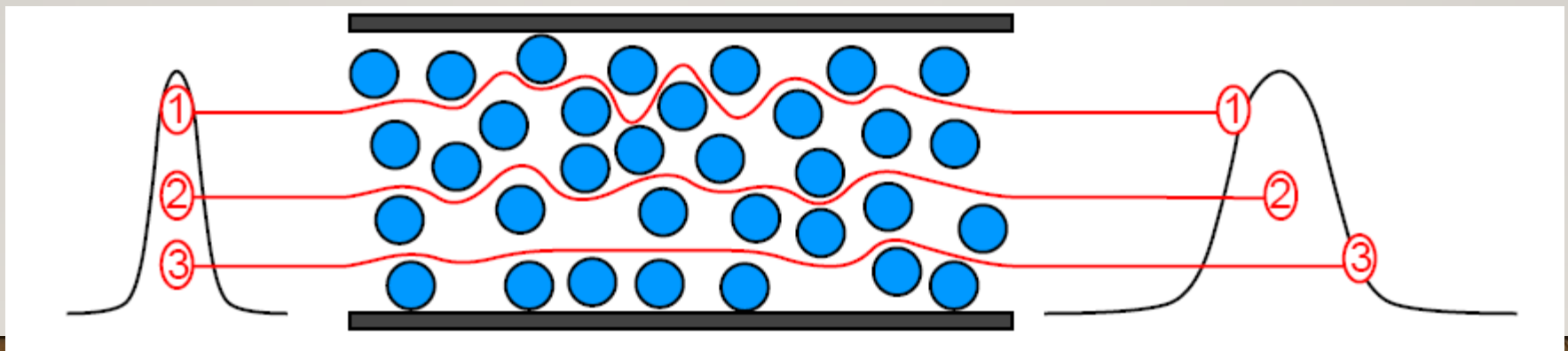


a.) **difusi Eddy**— suatu proses yang menyebabkan pelebaran puncak akibat keberadaan berbagai jalur alir dalam suatu kolom paking.

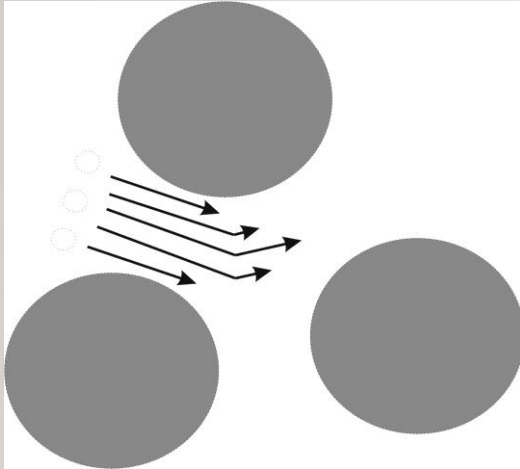


Ketika analit berpindah melewati suatu kolom, masing-masing zat terlarut akan sampai lebih cepat dibandingkan yang lain akibat perbedaan jalur yang ditempuh

Jalur yang lebih panjang tiba diujung kolom setelah (1)



b.) transfer massa fase gerak– suatu proses pelebaran puncak yang disebabkan oleh perbedaan profil aliran di dalam kolom atau di antara partikel penyokong di dalam kolom.

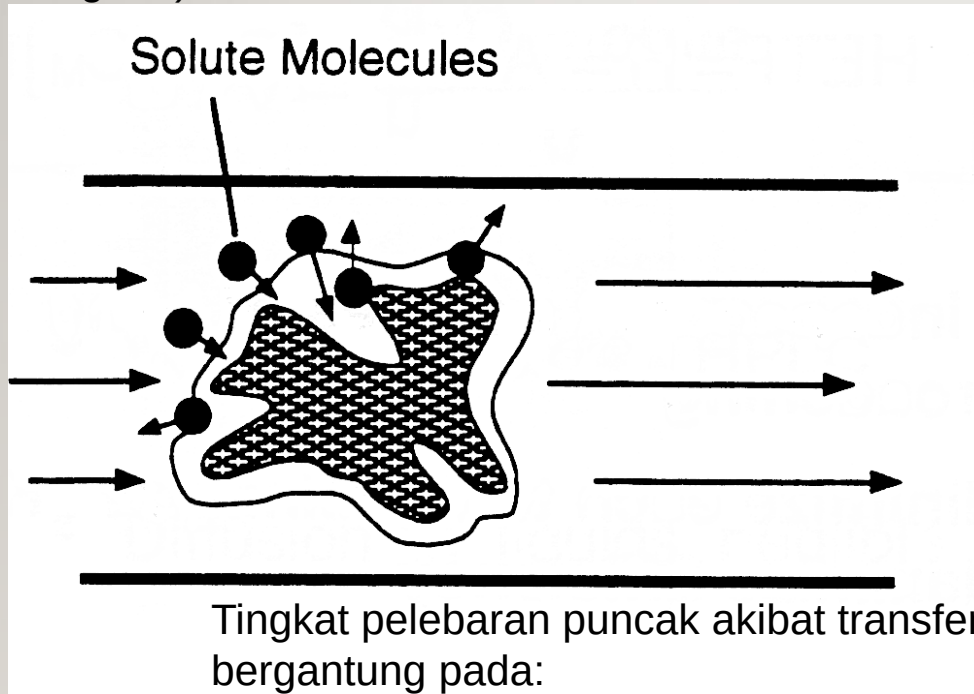


Analit di bagian tengah kolom akan bergerak lebih cepat dibandingkan dengan bagian pinggir sehingga mengakibatkan pelebaran puncak.

Derajat pelebaran akibat difusi eddy dan transfer massa fase gerak bergantung pada:

- 1) ukuran material penyokong
- 2) laju difusi analit

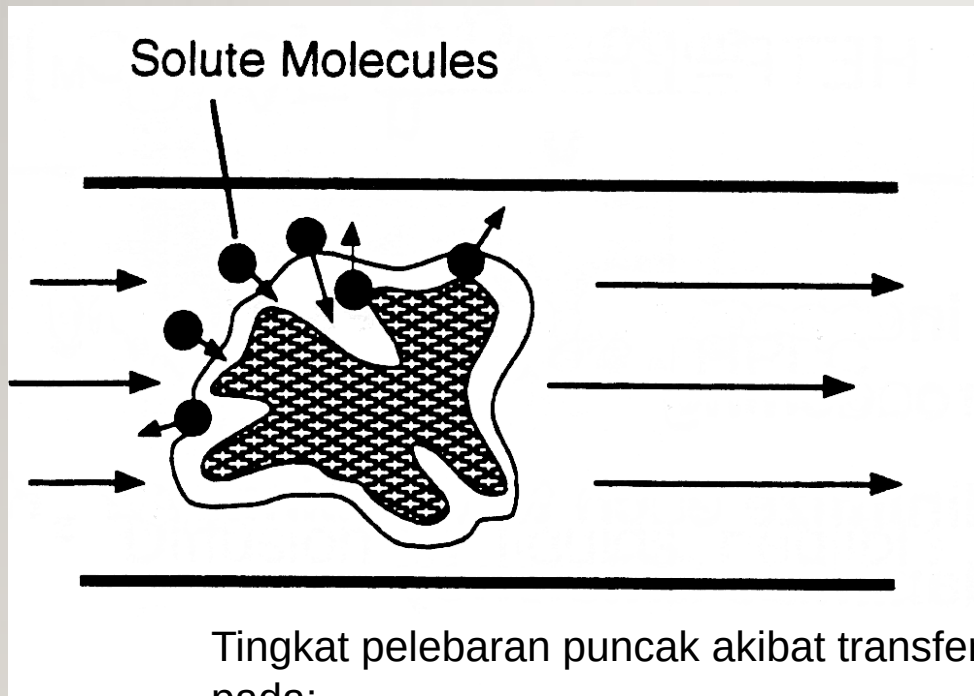
c.) transfer massa fase gerak stagnan— pelebaran puncak akibat perbedaan laju difusi dari molekul analit yang berada antara fase gerak dibagian luar pori material penyokong (fase gerak yang mengalir) ke fase gerak yang ada di dalam pori material penyokong (fase gerak stagnan).



ketika berada di fase gerak stagnan, analit ini akan menghabiskan waktu yang lebih lama di dalam kolom dibandingkan dengan analit yang berada pada fase gerak mengalir.

- 1) ukuran, bentuk, dan struktur pori pada material penyokong
- 2) difusi dan retensi analit
- 3) laju alir analit melalui kolom

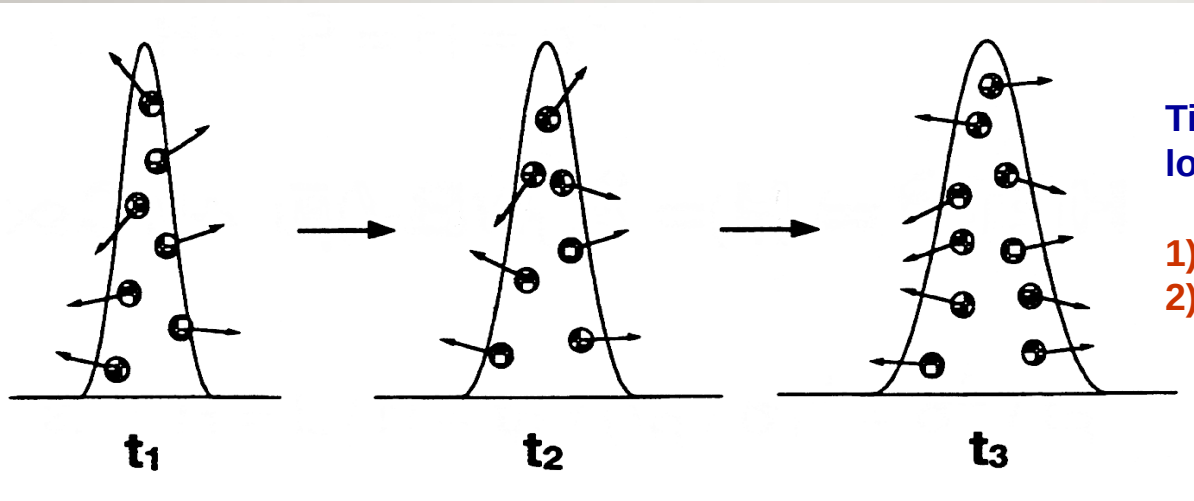
d.) transfer massa fase diam— pelebaran puncak akibat pergerakan zat terlarut antara fase gerak stagnan dan fase diam.



Waktu kesetimbangan yang berbeda2 untuk tiap zat terlarut pada fase diam mengakibatkan terjadinya perbedaan waktu retensi dari tiap molekul sehingga mengakibatkan pelebaran puncak.

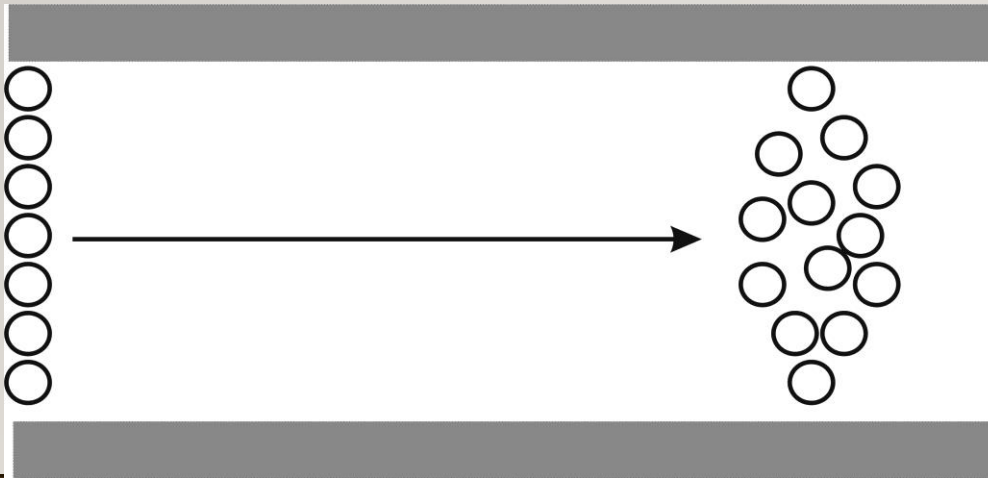
- 1) retensi dan difusi zat terlarut
- 2) laju alir zat terlarut melalui kolom
- 3) interaksi kinetik antara zat terlarut dan fase diam

e.) *difusi longitudinal*– pelebaran puncak akibat difusi zat terlarut searah atau berlawanan arah dengan arah aliran fase diam.



Tingkat pelebaran akibat difusi longitudinal bergantung pada:

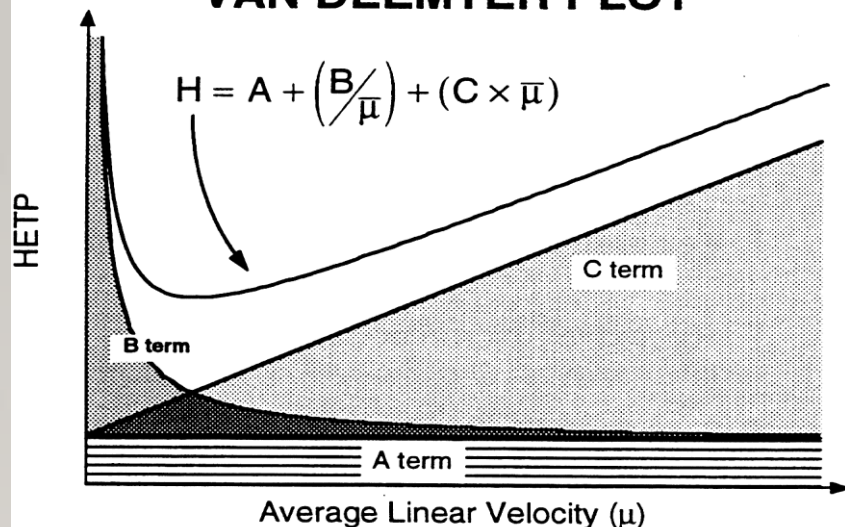
- 1) Difusi zat terlarut
- 2) Laju alir zat terlarut melalui kolom



Persamaan Van Deemter : persamaan yang menunjukkan hubungan antara laju alir (kecepatan linier fase gerak) dengan H:

$$H = A + B/\mu + C\mu$$

VAN DEEMTER PLOT



μ = kecepatan linier (laju alir $\times V_m/L$)

H = total tinggi lapisan pada kolom

A = konstanta difusi eddy dan transfer massa fase gerak

B = konstanta difusi longitudinal

C = konstanta transfer massa fase gerak stagnan dan transfer massa fase diam

persamaan ini dapat digunakan untuk memprediksi efek apa yang mempengaruhi keseluruhan sistem kromatografi

Number of theoretical plates(N)

$$(N) = 5.54 (t_R/W_h)^2$$

peak width (W_h)

$$H = L/N$$

4.) Ukuran Pemisahan Analit

Faktor pemisahan (α) – merupakan paramete yang digunakan untuk menggambarkan seberapa baik pemisahan dua analit yang dipisahkan dalam suatu sistem kromatografi. :

$$\alpha = k'_2/k'_1 \quad k' = (t_R - t_M)/t_M$$

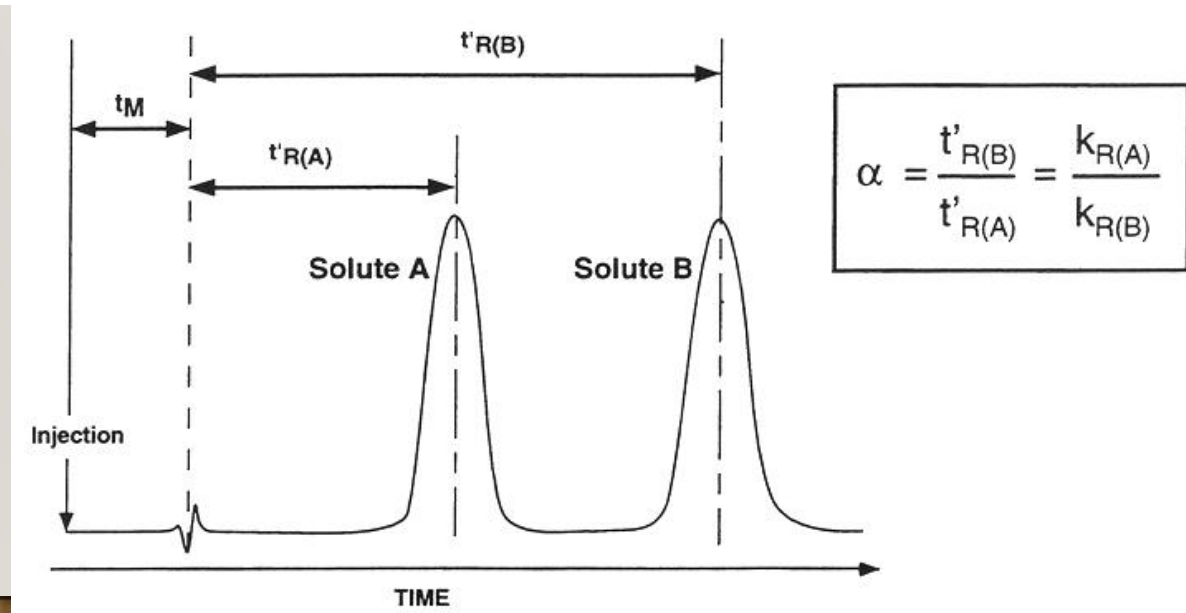
dimana:

k'_1 = faktor kapasitas analit pertama

k'_2 = faktor kapasitas analit kedua

dimana $k'_2 > k'_1$

Nilai $\alpha > 1$ biasanya menunjukkan pemisahan yang bagus.



*Parameter ini tidak mempertimbangkan efek efisiensi kolom atau lebar puncak.
Hanya mempertimbangkan retensi analit*

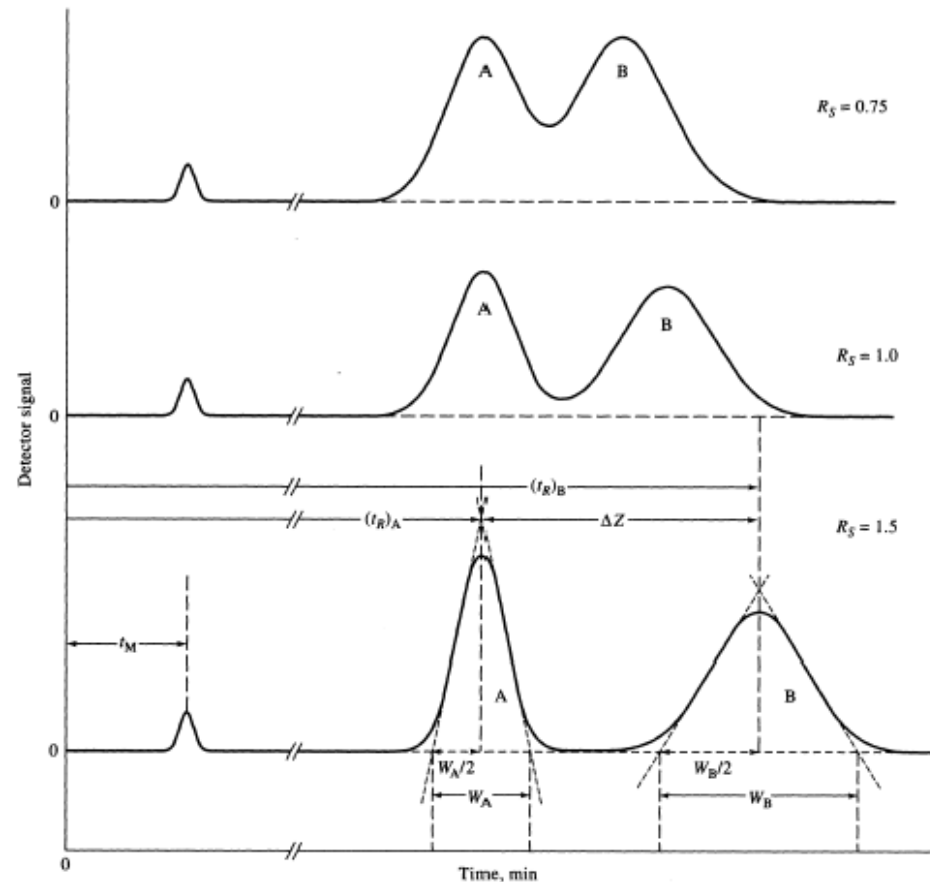
Resolusi (R_S) – resolusi antara dua puncak merupakan ukuran kedua untuk menunjukkan seberapa baik pemisahan yang dilakukan :

$$R_S = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{(W_{b2} + W_{b1})/2}$$

dimana

t_{r1} , W_{b1} = waktu retensi dan lebar dasar untuk analit pertama

t_{r2} , W_{b2} = waktu retensi dan lebar dasar untuk analit



$R_S > 1.5$ menunjukkan pemisahan total dari dua puncak analit → kasus ideal.

$R_S > 1.0$ biasanya dianggap cukup untuk sebagian besar pemisahan

KROMATOGRAFI KLT & KOLOM TERBUKA

KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

PADA KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS, TERDAPAT LAPISAN TIPIS (TEBAL 0.1-2 MM) YANG TERDIRI ATAS BAHAN PADAT YANG DILAPISKAN KEPADA PERMUKAAN PENYANGGA DATAR (PLAT), YANG BIASANYA TERBUAT DARI KACA, TETAPI DAPAT PULA TERBUAT DARI PLAT POLIMER (PLASTIK) ATAU LOGAM

DIKEMBANGKAN TAHUN 1938 OLEH ISMAILOFF DAN SCHRAIBER

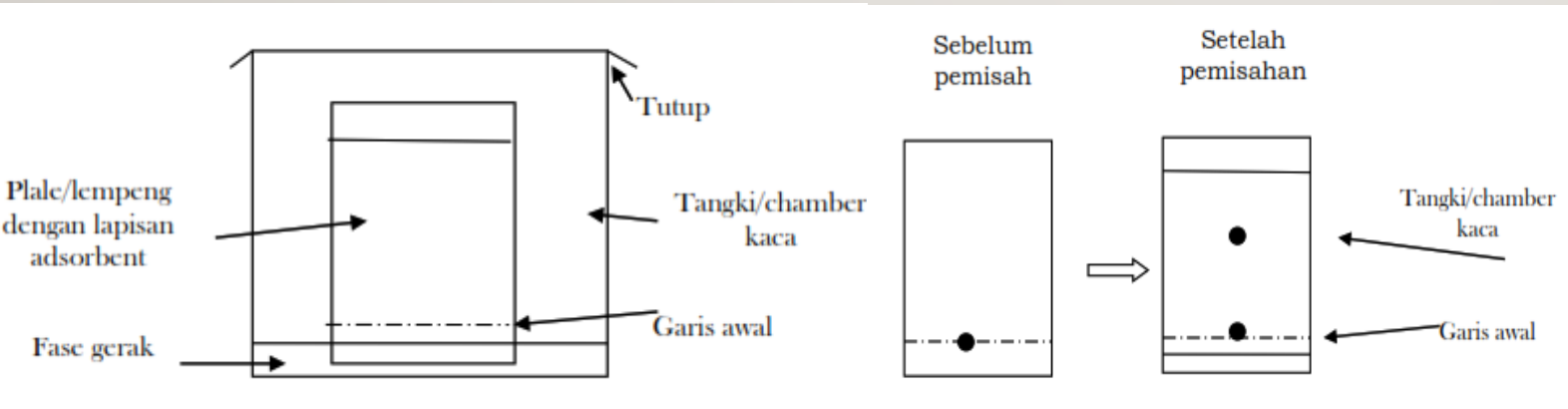


PRINSIP

- Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi **planar**, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. KLT merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui suatu **lempeng kromatografi** lalu melihat komponen/analit yang terpisah dengan penyemprotan atau pengecatan
- Pada proses pemisahan dengan kromatografi lapis tipis, terjadi hubungan kesetimbangan antara fase diam dan fasa gerak, dimana ada interaksi antara permukaan fase diam dengan gugus fungsi senyawa organik yang akan diidentifikasi yang telah berinteraksi dengan fasa geraknya
- Kesetimbangan ini dipengaruhi oleh 3 faktor, yaitu : **kepolaran fase diam, kepolaran fase gerak, serta kepolaran dan ukuran molekul.**

APA BEDANYA DENGAN KROMATOGRAFI KERTAS?

- Pada dasarnya kromatografi lapis tipis (KLT atau TLC = Thin layer Chromatography) sangat mirip dengan kromatografi kertas, terutama pada cara melakukannya. Perbedaan nyata terlihat pada media pemisahannya, yakni digunakan **lapisan tipis adsorben halus** yang tersangga pada papan kaca, aluminium atau plastic sebagai pengganti kertas. Lapisan tipis adsorben ini pada proses pemisahan berlaku sebagai fasa diam.



APA KELEBIHAN DAN KEKURANGANNYA DIBANDING KROMATOGRAFI KERTAS?

KLT

Lebih serbaguna
dibanding kromatografi
kertas, pemisahan
komponen senyawa
lebih sempurna

Pembuatannya
memerlukan waktu
kecuali bila telah
tersedia secara
komersial

KKT

Hanya untuk senyawa
senyawa terbatas

Pembuatan fase diam
lebih sederhana

FAKTOR FAKTOR YANG MEMENGARUHI GERAKAN MEDIA DALAM KLT

- **Struktur kimia dan senyawa** yang dipisahkan
- Sifat dari penyerap dan **derajat aktifitasnya**
- **Suhu dan kesetimbangan**
- **Pelarut dan derajat kemurnian** fase bergerak
- **Derajat kejenuhan**

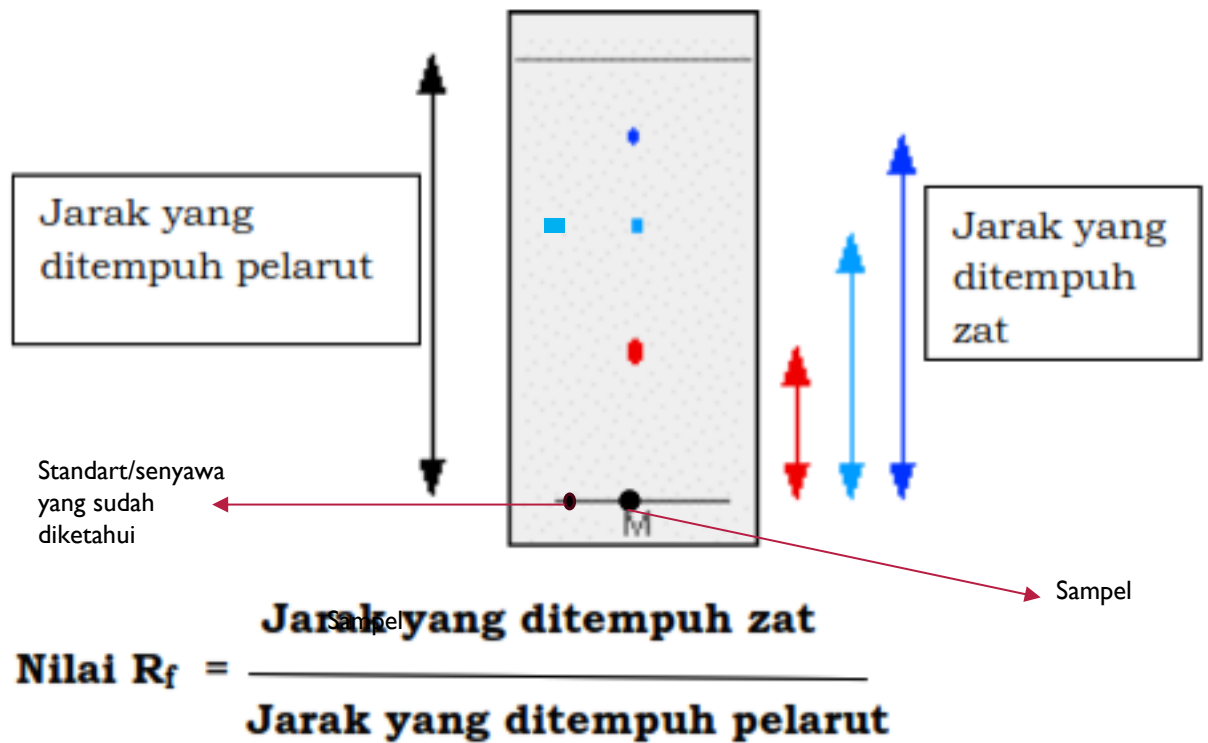
Waktu Faktor Retardasi (RF)

Faktor retardasi (Retardation faktor= R_f) merupakan faktor yang digunakan untuk dapat menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai R_f menyatakan posisi noda pada fase diam setelah mengalami elusi

Pada KLT, identifikasi senyawa dapat dilakukan dengan menghitung harga R_f (**R_f pembanding vs R_f sampel**). Faktor retardasi didefinisikan sebagai fraksi analit dalam fase gerak suatu sistem kromatografi. Pada kromatografi planar, R_f didefinisikan sebagai rasio jarak yang ditempuh noda terhadap jarak yang ditempuh pelarut.

Harga R_f dipengaruhi oleh :

1. **Struktur kimia** dari senyawa yang sedang dipisahkan
2. **Sifat penyerap dan derajat aktivitasnya**
3. **Tebal dan kerataan** dari lapisan penyerap
4. **Pelarut** (dan derajat kemurniannya) fasa bergerak
5. **Derajat kejenuhan** dalam uap
6. **Suhu**
7. **Kesetimbangan**

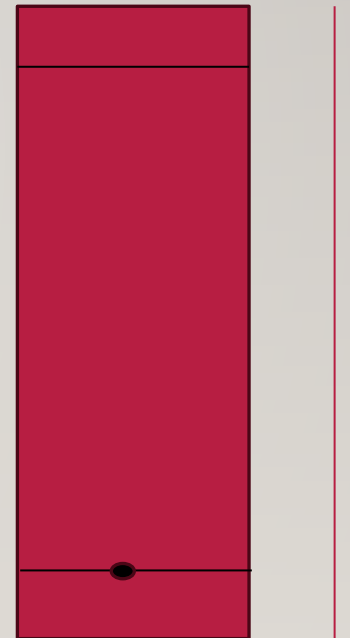


Kode Komponen	Jarak Komponen
IBU	13 cm
CAF	5 cm
PAR	10 cm
ASP	14 cm
X1	5 cm
X2	10 cm

Perhatikan data hasil pemisahan komponen obat menggunakan kromatoplat **sepanjang 17 cm yang dibatas 1 cm pada kedua ujungnya** sebagai tanda untuk penotolan sampel dan batas pelarut pada tabel di atas!

Nilai Rf yang tepat berdasarkan data tersebut adalah ...

- a. Rf X1 0,33 dan Rf X2 0,67
- b. Rf X1 0,38 dan Rf X2 0,77
- c. Rf X1 0,36 dan Rf X2 0,71
- d. Rf X1 0,31 dan Rf X2 0,63
- e. Rf X1 0,29 dan Rf X2 0,59





Perhatikan gambar berikut;
Keterangan (dari kiri ke kanan)

*IBU : Baku **ibuprofen** 100ppm*

*CAF : Baku **kafein** 100ppm*

U : Sampel Obat Sakit Kepala

*PAR : Baku **parasetamol** 100ppm*

*ASP : Baku **aspirin** 100ppm*

Pernyataan yang tepat berkaitan dengan gambar tersebut adalah

- a. Sampel mengandung parasetamol dan kafein dalam jumlah sama
- b. Sampel sama sekali tidak mengandung ibuprofen dan aspirin
- c. Sampel mengandung parasetamol dan kafein dalam jumlah berbeda
- d. Sampel mengandung parasetamol sebanyak 100 ppm
- e. Sampel mengandung kafein sebanyak 100 ppm

SYARAT PLAT KLT

Syarat plat yang baik:

- Harus bersifat inert
- Terbuat dari kaca, aluminium, dan plastik
- Pemilihan berdasarkan temperatur operasi
- dan jenis pelarut

Fasa Diam (adsorben/lapisan penyerap)

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya.

Fase diam yang biasa digunakan

Silika gel

- Alumina
- Magnesium Trisilikat
- Kalsium Sulfat (K_2SO_4)
- Kieselghur
- Selulosa

Sifat-sifat dasar beberapa adsorben untuk TLC

Adsorben	Keasaman	Aktivitas	Efek Pemisahan	Senyawa Yang Dapat Dipisahkan
Silika gel	Asam	Aktif	Adsorpsi + Partisi	Hampir semua zat
Alumina	Basis	Aktif	Adsorpsi + Partisi	Steroid, senyawa bersifat basis
Magnesium Trisilikat	-	Lemah	Adsorpsi	Karotenoid, tokoferol
Kalsium Sulfat (K_2SO_4)	-	Lemah	Adsorpsi	Asam lemak, gliserida
Kieselghur	Netral	Inaktif	Partisi	Gula, farmasetika

BAGAIMANA MEMBUAT FASE DIAM?

- ❑ PENYERAP DITUANGKAN DIATAS PERMUKAAN PLAT YANG KONDISI BENTUKNYA BAIK, BIASANYA DIGUNAKAN PLAT KACA / ALUMINIUM.
- ❑ UKURAN YANG DIGUNAKAN TERGANTUNG PADA JENIS DARI PEMISAHAN YANG AKAN DILAKUKAN DAN JENIS DARI BEJANA KROMATOGRafi. SERINGKALI BENTUK PLAT KACA / ALUMINIUM DIJUAL DENGAN UKURAN 20 X 5 CM ATAU 20 X 20 CM, DUA UKURAN INI DIANGGAP SEBAGAI “STANDARD”.
- ❑ HAL YANG PENTING PENTING YAITU BAHWA PERMUKAAN DARI PLAT HARUS RATA.
- ❑ PLAT -PLAT KACA / ALUMINIUM SEBELUM DIPAKAI DICUCI TERLEBIH DAHULU DENGAN AIR DAN DETERGENT KEMUDIAN DIKERINGKAN. TERAKHIR, DAPAT DICUCI DENGAN ASETON, TETAPI HAL INI TIDAK MESTI DILAKUKAN
- ❑ SATU HAL YANG PERLU DIPERHATIKAN JANGAN MENYENTUH PERMUKAAN DARI PLAT YANG BERSIH DENGAN JARI TANGAN KARENA BEKAS JARI TANGAN YANG MENEMPEL AKAN MERUBAH TEBAL DARI PERMUKAAN PENYERAP PADA PLAT.



DO YOU KNOW HOW TO MAKE AN ADSORBER?

- ❖ bahan penyerap dicampur dengan air sampai menjadi bubur, biasanya dengan perbandingan x gram penyerap dan $2x$ ml air.
- ❖ Bubur diaduk sampai rata dan dituangkan diatas plat dengan berbagai cara.
- ❖ Tebal lapisan merupakan faktor yang paling penting dalam kromatografi lapisan tipis. Tebal standard adalah 250 micron (250×10^{-6} meter)
- ❖ Lapisan-lapisan yang lebih tebal (0.5 - 2.0 mm) digunakan untuk pemisahan-pemisahan yang sifatnya besar, dengan menggunakan penyerap hingga 250 mg untuk plat dengan ukuran 20 x 20 cm.
- ❖ Kalau lebih tebal dapat mengelupas.

[See Video](#)

GAMBAR PLAT PENDUKUNG

Plat Kertas



Plat kaca



MUDAH BUKAN MEMBUATNYA?

DI BAWAH INI SUDAH ADA YANG SIAP PAKAI

Penyerap	Medium bubur penyerap	Perbandingan, gram dalam ml
Silika gel	Metilena klorida : methanol (2:2, v/v)	35 gr dalam 100 ml
Serbuk selulosa	Metilena klorida : methanol (50:50, v/v)	50 gr dalam 100 ml
Alumina	Metilena klorida : methanol (70:30, v/v)	60 gr dalam 100 ml

BERIKUT INI DAFTAR DAFTAR SENYAWA BESERTA FASE DIAM YANG COCOK UNTUK PEMISAHAN

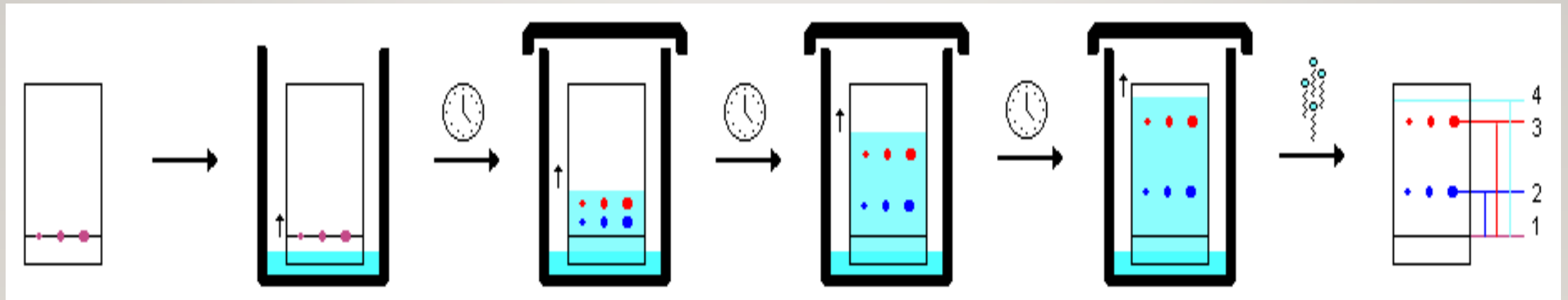
Zat padat	Digunakan untuk memisahkan
Silika	Asam- asam amino, alkaloid, gula, asam-asam lemak, lipida, minyak esensial, anion, dan kation organik, sterol, terpenoid.
Alumina	Alkaloid, zat warna, fenol, steroid, vitamin-vitamin, karoten, asam-asam amino
Kieselguhr	Gula, oligosakarida, asam- asam lemak, trigliserida, asam -asam amino, steroid.
Bubuk selulosa	Asam-asam amino, alkaloid, nukleotida
Pati	Asam-asam amino
Sephadex	Asam-asam amino, protein

MEKANISME PEMISAHAN

- ❖ Potong plat sesuai ukuran. Biasanya untuk satu spot menggunakan plat selebar 1 cm.
- ❖ Buat garis dasar (base line) di bagian bawah, sekitar 0,5 cm dari ujung bawah plat, dan garis akhir di bagian atas.
- ❖ Bubuhkan zat yang akan dipisahkan tepat di atas base line. (jika zat itu padat, larutkan dulu ya!)
- ❖ Siapkan fase bergerak dalam wadah (gunakan chamber!)
- ❖ Tempatkan plat pada chamber berisi eluen. Base line jangan sampai tercelup oleh eluen.
- ❖ Chamber jangan lupa ditutup ya!
- ❖ Tunggu eluen sampai bermigrasi sampai mencapai garis akhir! Dari sini telah tampak pemisahan yang terjadi
- ❖ Setelah eluen mencapai garis akhir, angkat plat dengan pinset,
- ❖ Keringkan dan ukur jarak spot. (kalau spot tidak kelihatan, semprot dengan pewarna tertentu!)



GAMBARAN SINGKAT MEKANISME PEMISAHAN



See video

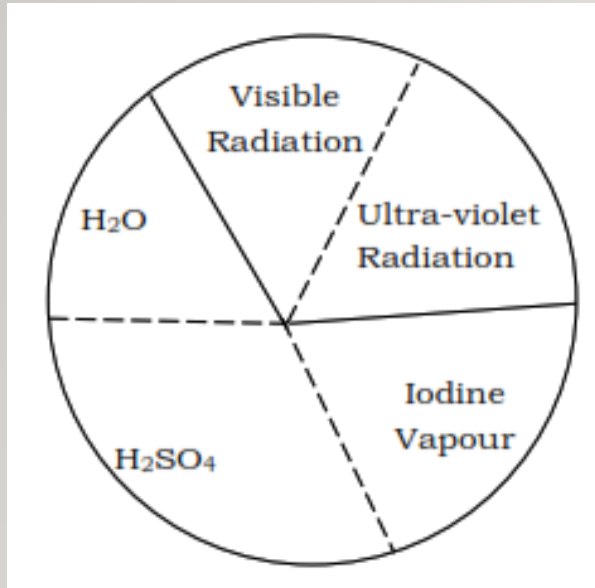
FASE GERAK

- Petroleum eter
- Petroleum dietileter
- Metanol
- Etil asetat
- Kloroform CHCl_3 / 119,38
- Asetonitril
- Benzena C_6H_6 / 78,11
- Karbon tetraklorida CCl_4 / 153,82

Bagaimana mendapatkan komposisi fase gerak (eluen) yang baik untuk KLT????

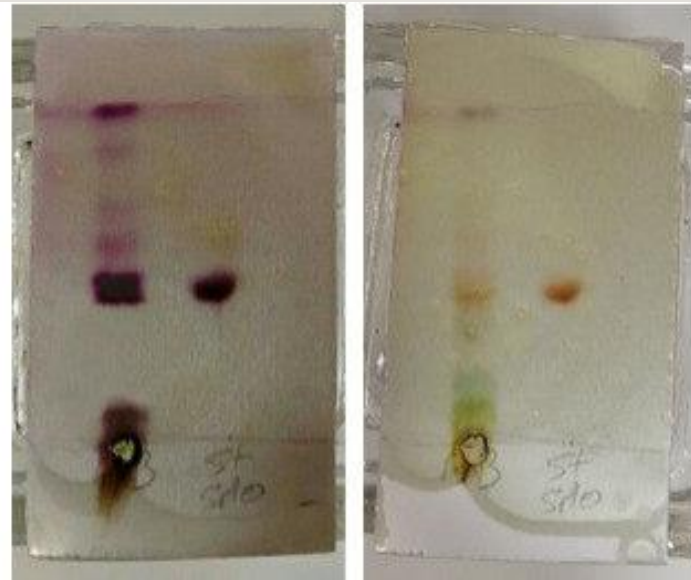
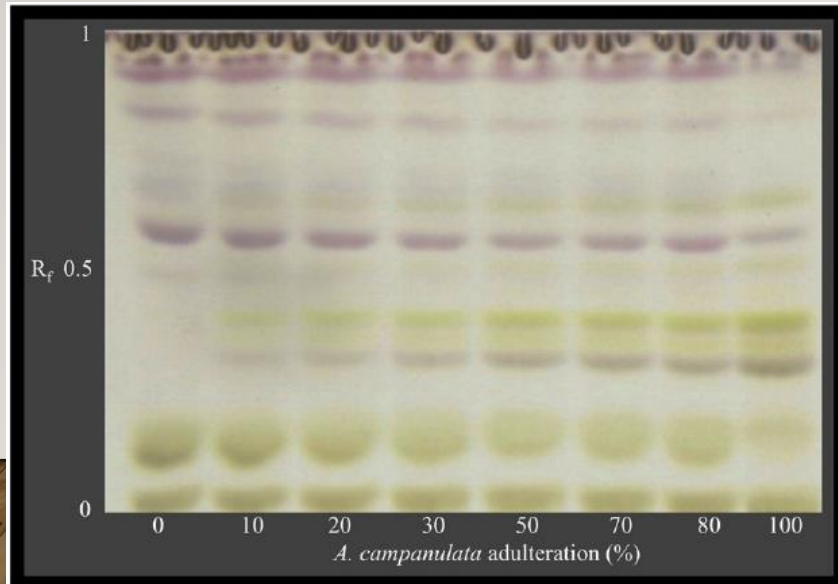
1. Cari di pustaka (jika ada)
2. Jika tidak ada, cari yang sifatnya mirip
3. Jika tidak ada yang mirip lakukan percobaan
 - a. Lakukan eluasi dengan fase gerak paling non polar
 - b. Lakukan kenaikan kepolaran secara gradien
 - c. Evaluasi hasil, dan tentukan komposisi yang paling baik

PEWARNAAN/VISUALISASI BERCAK (SPOT) KLT



Visualisasi :

- Non destruktif (UV, uap iodine)
- Desktruktif (H_2SO_4 , kalium dikromat 5% dalam asam sulfat 40%.)



TLC plate of hexane extract sprayed with vanillin-sulphuric acid reagen

Agen-agen visualisasi destruktif

Sampel	Pelarut (Reagen)	Prosedur	Hasil
Alcohol	Ammonium Cerik Nitrat	Larutkan reagen (6 g) dalam 100 cm ³ HNO ₃ 4 M Keringkan plat selama 5 min pada suhu 105 °C. dinginkan sebelum penyemprotan	Poli alcohol menunjukkan spot berwarna coklat pada dasar kuning
Alcohol (asam empedu dan steroid)	Vanilin Asam Sulfat	Larutkan 3 g vanillin dalam 100 cm ³ ethanol. Tambahkan 0,5 cm ³ asam sulfat kons, dikocok dengan stirrer. Semprotkan dan panaskan pada suhu 120 °C	Alcohol yang lebih tinggi dan keton memberikan warna spot biru-hijau
Aldehyd dan keton	2,4/dinitro-phenylhydrazine	Larutkan 0,4 g reagent dalam 100 cm ³ HCL 2 M	Spot kuning/merah
Alkaloid	Kobalt (II) thiosianat	Larutkan 3g ammonium thiosianat dan 1 g kobalt (II) klorida di dalam 20 cm ³ air	Spot biru pada dasar putih/pink
Alkalodi (Antihistamin, siklohexylamin, lactam)	Dragendorff (modif. Munir) Modifikasi	Larutkan 1,7g bismuth subnitrat dan 20g asam tartaric dalam 80 cm ³ air – Larutan (a) Larutkan 16g kalium iodide didalam 40 cm ³ air-lar. (b). semprotkan reagen yang disiapkan oleh campuran lar. (a) dan lar (b) dengan volume sama. Ambil 5ml dari larutan ini dan campur dengan larutan dari 10 g asam tartaric dalam 50 cm ³ air.	Macam-macam warna
Asam amino (juga kelompok amina)	Ninhydrin	Larutkan 0,20g ninhidrin dalam 100 cm ³ butan-1-ol- Larutan (a) Larutan asam asetat akuatik 10%- Larutan (b). semprotkan campuran larutan (a) dan (b) (95:5). Panaskan	Spot pink-merah pada latar belakang putih

Amina	Alizarin	pada suhu 100 °C Larutkan 0,10g alizarin dalam 100 cm ³ ethanol	Alipatik amina dan amino alcohol memberikan spot ungu pada latar belakang kuning pucat
Barbiturat	s-Diphenylkarbazon	Larutkan 0,10g s-diphenylkarbazin dalam 100 cm ³ ethanol 95%	Spot ungu
Karbohidrat	p-anisaldehyd	Larutkan 1 cm ³ p-anisaldehyd dan 1 cm ³ H ₂ SO ₄ kons. Dalam 18 cm ³ ethanol. Semprot dan panaskan pada suhu 110 °C.	Gula phenylhydrazon memberikan warna spot hijau-kuning
Asam –asam karboksilat	p-anisidin-asam ptalat	Larutkan 1,23 g p-anisidin dan 1,66g asam ptalat dalam 100 cm ³ methanol	Aldoheksosa hijau, pentose merah-ungu, methylpentosa kuning/hijau, asam uronat coklat
Ester dan amida	Bromocresol hijau	Larutkan 0,04g reagent dalam 100 cm ³ ethanol. Tambahkan NaOH 1M hingga muncul warna biru	Spot kuning pada latar belakang hijau
Lemak	Hydroxylami/Besi nitrat	Larutkan 1g hydroksilamin hidroklorid dalam 9 cm ³ air –lar. (a). larutkan 2g natrium hidroksida dalam 8 cm ³ air-Lar.(b). Larutkan 4g besi nitrat dalam 60 cm ³ air dan 40 cm ³ asam asetat – Lar. (c). semprot dengan campuran satu volume lar. (a) dan satu volume lar.(b). keringkan pada suhu 110 °C selama 10 min. semprot dengan campuran 45 1 cm ³ larutan (c) dan 61 cm ³ HCL kons.	Spot berwarna

Lemak	Rhodamin B	Larutkan 0,05g rhodamin B dalam ethanol-Lar (a) Hydrogen peroksida 3% -Lar. (b) KOH 10 M-Lar.(C). semprot plat dengan larutan (A). amati dengan mata langsung dan dengan pengamatan radiasi UV. Semprot dengan lar. (C) untuk memperjelas warna	Fluorescens merah cerah Trigliserida menghasilkan spot putih cerah pada latar belakang pink-merah
Phosfolipid	Rhodamin B	Semprot deng lar. (a) dan kemudian dengan lar. (c).	Phosfolipid mengandung cholin memberikan warna oranye
Pestisida	Dragendorff's reagent	Larutan bismuth nitrat 17% dalam asam asetat akuatis 20%-lar.(s). kalium iodide aquatic 40%-lar.(b). Air – lar. (c). semprot dengan lar (a): (b) (c) : 4: 1: 14.	Pestisida berklor memberikan bermacam warna
Phenol	Diphenylamine:zinc	Larut 0,5g diphenylamine dan 0,5g zinc klorida dalam aseton 100 cm ³ . semprot dan panaskan pada 200 °C selama 5 menit .	Organoposfat dan triyain memberikan warna spot hijau
Steroid	Brilliant hijau	Larutkan 0,5g brilliant hijau dalam 100 cm ³ propanon. Semprot dan plat diekspose pada uap bromine.	Spot bermacam-macam warna pada latar belakang pink
	Ammonium vanadat: anisidin	Jenuhkan air dengan ammonium vanadat-lar. (a). Larutkan 0,5g p-anisidin dalam 2 cm ³ H ₃₂ PO ₄ kons., encerkan dengan 100 cm ³ ethanol kemudian saring-lar. (b). semprot dengan lar. (a), sementara plat masih basah, semprot dengan lar. (b). panaskan pada suhu 80 °C .	Bermacam-macam warna

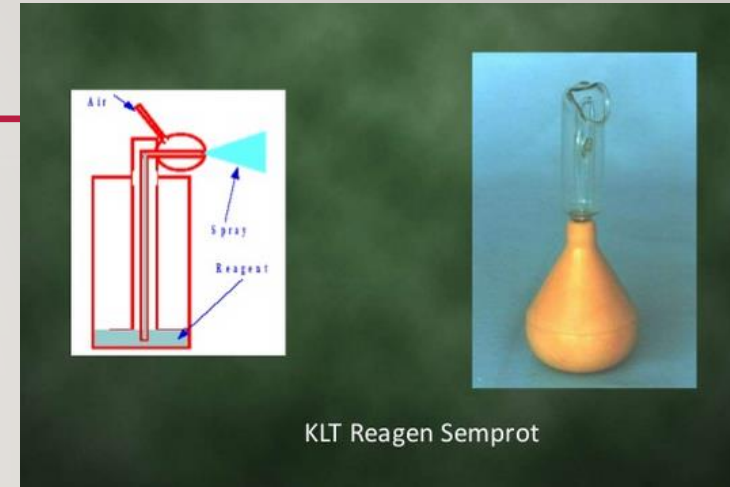
PENAMPAK BERCAK KIMIA

BERDASARKAN SIFATNYA

- PERMANEN : ASAM SULFAT PEKAT DAN NINHIDRIN
- SEMENTARA : UAP IODIUM

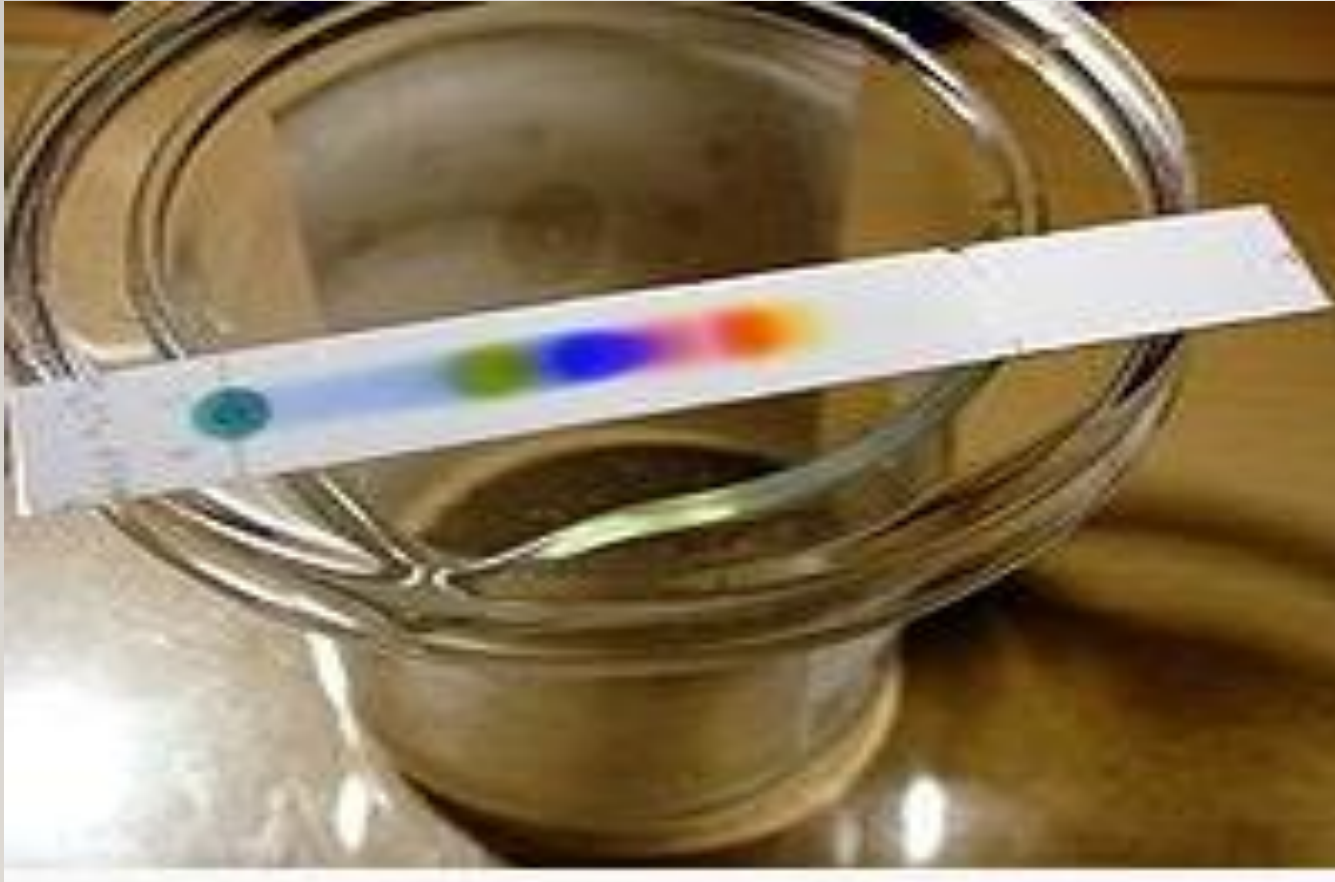
BERDASARKAN SPESIFIKASINYA

- SPESIFIK : NINHIDRIN UNTUK ZAT DENGAN ATOM N (PROTEIN, ALKALOID, DLL)
- UMUM : UAP IODIUM, ASAM SULFAT PEKAT (HAMPIR SEMUA ZA



Lemari Semprot untuk Asam Sulfuric Semprot

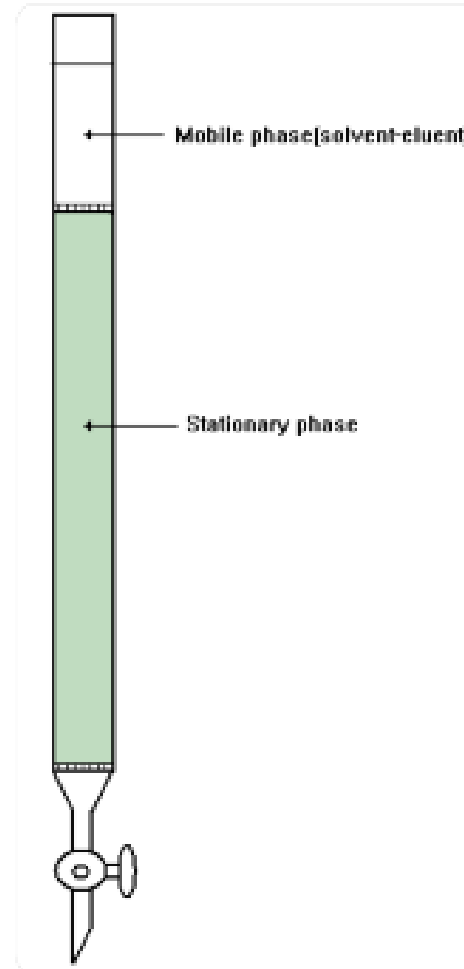
INI SALAH SATU CONTOH KROMATOGRAM KROMATOGRAFI



KROMATOGRAFI KOLOM TERBUKA



KROMATOGRAFI KONVENSIONAL (KROMATOGRAFI KOLOM TERBUKA)



Kromatografi kolom adalah
Teknik kromatografi
yang menempatkan fase diam
pada kolom untuk
memisahkan komponen-
komponen dalam campuran

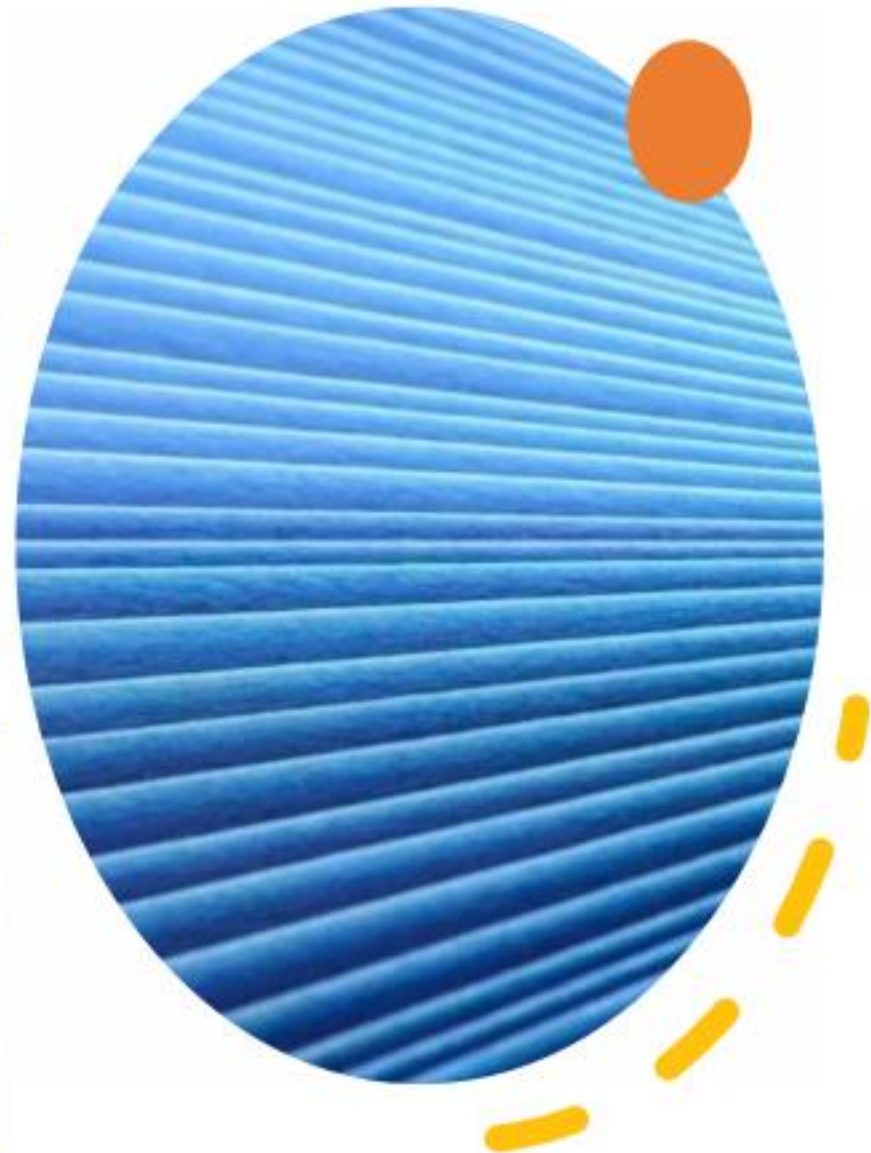
Column Chromatography

Termasuk kromatografi cair preparatif

- Kolom : bentuknya mirip buret, dibuat dari bahan gelas, polymer, logam. Ukuran bervariasi diameter dan panjang. Minimal panjang kolom 10 kali diameternya.

Fase diam :

- Perbandingan berat (fase diam: sampel= 30:1 dapat ditingkatkan 50 : 1 untk sampel yg sukar dipisahkan)
- Ukuran partikel 63-250 μm , yg <63 μm fase gerak perlu ditekan atau dihisap
- Biasa digunakan : silika gel, alumina
- Fase gerak : eluen / solven



PENYIAPAN SAMPEL

Pemilihan fase gerak : - Penelusuran pustaka

- Mencoba-coba dengan KLT

Mengemas kolom (packing)

- Cara basah
- Cara kering

Preparasi sampel (penyiapan sampel)

I

- Sampel dilarutkan,kmd dituang pd bag atas kolom.
- Sampel dilarutkan, kmd dihomogenkan dg fase diam (1:3) dikeringkan. Diratakan selapis diatas fase diam.

PRINSIP KERJA KROMATOGRAFI KOLOM

Didasarkan pada adsorpsi komponen2 campuran dengan afinitas berbeda terhadap permukaan fase diam.

Adsorben bertindak sebagai fase diam dan fase gerak adalah cairan yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom.

Sampel yang mempunyai afinitas besar terhadap Adsorben akan secara selektif tertahan dan afinitasnya paling kecil akan mengikuti aliran pelarut.

Alat kromatografi kolom

Tabung kaca dengan ukuran sesuai kebutuhan , umumnya Panjang 10 x diameter tabung, dilengkapi kran pada salah satu ujungnya



Adsorben merupakan bahan yang tidak larut dalam fasa gerak, memiliki ukuran partikel yang seragam, dan ditempatkan dalam tabung kaca tersebut. Umumnya digunakan SiO_2 dan Al_2O_3



Wadah sebagai penampung hasil pemurnian kromatografi

KROMATOGRAFI KOLOM GRAVITASI

Dalam kromatografi kolom gravitasi, eluen bergerak berdasarkan gaya gravitasi atau perkolasi.

PENGEMASAN KOLOM CARA BASA

Cara Basah

Adsorben dicampur dengan pelarut, kemudian campuran dimasukkan ke dalam kolom.

Keuntungan dari metode ini adalah gelembung udara dapat dihilangkan dari kolom.

Contoh pengerjaan :

Kolom diisi dengan pelarut non polar seperti heksana kira-kira setengah dari tinggi kolom gelas.

- Ditimbang sebanyak 8 gram alumina dalam gelas piala sementara erlenmeyer 125 diisi 15 ml heksana. Dengan perlahan serbuk alumina ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk. Gunakan pipet pasteur untuk membuat bubur, kemudian dengan cepat bubur tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam kolom.

PENGEMASAN KOLOM CARA BASA

Tempatkan erlenmeyer di bawah kolom kemudian buka screw clamp dan biarkan pelarut mengalir.

Teruskan penambahan bubur alumina sampai habis, jangan lupa penambahan pelarut heksana terus dilakukan dan pelarut heksan yang keluar dapat ditampung dan digunakan kembali untuk packing/menambah lagi alumina ke dalam kolom.

Jika packing sudah selesai, screw clamp ditutup, tinggi cairan minimal sma dengan tinggi alumina. Kadang-kadang pasir juga ditambahkan pda puncak kolom untuk mencegah dari gangguan saat pelarut baru ditambahkan.

Pengemasan Kolom cara Kering

A. Cara Kering

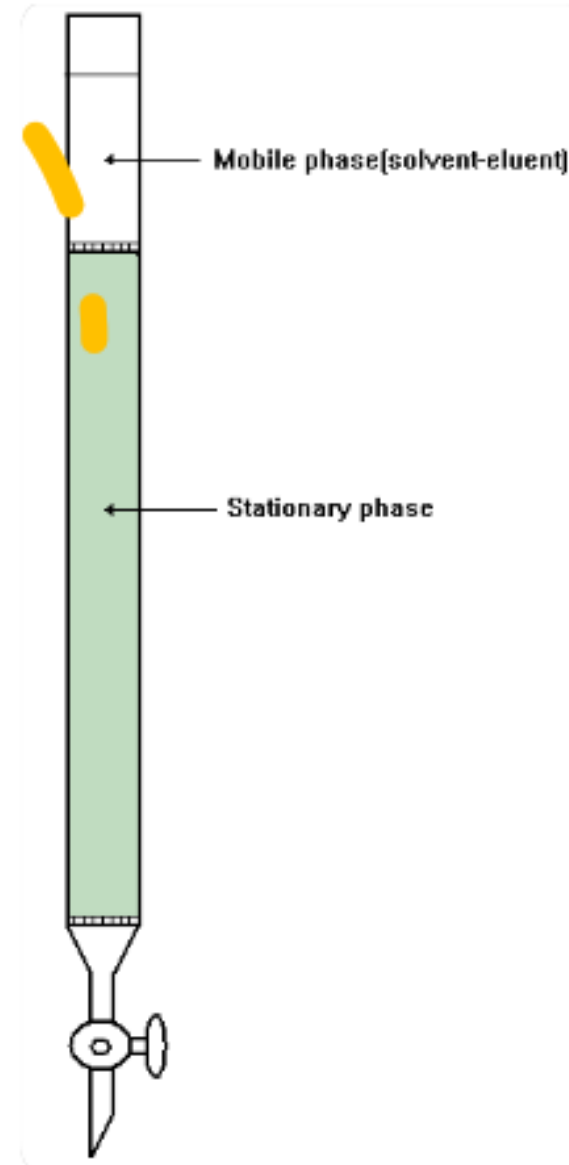
Metode ini lebih mudah tapi dapat menimbulkan adanya gelembung udara dalam kolom. Gelembung udara ini harus dihindari, karena akan mengurangi resolusi dari pemisahan.

Contoh pengerjaan :

1. Bagian dasar dari kolom diisi dengan glass wool secukupnya. Pinch clamp ditutup dan kolom diisi dengan pelarut.
2. Masukkan 8 gram alumina ke dalam kolom gelas yang berisi pelarut dan biarkan pelarut mengalir. Pinch clamp ditutup jika packing sudah selesai dan tinggi pelarut minimal sama dengan tinggi alumina. Demikian juga hindari agar kolom tidak kering.
3. Perbandingan antara volume total kolom (cair+padat) dengan diameter kolom yang optimal agar diperoleh pemisahan yang baik. Secara umum, hanya dapat dinyatakan bahwa kemasan kolom yang panjang akan memberikan tingkat pemisahan yang tinggi dan kolom yang lebar adalah baik untuk memisahkan komponen-komponen dalam jumlah besar.
4. Jenis fase diam yang digunakan adalah silika gel dan alumina.

Liquid column chromatography

- Fase diam yang berada di dalam kolom (tabung) berada dalam suatu tabung yang terbuat dari kaca atau polimer
- Dengan adanya aliran FG, maka gaya gravitasi akan bekerja bila kolom pada posisi tegak.
- Jika diperlukan tekanan positif dari atas atau perlu adanya vacuum dari bawah, maka kolom dapat pada posisi horizontal.
- Dinding yang bening akan membuat proses pemisahan dapat diamati secara visual Untuk senyawa bewarna) atau menggunakan sinar UV
-



Cara Penggunaan Kromatografi Kolom

1. Sampel yang dilarutkan dalam sedikit pelarut, dituangkan melalui atas kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam adsorben (bahan penyerap).
2. Komponen dalam sampel diadsorbsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom.
3. Dengan penambahan pelarut secara terus menerus, masing-masing komponen akan bergerak turun melalui kolom dan akan terbentuk pita yang setiap zona berisi satu macam komponen.
4. Setiap zona yang keluar kolom dapat ditampung dengan sempurna sebelum zona yang lain keluar kolom.

Fasa Diam

Fasa diam atau *adsorben* (penjerap): berupa zat padat.

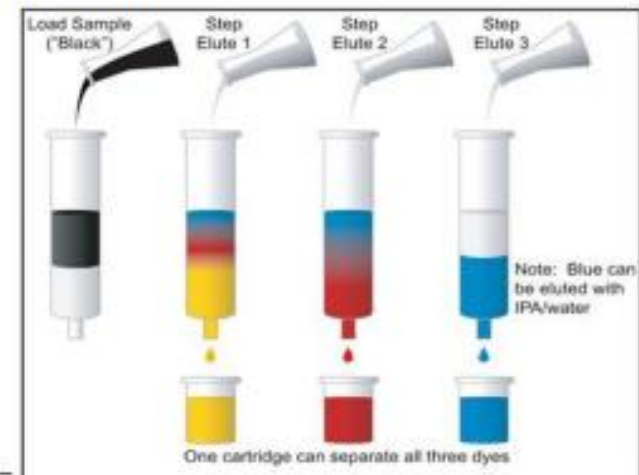
Fasa diam yang paling umum : silika gel (SiO_2), Alumina (Al_2O_3) , serbuk selulosa. Kromatografi kolom dapat juga menggunakan teknik kromatografi pertukaran ion, kromatografi fase terbalik, kromatografi pertukaran ion.

Fase Diam berbentuk :

- serbuk halus atau gel, mikropori untuk peningkatan luas permukaan.
- Perlu diperhitungkan rasio antara berat fasa diam dan berat kering campuran analit yang dapat diaplikasikan ke dalam kolom.
- Untuk kolom silika, rasio berada antara 20:1 hingga 100:1, bergantung pada kedekatan jarak elusi antar komponen analit.
- *Ukuran partikel fasa diam pada kromatografi kolom dipercepat biasanya lebih halus daripada kromatografi kolom gravitasi. Misalnya, silika gel untuk kromatografi dipercepat berukuran antara (40 – 63 μm), sementara untuk kromatografi gravitasi antara (63 – 200 μm)*

Fase Diam (Stationary Phase)

- Seperti TLC, alumina dan silika adalah dua fase stasioner paling populer di kromatografi Kolom.
- Secara umum tahap-tahap ini bekerja secara partisi.
- Sampel yang lebih polar akan dipertahankan pada fase diam lebih lama. Dengan demikian senyawa paling polar akan mengelusi dari kolom pertama, diikuti oleh masing-masing senyawa dalam rangka meningkatkan polaritas.



Fase Diam

- Meskipun interaksi antara fase mobile dan stasioner didasarkan pada hal yang sama.
- Prinsip untuk KK dan TLC, Karena arah dari aliran pelarut dalam TLC bergerak naik sedangkan dalam KK pelarut mengalir turun, tampak bahwa urutan adalah "terbalik".
- Dalam TLC molekul yang lebih polar akan memiliki nilai R_f yang lebih rendah tetapi dalam KK akan dipertahankan lebih lama di kolom.
- Dalam mempertimbangkan polaritas fase diam dan polaritas senyawa dipisahkan ketika proses elusi terjadi

Fase Diam

- Fase diam untuk CC terdiri dalam berbagai ukuran, aktivitas, dan variasi asam.
- Untuk alumina dan silika. Jenis fase diam yang dipilih ditentukan secara eksperimen, atau sering berdasarkan hasil dari percobaan TLC sebelumnya.
- Jenis adsorben, ukuran dari kolom, polaritas fase gerak serta laju elusi semua mempengaruhi pemisahan.
- Kondisi ini dapat dimanipulasi untuk mendapatkan pemisahan terbaik untuk senyawa campuran.

Ukuran Partikel Fase Diam

Diameter kolom (cm)	Silika gel (gram)	Sampel (gram)	Perbandingan sampel:silika gel	Tujuan KVC
14	150-170	10 - 20	1:7,5 - 1:17	Fraksinasi pertama
10	80	3 - 5	1:14 - 1:25	Fraksinasi kedua
7	40	1 - 2	1:20 - 1:40	Fraksinasi kedua atau pemurnian

Fase Gerak

- *Fasa gerak* atau *eluen* dapat berupa pelarut murni atau campuran pelarut. Pemilihan dilakukan sedemikian rupa sehingga nilai faktor retensi senyawa yang diinginkan berada pada kisaran 0,2 - 0,8 untuk meminimalkan waktu dan jumlah eluen yang diperlukan selama kromatografi.
- Eluen dapat dipilih berdasarkan daya pisahnya sehingga senyawa yang berbeda dapat dipisahkan secara efektif.
- Optimasi eluen dilakukan melalui uji pendahuluan berskala kecil, biasanya menggunakan lempeng KLT dengan fasa gerak yang sama namun ukuran yang diperkecil.

Fase Gerak

- Laju alir dapat dibuat optimum untuk masing-masing pemisahan.
- Semakin cepat laju alir eluen akan meminimalkan waktu yang dibutuhkan untuk melalui kolom sehingga meminimalkan difusi, menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Namun, laju aliran maksimum perlu dibatasi karena analit memerlukan waktu tertentu untuk berada pada kesetimbangan antara fasa diam-fasa gerak,
- Kolom laboratorium sederhana bekerja dengan prinsip aliran grafitasi. Laju aliran kolom semacam ini dapat dinaikkan dengan menambah eluen baru di bagian atas fasa diam, atau diturunkan dengan mengatur keran di bagian bawah.
- Laju aliran yang lebih cepat dapat diperoleh dengan menggunakan pompa atau gas bertekanan (misalnya: udaranitrogen, atau argon) untuk menekan pelarut melalui kolom (kromatografi kolom kilat)

Fase Gerak berupa campuran dari dua atau lebih FG berikut:

- Polaritas pelarut yang dilewatkan melalui kolom mempengaruhi tingkat pemisahan di mana senyawa bergerak melalui kolom.
- Pelarut polar dapat lebih efektif digunakan untuk molekul polar campuran untuk fase diam polar pada permukaan adsorben dan juga akan lebih baik meloloskan konstituen polar.
- Akibatnya, pelarut yang sangat polar akan bergerak bersama molekul yang sangat polar dengan cepat melalui kolom. Jika pelarut terlalu polar, gerakan menjadi terlalu cepat, dan sedikit atau tidak ada pemisahan komponen campuran akan dihasilkan.

Fase Gerak berupa campuran dari dua atau lebih FG berikut:

- Jika pelarut tidak cukup polar, tidak ada senyawa yang akan terelusi dari kolom. Pilihan yang tepat dari jenis pelarut sangat penting untuk keberhasilan penerapan kromatografi kolom sebagai teknik pemisahan.
- Thin-Layer Chromatography (TLC) umumnya digunakan untuk menentukan sistem pemisahan kolom kromatografi. Seringkali serangkaian sistem pelarut semakin polar digunakan untuk mengelusi kolom. Pelarut yang kurang polar pertama kali digunakan untuk mengelusi senyawa yang kurang polar. Setelah senyawa yang kurang-polar berada di luar kolom, pelarut yang lebih-polar ditambahkan ke kolom untuk mengelusi senyawa yang lebih polar.

Solvent (Pelarut)

- Sistem pelarut untuk digunakan sebagai fase gerak dalam KK dapat ditentukan dari orintasi TLC sebelumnya.
- Menggunakan eksperimen, literatur, atau eksperimental.
- Pemisahan akan dimulai dengan menggunakan nonpolar atau pelarut polaritas rendah agar memungkinkan senyawa untuk menyerap ke fase diam.
- Polaritas pelarut harus diubah secara bertahap.
- Pada skala besar pencampuran dua pelarut dapat menyebabkan panas dan memecahkan kolom

- Beberapa kombinasi pelarut yang khas adalah ligroin-diklorometana, heksana-etil asetat dan hexane-toluene. Seringkali digunakan dan pelarut ini sangat baik dalam memisahkan sebagian besar senyawa.

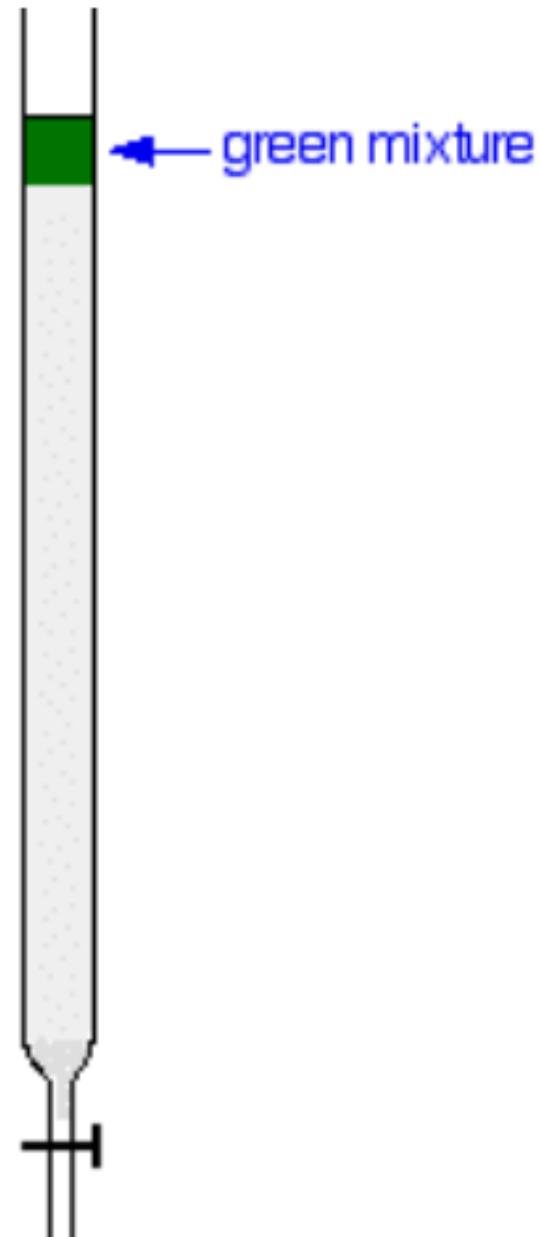
Cara Pemisahan

- Buat larutan jenuh dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai
- Buka kran penutup untuk membiarkan pelarut yang sudah berada dalam kolom mengering sehingga material terpadatkan rata pada bagian atas,
- Kemudian tambahkan larutan secara hati-hati dari bagian atas kolom. Lalu buka kran kembali sehingga campuran berwarna akan diserap pada bagian atas material terpadatkan, sehingga akan tampak seperti :

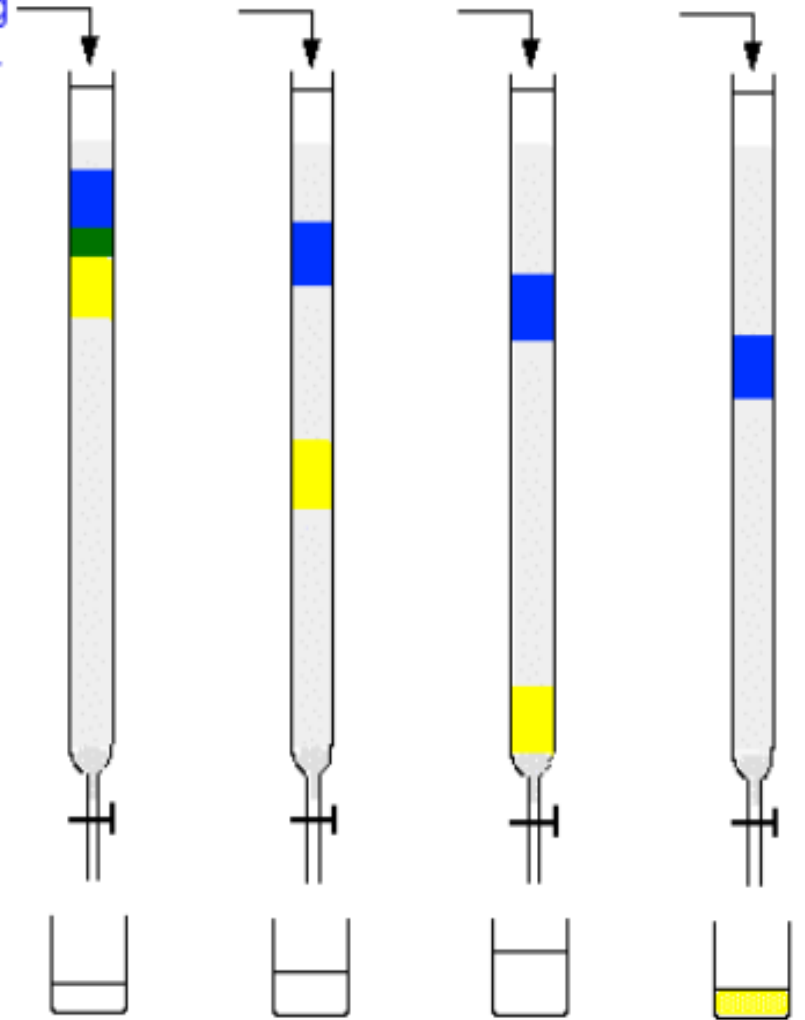
- Tambahkan pelarut baru melalui bagian atas kolom, cegah sedapat mungkin jangan sampai merusak material terpadatkan dalam kolom.

- Buka kran, supaya pelarut dapat mengalir melalui kolom, kumpulkan dalam satu gelas kimia atau labu dibawah kolom.

- Karena pelarut mengalir kontinyu, tetap tambahkan pelarut baru dari bagian atas kolom sehingga kolom tidak pernah kering.



Keep adding
new solvent.



Change the beaker once the
yellow starts to drop through.



Proses Pemisahan Dalam Kolom

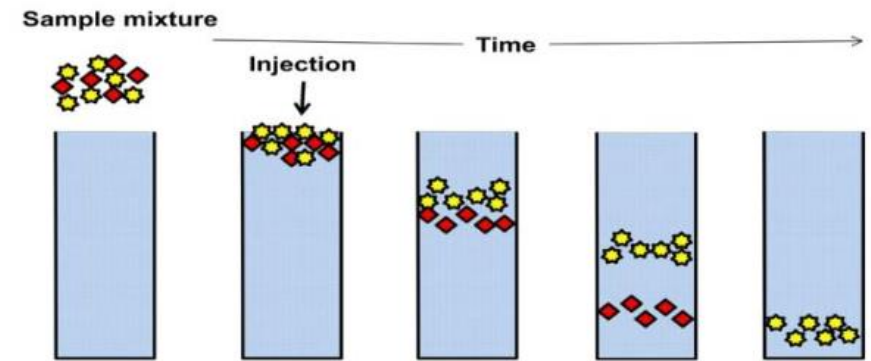


Figure 28.3: Separation of two molecules on a column.



Jenis kromatografi dilihat dari metode pemisahan (interaksi fasa diam dengan sampel)

1. **Adsorpsi** : Penyerapan pada permukaan saja dengan interaksi elektrostatik seperti ikatan hydrogen, penarikan dipol, penarikan induksi oleh dipol. **Silika gel** (gugus Si-O-Si dan Si-OH) gugus ini bersifat asam dan dapat membentuk ikatan hydrogen dengan solute yang agak polar sampai sangat polar. Diterapkan secara luas dikromatografi kolom menggunakan **silika gel atau alumina** untuk isolasi produk alami, pemurnian molekul organik kecil, dan pemisahan kerak-preparatif.
2. **Partisi** : Analog dengan proses ekstraksi, **dimana fasa diam cair diikatkan pada padatan lapis tipis yang inert.**
3. **Pertukaran ion** : Solute pada fasa gerak dapat bertukar dengan ion-ion yang bermuatan sama yang terikat dengan fasa diam (resin penukar ion (kation/anion)).
4. **Eksklusi**: Pemisahan berdasarkan **ukuran partikel** dari fasa diam yang di packing (prinsipnya porositas fasa diam). (**pemisahan didasarkan struktur dan ukuran molekul**) mirip penyaringan. Fase Diam Berpori (Kolom kromatografi diisi dengan partikel **gel berpori** (seperti dekstran atau silika). **Pemisahan Mekanis: Molekul yang lebih besar dari pori-pori akan melewati kolom dengan cepat.**

Kromatografi Ekslusi dibagi menjadi 2:

- Filtrasi Gel (GFC - Gel Filtration Chromatography): Menggunakan fase gerak cair/air, biasanya untuk analisis biomolekul seperti protein, peptida, atau asam nukleat.
- Permeasi Gel (GPC - Gel Permeation Chromatography): Menggunakan fase gerak pelarut organik, umumnya untuk menganalisis polimer sintetik atau plastik.

Contoh fasa diam kromatografi Ekslusi:

Sephadex: Polimer dekstran yang berikatan silang, sangat umum dipakai untuk pemisahan protein.

Agarosa (Bio-Gel A): Digunakan untuk memisahkan senyawa atau molekul berukuran sangat besar (bobot molekul di atas 500).

Bio-Gel P: Polimer inert yang terbuat dari kopolimerisasi akrilamida dan N,N'-metilen-bis-akrilamida.

Silika berpori: Digunakan untuk analisis senyawa dengan pelarut organik. Polistiren ikatan silang: Sering digunakan dalam kromatografi permeasi gel (GPC) untuk analisis polimer.

KROMATOGRAFI PENUKAR ION

Teknik pemisahan yang memisahkan **molekul dan ion** berdasarkan muatan listriknya. Metode ini memanfaatkan interaksi reversibel antara molekul target di fase gerak dan **gugus bermuatan** tetap pada fase diam (resin), serta sangat umum digunakan dalam analisis farmasi, biokimia, dan lingkungan

Jenis Fasa diam yang digunakan

- **Penukar Kation** (Cation Exchange): Fasa diam bermuatan negatif, digunakan untuk memisahkan ion-ion bermuatan positif (kation) seperti logam, amonium, dan kalsium (Amberlite IRC-50, CM-Sepharose, dan Bio-Rex 70)
- **Penukar Anion** (Anion Exchange): Fasa diam bermuatan positif, digunakan untuk memisahkan ion-ion bermuatan negatif (anion) seperti klorida, sulfat, dan nitrat. (Dietilaminoetil (DEAE) selulosa, DEAE sefades, atau amina alifatik yang terikat pada silika, Resin stirena-divinilbenzena dengan gugus amonium kuartener)

Macam-Macam Resin Pertukaran Ion.

Resin Pertukaran Kation

(dikenal pula dengan resin asam baik asam kuat atau asam lemah) merupakan resin yang mempunyai gugus kation yang dapat dipertukarkan, biasanya H^+ . Misalnya asam arisulfonat merupakan asam kuat, sehingga gugus-gugus ini terionisasi pada saat air menembus manik-manik resin:



- anion terikat secara per-manen pada matriks polimernya. Anion ini tidak bisa bermigrasi melalui fasa berair di dalam pori-pori resin, juga tidak bisa melepaskan diri dan bergerak menuju larutan terluar.
- Pengikatan anion ini kemudian membatasi pergerakan dari kation, H^+ . Netralitas kelistrikan dijaga tetap di dalam resin, dan kation H^+ tidak akan meninggalkan fasa resin kecuali jika ion ini digantikan dengan kation yang lain, di mana penggantian ini merupakan proses pertukaran ion. Pertukaran ini bersifat stoikiometri yakni satu H^+ digantikan oleh satu Na^+ , dua H^+ digantikan oleh satu Ca^{++} , dan seterusnya

-
- Ada beberapa resin jenis lain yang bisa dipersiapkan. Contohnya, gugus fungsionalnya dapat berupa asam lemah COOH . Resin ini tidak memperagakan sifat-sifat pertukaran ion kecuali jika pH nya cukup tinggi untuk mengubah asam bebas netral menjadi anion karboksilat, COO^- . Sesuai dengan reaksi :



- Resin pertukaran Kation hanya mampu berkeseimbangan dengan kation terlarut dalam sampel.
- Kation-kation dengan muatan lebih besar lebih mudah diikat oleh resin kation daripada kation-kation dengan muatan lebih kecil.
- Beberapa kation bermuatan $2+$ mempunyai kekuatan yang sama sehingga diperlukan teknik khusus dalam proses pemisahannya.

- Dalam sekelompok ion yang mempunyai tanda yang tepat untuk bertindak sebagai ion lawan yang sejati, besarnya muatan sangatlah penting. Biasanya, resin lebih menyukai ion dengan muatan yang besar. Jadi, seberapa jauhnya pertukaran dengan, katakanlah H^+ , akan menurun dengan urutan
- $Th^{4+} > Al^{3+} > Ca^{2+} > Na^+$

- Dengan sederetan ion dengan muatan yang sama, resin ini masih memperlihatkan selektivitas. Misalnya, dengan logam alkali, urutan berikut ini umumnya dijumpai pada resin pertukaran kation. Faktor terpenting di sini kemungkinan adalah jari-jari ion; semakin kecil jari-jari ion dengan muatan tertentu, semakin kuat ion tersebut akan diikat oleh resin.

Resin Pertukaran anion

- Resin Pertukaran anion adalah resin yang mempunyai gugus anion (-), berkemampuan menukar anion terlarut. Secara umum resin pertukaran anion dibedakan menjadi **basa kuat dan basa lemah**.
- Gugus penukar anion dapat **berupa hidroksil atau klorida atau anion** lain. Resin pertukaran anion basa kuat mempunyai gugus ammonium kuarterner bermuatan positif dan gugus hidroksil bermuatan negatif yang dapat dipertukarkan, sedangkan Resin pertukaran anion basa lemah mempunyai gugus ammonium tersier atau sekunder.

- **Regenerasi Resin**

- Proses regenerasi resin adalah **proses pengembalian gugus resin** pada kondisi semula, sehingga resin pertukaran ion merupakan jenis kromatografi yang dapat digunakan berulang-ulang. Resin yang masih baru dipreparasi mempunyai gugus aktif asli, misalnya pada resin kation gugus aktif yang mampu ditukar adalah H^+ sehingga apabila larutan kationik dilewatkan ke dalam resin kation akan terjadi proses pertukaran seperti reaksi berikut :



- Proses regenerasi resin kation dilakukan dengan cara mengganti kembali kation yang terikat dalam resin menjadi gugus H^+ kembali. Regenerasi resin kation dapat dilakukan dengan melewatkan larutan HCl ke dalam resin seperti reaksi berikut :



- Seperti pada resin kation, regenerasi resin anion yang mempunyai gugus asli klorida dilakukan dengan larutan HCl atau NaCl.

Kapasitas Pertukaran Resin.

- Kapasitas pertukaran resin merupakan indikator efektivitas dari resin.
- Kapasitas pertukaran resin ditentukan dengan cara menghitung jumlah gugus yang dapat dipertukarkan (mmol) setiap gram resin kering atau setiap milliliter resin basah.
- Besar nilai kapasitas pertukaran resin tergantung dari jumlah gugus aktif yang mampu dipertukarkan. Semakin banyak jumlah gugus aktif resin semakin besar pula nilai kapasitas pertukaran. Resin yang masih baru dipreparasi mempunyai nilai kapasitas pertukaran maksimal. Semakin sering resin digunakan dan diregenerasi, maka nilai kapasitas pertukaran semakin turun. Hal ini dikarenakan jumlah gugus aktif semakin berkurang.

Aplikasi Pertukaran Ion

Contoh interaksi ion logam tertentu dalam pertukaran ion dengan adanya HCl adalah melalui pembentukan senyawa kompleks anionik. Larutan kationik berisi Co(II), Zn(II), Fe(II), dan Fe(III) dipreparasi dengan HCl membentuk kompleks anion kloro sehingga pemisahan kation-kation tersebut dapat menggunakan resin anion. Perhatikan kurva untuk Fe (II), konsentrasi HCl yang rendah, logamnya adalah kationik, tidak ditahan oleh tetapi jika tingkat keasamannya meningkat maka Fe(II) dapat membentuk kompleks kloro dan ditahan oleh resin.

LATIHAN SOAL

- Apakah yang dimaksud dengan influen, efluen, dan elusi?
- Sebutkan macam-macam kromatografi penukar ion beserta contoh gugus aktifnya!
- Bagaimana cara regenerasi resin kation yang telah digunakan sebelumnya?
- Sebuah kolom berisi resin kation 15 ml akan ditentukan kapasitas pertukaran. 20 ml NaCl jenuh dilewatkan ke dalam kolom resin dan dialirkan perlahan-lahan, diikuti dengan akuades. Larutan ditampung dan diencerkan sampai 100 ml. 10 ml larutan ditambah 100 ml akuades dititrasi dengan NaOH 0,09 M dengan volume 23,6 ml. Hitung kapasitas kolom!

SELAMAT BELAJAR

HPLC

High Performance Liquid
Chromatography

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Generasi terkini : Ultra Performace Liquid Chromatography (UPLC)

- High berarti tinggi
- Pressure berarti tekanan
- Liquid memiliki arti cairan, dan
- Chromatography merupakan suatu metode tentang pemisahan molekul,
- Kromatografi cair kinerja tinggi merupakan salah satu metode pemisahan molekul dengan media cair yang biasanya disertai dengan tekanan tinggi. Seperti teknik kromatografi pada umumnya, HPLC digunakan untuk memisahkan molekul berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap zat padat (fase diam) tertentu.
- Seiring dengan perkembangannya, HPLC(High Pressure Liquid Chromatography) bertransformasi menjadi High Performance Liquid Chromatography.
- Alat ini dapat dikombinasi dengan alat deteksi sesuai dengan kebutuhan

KEUNGGULAN HPLC

- Kolom HPLC dpt dipakai berulang kali tanpa perlu diregenerasi (diperbaharui)
- Tercapainya pemisahan yg baik terjadi di kolom
- Dapat dioperasikan secara otomatis
- Waktu analisis relatif singkat dibandingkan teknis analisis lainnya

SKEMA HPLC



Injektor

Kolom analitik

C₁₈

D

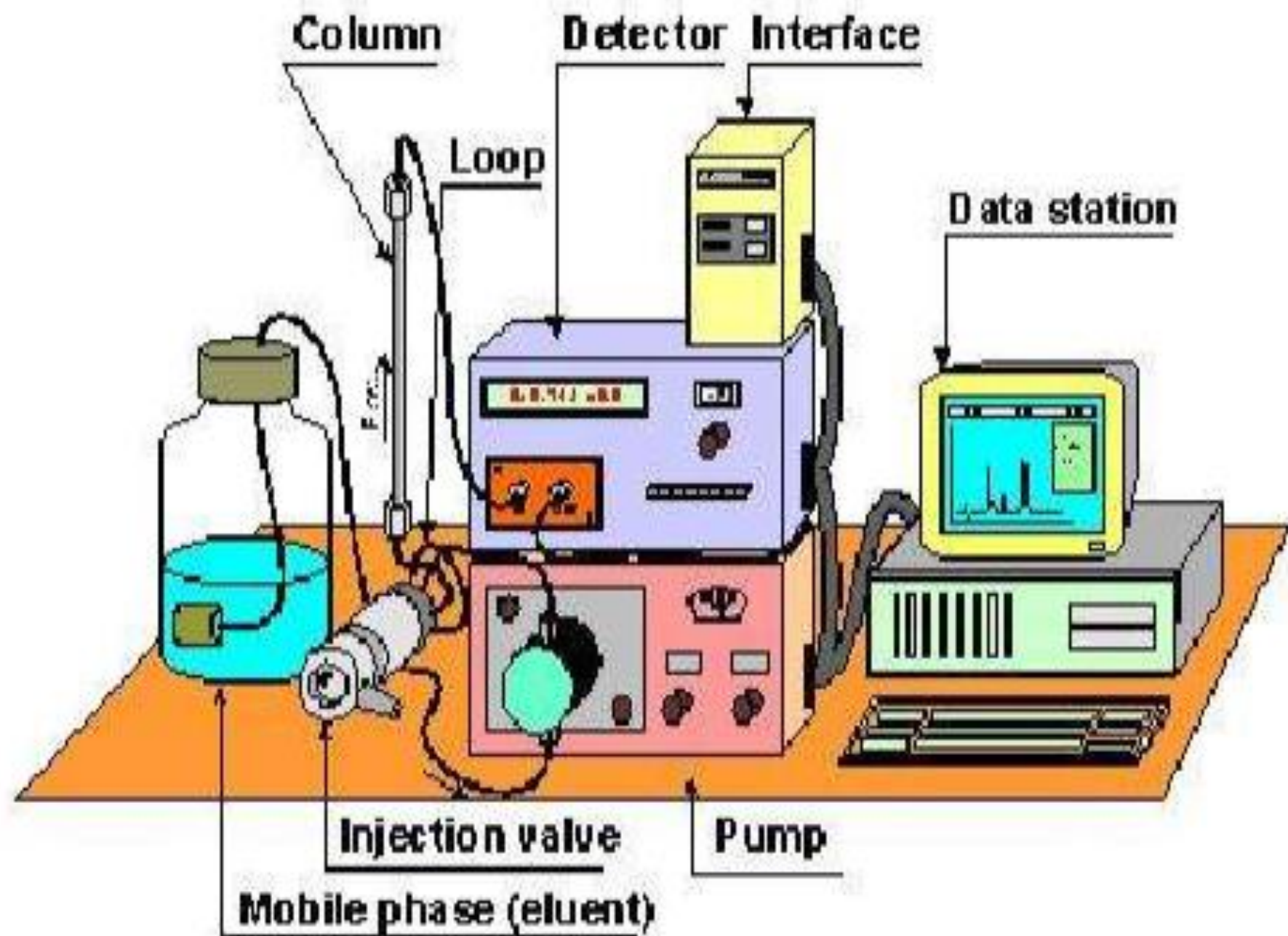
Ke penampungan

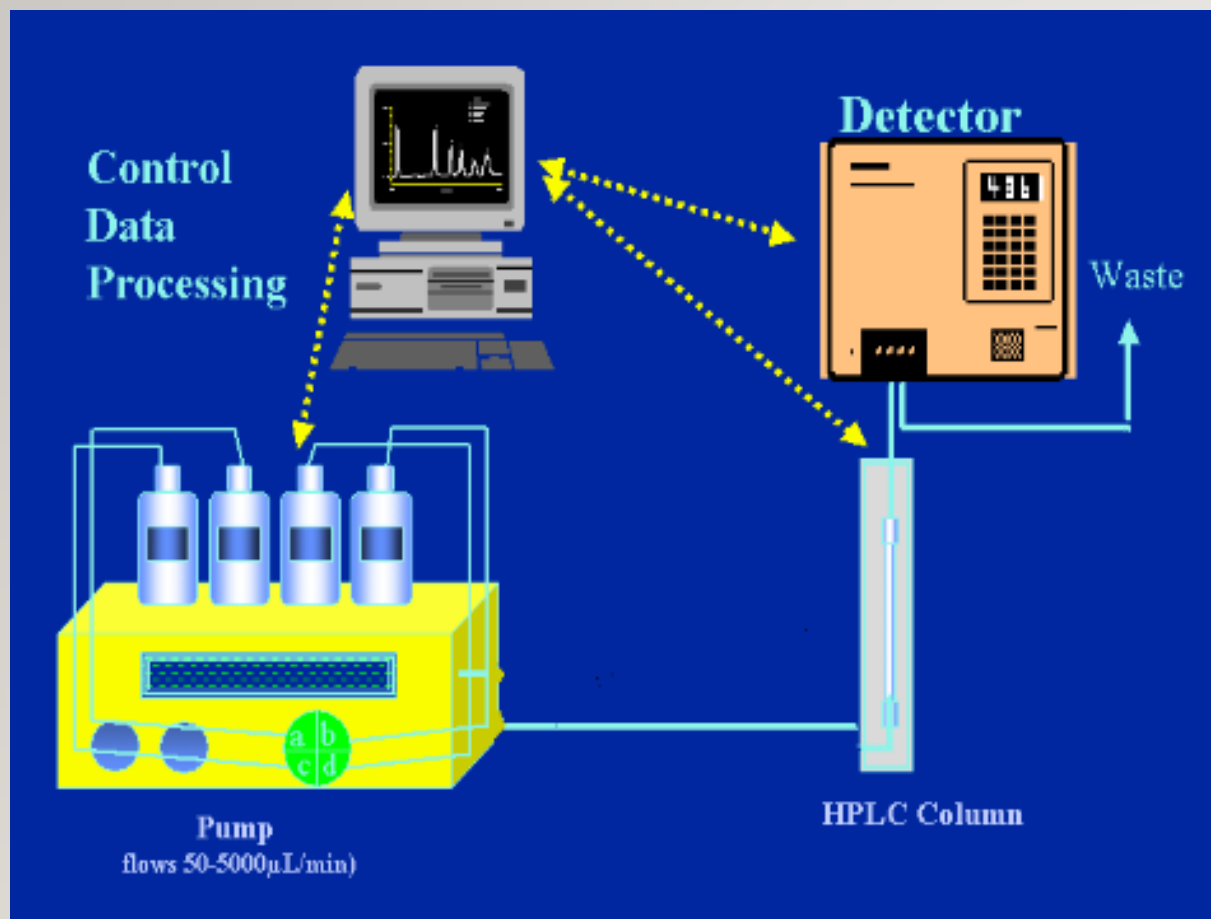
POMPA



Integrator







1. Reservoir Fase Gerak



Bisa lebih dari 1



dari gelas / stainless steel



Daya tampung 1- 2 L

Dilengkapi degasser (menghilangkan gas terlarut) → gas NO_2 & O_2 → membuat gelembung-gelembung di dalam kolom & detektor



- Pelebaran pita analit
- Respon detektor terganggu



- Degassing → pompa vakum dihubungkan reservoir & diaduk / dipanaskan
 - ◇ Solven disaring dengan kertas Millipore
 - ◇ Pemisahan dengan 1 jenis FG dengan konsentrasi konstan → Elusi Isokratik
 - ◇ Bila dengan 1 atau lebih FG yang polaritasnya berbeda → Elusi Gradien
 - ◇ Digunakan FG segar → mendapatkan hasil yang reproduktibilitas optimum dalam pemisahan

BEBERAPA
CONTOH FASE
GERAK YG
BANYAK
DIGUNAKAN

Fase Gerak	Polaritas indeks
Toluen	2,4
Kloro benzen	2,7
Etil eter	2,8
Etil asetat	4,4
Aseton	5,1
Metanol	5,1
Asetonitril	5,8
Air	10,2

B. POMPA

- Pompa berfungsi untuk mendistribusikan fase gerak maupun sample dengan tekanan yang tinggi ke bagian-bagian lainnya. Tekanan berkisar antara 6000-9000psi
- Sebelum melakukan analisis (sample belum dimasukan kedalam fase gerak) harus dilihat base line (ada nilai **slope** yang harus dipenuhi). Nilai ini bergantung dari masing-masing alat/instrument
- Ketika base line sudah stabil maka auto sampler mulai menjalankan algoritma injeksi sample atau disuntikkan secara manual



Injector manual



Automatic Injector

C.ALAT INJEKSI/INJECTOR

Berguna untuk memasukkan sampel ke dalam kolom

Dirancang khusus sebab sistem HPLC mempunyai tekanan sangat tinggi

Beberapa HPLC dilengkapi peralatan injeksi sampel yg dpt memasukkan sampel secara otomatis sekaligus menjalankan peralatan lain yg terangkai dlm sistem tsb, dikenal auto injector. Alat ini mampu menangani sampel dlm jumlah puluhan buah

5. Kolom Kromatografi

- ✿ Bentuk tabung, permukaan dalam rata
- ✿ Dari gelas / stainless steel
- ✿ Lapisan luar kadang dilapisi logam → menahan tekanan ad 6000 psi, rx kimia dari FG
- ✿ Sambungan kolom → tidak menyebabkan FG stagnant
- ✿ Panjang kolom (10 – 30) cm
- ✿ Analisis pemisahan cepat (3 – 8) cm
- ✿ Internal diameter (4 – 5)mm
- ✿ Partikel diameter (3 – 5) μm
- ✿ Guard kolom → sebelum kolom analitik



KOLOM HPLC



GRACE HPLC Column



Stainless Steel Analytical Column Hardware

VisionHT™ Guard Columns



Stainless Steel Preparative Column Hardware

KOLOM

Normal phase HPLC:

Kolom polar / fase gerak non polar

Contoh : R=hidrokarbon

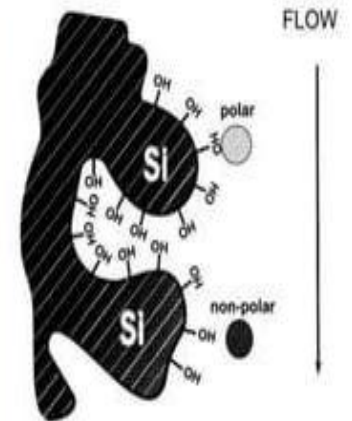
Reversed phase HPLC:

Kolom non polar / fase gerak polar

Contoh R = cyano(C_2H_4CN); diol ($C_3H_6OCH_2CHOHCH_2OH$); amino

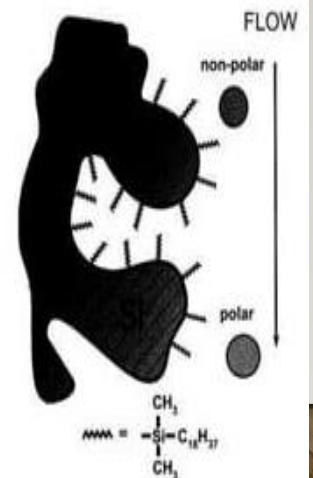
HPLC FASE NORMAL

- NP-HPLC: fase gerak non polar, fase diam polar
- Disebut juga kromatografi adsorpsi (adsorption chromatography)
- Pemisahan didasarkan atas adsorpsi/desorpsi analit pada fase diam polar (silika atau alumina)
- Analit polar lebih tertahan daripada analit non polar karena gugus silanol pada silika.



HPLC FASE TERBALIK

- RP-HPLC: fase gerak polar, fase diam non polar
- Pemisahan didasarkan atas koefisien partisi analit dalam fase diam dan fase gerak
- Urutan elusi: analit polar terelusi lebih dahulu, analit non polar terelusi terakhir
- Untuk pemisahan analit non polar (non ionik)
- Untuk analit yang dapat terionisasi (ionik) dapat dianalisis dengan RP-HPLC menggunakan pengaturan pH fase gerak atau teknik pasangan ion (ion-pair).



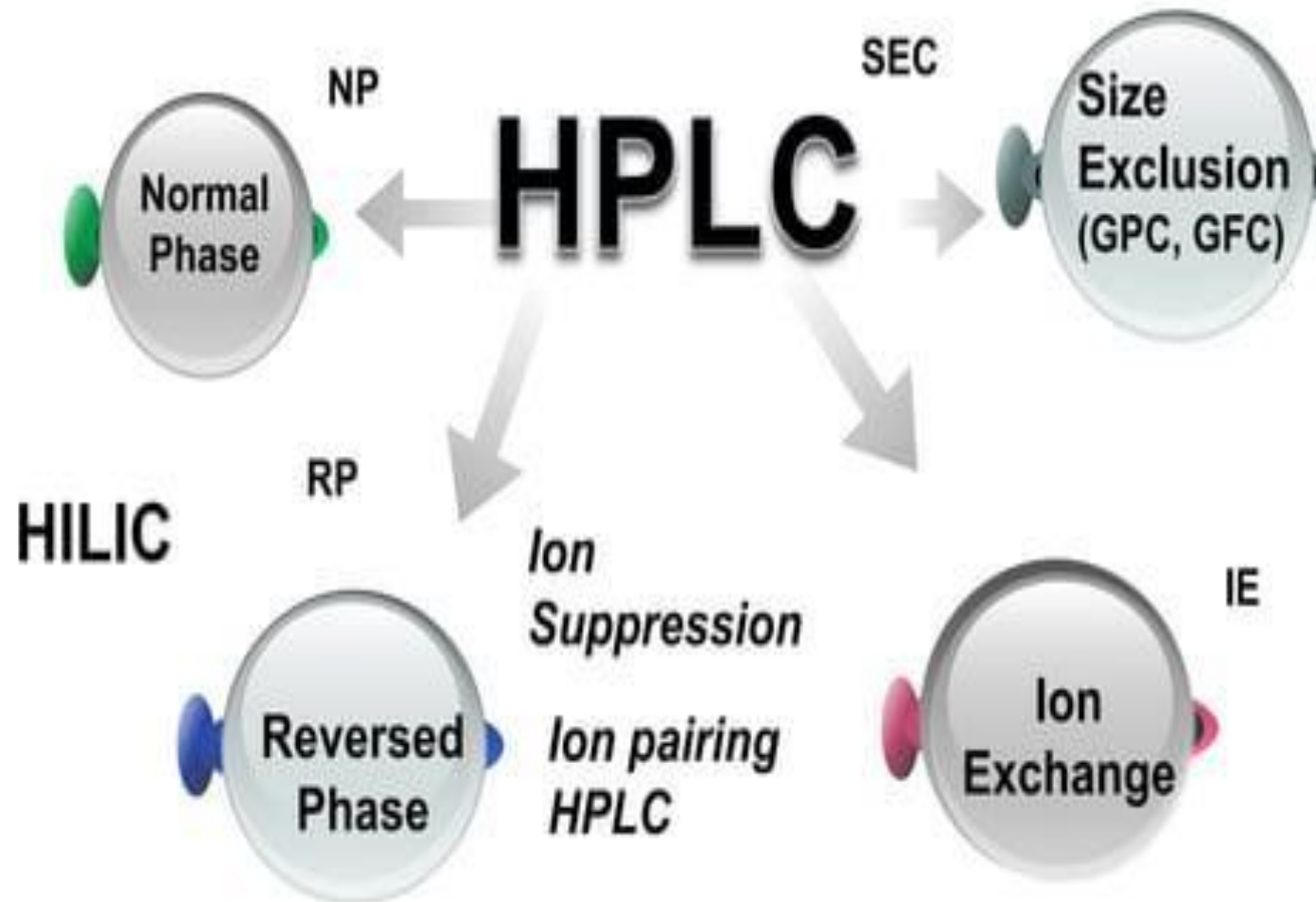
Fase Balik/Reverse Phase HPLC

Silika dimodifikasi menjadi non polar berupa atom karbon 8 atau 18. Sebagai contoh, pelarut polar digunakan berupa campuran air dan alkohol seperti metanol.

Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan bereaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals. Molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom.

Fase balik HPLC adalah bentuk yang biasa digunakan dalam HPLC.

BERDASARKAN SIFAT KIMIA PEMISAHAN



Dilakukan dengan instrumen HPLC yang sama,
tergantung dari kolom yang digunakan

ION EXCHANGE HPLC

Functional groups

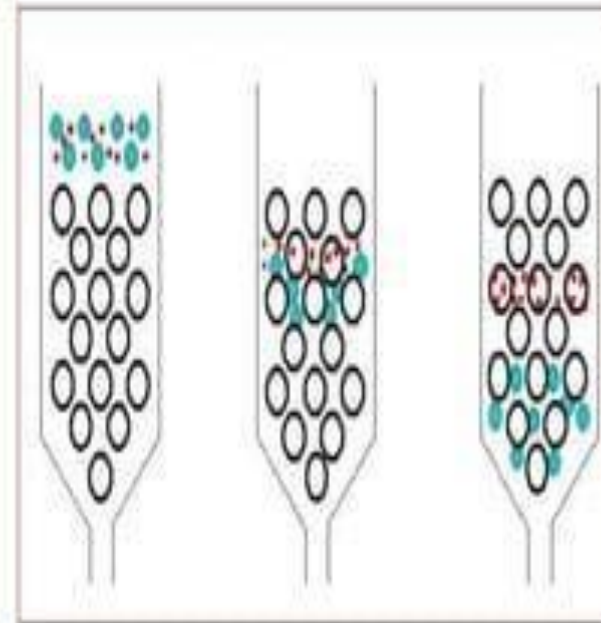
CATION EXCHANGERS		ANION EXCHANGERS	
TYPE	FUNCTIONAL GROUP	TYPE	FUNCTIONAL GROUP
Sulfonic acid	$-\text{SO}_3 \text{ H}$	Quaternary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_4 \text{ OH}$
Carboxylic acid	$-\text{COO}^- \text{ H}^+$	Quaternary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2 (\text{EtOH})$
Phosphonic acid	$-\text{PO}_3 \text{ H}_2$	Tertiary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_3 \text{ OH}$
phosphinic acid	$-\text{HPO}_3 \text{ H}_2$	Secondary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2 \text{ OH}$
Phenolic	$-\text{O}^- \text{ H}^+$	Primary amine	$-\text{NH}_2 \text{ OH}$
Arsonic	$-\text{HASO}_3 \text{ H}_2$		
Selenetic	$-\text{SeO}_3 \text{ H}_2$		

SIZE EXCLUSION HPLC

- Merupakan metode kromatografi yang menggunakan partikel berpori untuk memisahkan molekul dengan ukuran yang berbeda.
- Untuk pemisahan makromolekul ($BM > 10000$).
- Disebut GFC jika digunakan untuk pemisahan molekul biologis yang larut air
- Fase gerak umumnya toluen dan tetrahidrofur.

Mekanisme

- Molekul yang lebih kecil dari ukuran pori dapat memasuki partikel dan mempunyai jalur dan waktu transit yang lebih panjang dibandingkan molekul besar yang tidak dapat memasuki partikel. Semua molekul yang lebih besar dari ukuran pori tidak tertahan dan terelusi bersama. Molekul yang memasuki pori akan mempunyai waktu tinggal dalam partikel yang tergantung pada ukuran dan bentuk molekul. Molekul yang berbeda mempunyai waktu transit yang berbeda untuk melewati kolom.
- Molekul yang tidak dapat memasuki pori akan memerlukan volume fase gerak lebih banyak untuk dapat keluar dari kolom



DETEKTOR

01

Sensitivitas yang tinggi
yaitu lebih dari $0,1 \mu\text{g}$
sampel dlm 1 cm^3

02

Tidak merusak sampel

03

Tidak sensitif thd
perubahan temperatur
dan perubahan kecepatan
aliran fasa gerak

DETEKTOR FOTOMETER (UV, IR, FLUORESCENCE)

Detektor UV dikhususkan pada senyawa yg memiliki serapan maksimum di daerah UV yaitu senyawa yg memiliki elektron ikatan n dan elektron non ikatan seperti olefin, aromatik, dan senyawa yang mengandung gugus -C=O , -C=S , -N=O dan -N=N-

Detektor IR dapat dipakai untuk mendeteksi beberapa panjang gelombang yg dapat diatur menurut gugus fungsinya. Panjang gelombang tersebut pada daerah $4000\text{-}690\text{ cm}^{-1}$

Detektor fluorescence dipakai untuk senyawa yg memiliki tingkat selektifitas tinggi pada senyawa yg berfluorescence. Senyawa ini umumnya memiliki struktur siklik konyugasi spt polinuklear aromatik, asam amino aromatik, phenol, quinolin

DETEKTOR REFRAKTOMETER

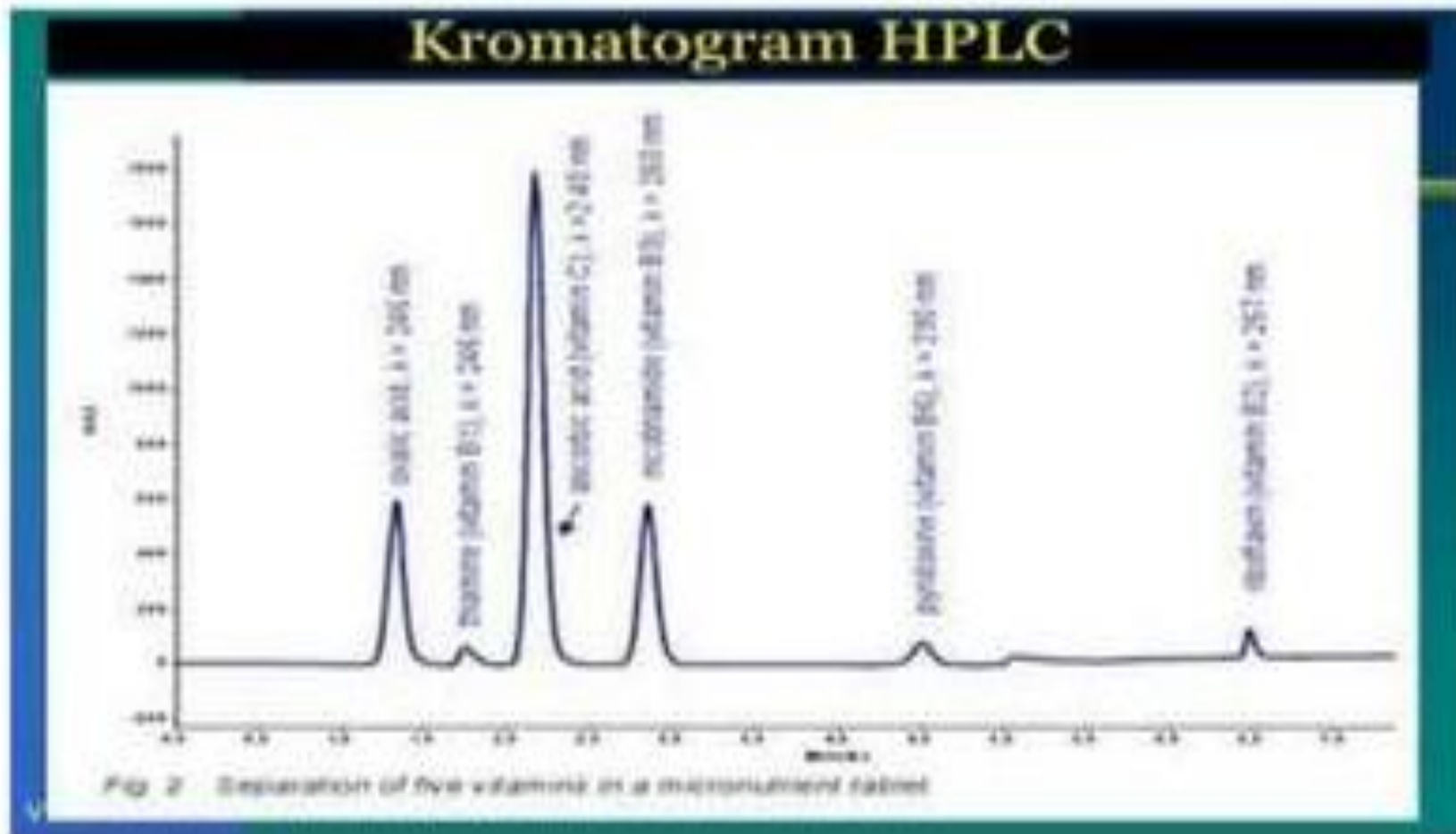
- ❑ Perbedaan detektor ini dari yg lain adalah mampu memonitor perbedaan indeks refraksi yg terdapat dlm fasa gerak dan fasa gerak-sampel ketika keluar dari dalam kolom
- ❑ Deteksi mampu dilakukan hingga konsentrasi 1 ppm dlm larutan

DETEKTOR KONDUKTOMETER

- ❑ Didasarkan pada adanya perbedaan daya hantar listrik dari larutan yg melewatinya
- ❑ Khusus digunakan utk mengukur larutan elektrolit yaitu pd kromatografi penukar ion
- ❑ Fasa geraknya biasanya air atau larutan buffer

RECORDER

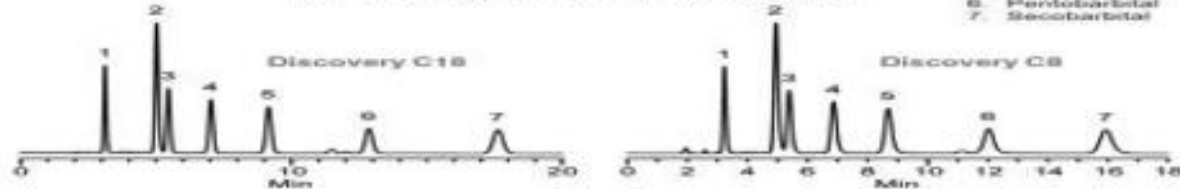
Menggambarkan kromatogram berdasarkan hasil yg diberikan oleh detektor



Barbiturates

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 55:45 Water-MeOH
Flow Rate: 1.0mL/min
Det.: UV at 215nm
Temp.: ambient
Inj.: 5µL (Discovery C8) or 10µL (Discovery C18)

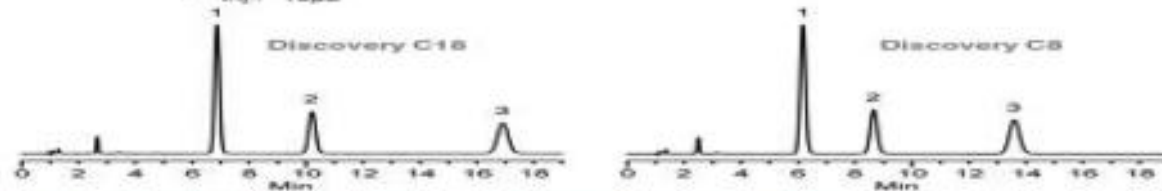
Sample: 1µg/mL of each
1. Barbitol
2. Aprobarbital
3. Phenobarbital
4. Butobarbital
5. Meghobarbital
6. Pentobarbital
7. Secobarbital



Anticonvulsants

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 70:30 Water-CH₃CN
Flow Rate: 2.0mL/min
Det.: UV at 254nm
Temp.: 20°C
Inj.: 10µL

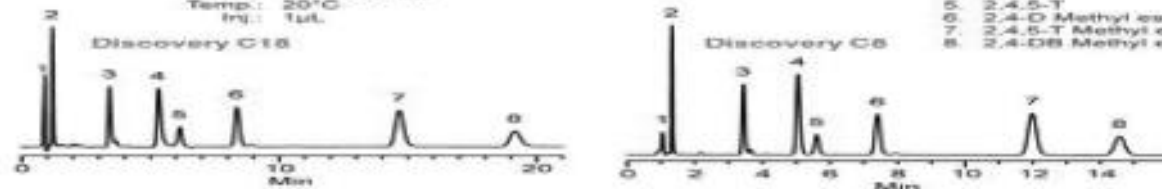
Sample:
1. Clonazepam
2. Clonazepam
3. Diazepam



Althanoic / Aryloxyalthanoic Acid Using Isocratic Elution

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 60:40 25mM Potassium Phosphate (pH 2.3):CH₃CN
Flow Rate: 2.0mL/min
Det.: UV at 214nm
Temp.: 20°C
Inj.: 1µL

Sample:
1. Solvent
2. Datapon
3. 2,4-D
4. 2,4-DB
5. 2,4,5-T
6. 2,4-D Methyl ester
7. 2,4,5-T Methyl ester
8. 2,4-DB Methyl ester



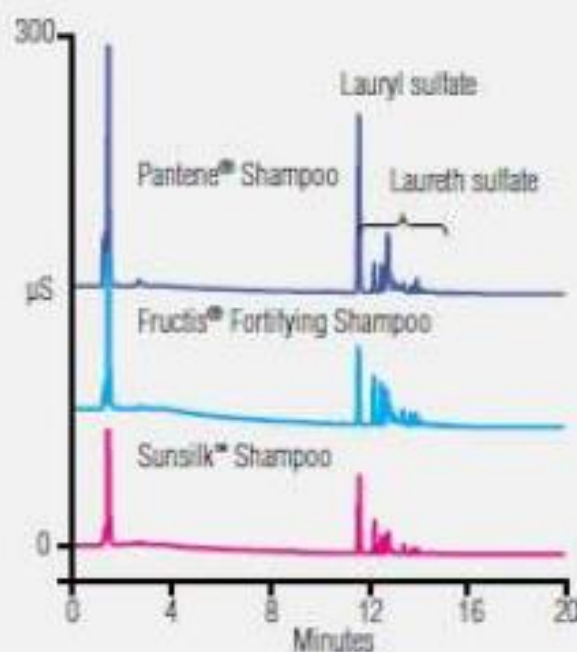
Profil kromatogram



Dalam gambar, area di bawah puncak Y < dibanding dengan area dibawah puncak X. Hal ini mungkin disebabkan :

- Karena Y lebih sedikit dari X
- Y mengabsorbsi sinar UV pada panjang gelombang lebih sedikit dibanding dengan X.

Hasil Analisis dengan menggunakan HPLC

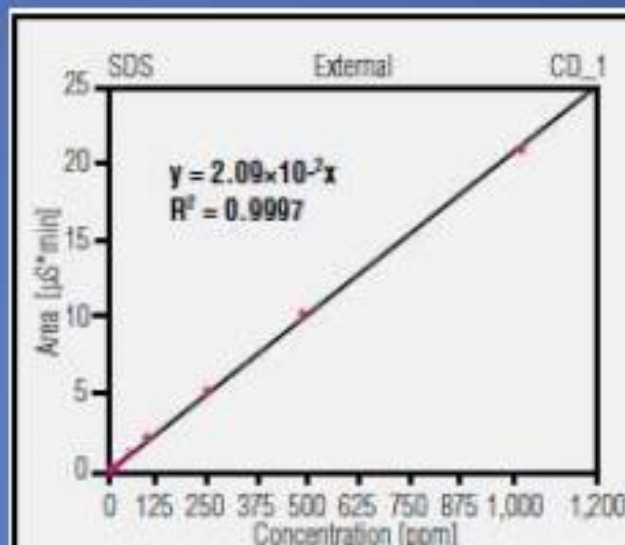


Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: (A) Acetonitrile
 (B) Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution)
 Gradient:

Time (min)	A	B
-12	0	100
0	0	100
15	70	30
20	70	30

 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 10 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 30 mN sulfuric acid)
 Sample: A shampoo sample suspended in H₂O and alcohol (50:50 w/v), sonicated for 60 min, then filtered through a 0.45- μ m membrane filter.

24249



Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: Acetonitrile/Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution) v/v 40/60
 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 25 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 20 mN sulfuric acid)
 Sample: Dodecyl sulfate (0.09 to 1000 ppm)

24245

Figure 7. Linearity under isocratic conditions. Dynamic range — 0.1 to 1000 ppm.

SISTEM ELUSI HPLC

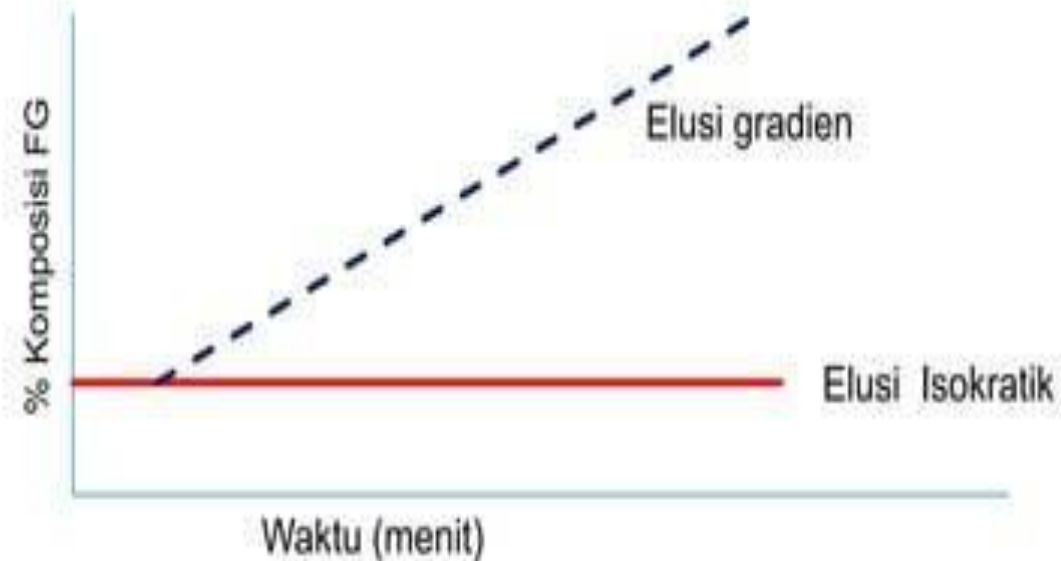
Sistem Pompa HPLC: Berdasarkan komposisi fase gerak/elusi

a. Isokratik (Isocratic elution):

→ Komposisi fase gerak tetap

b. Gradien (Gradient elution):

→ Komposisi fase gerak berubah-ubah



ELUSI GRADIEN (BERUBAH KOMPOSISI ELUEN SETIAP WAKTU)

Apabila suatu campuran senyawa yang kompleks ingin dianalisa yang terdiri dari komponen-komponen yang mempunyai afinitas yang sangat berbeda, sering didapatkan pemisahan yang tidak sempurna apabila digunakan sistim isokratik

Untuk memecahkan persoalan ini komposisi fasa gerak dapat diubah selama proses pemisahan sesuai dengan tingkat afinitas masing-masing komponen

Dapat menggunakan lebih dari dua pelarut yg secara otomatis dpt diubah komposisinya sesuai kebutuhan, sehingga diperoleh pemisahan yg baik. Biasanya menggunakan dua pompa FG

Keuntungan:

- Lebih baik untuk sampel campuran
- Memiliki resolusi yang lebih baik
- Kapasitas puncak lebih baik

ELUSI GRADIEN

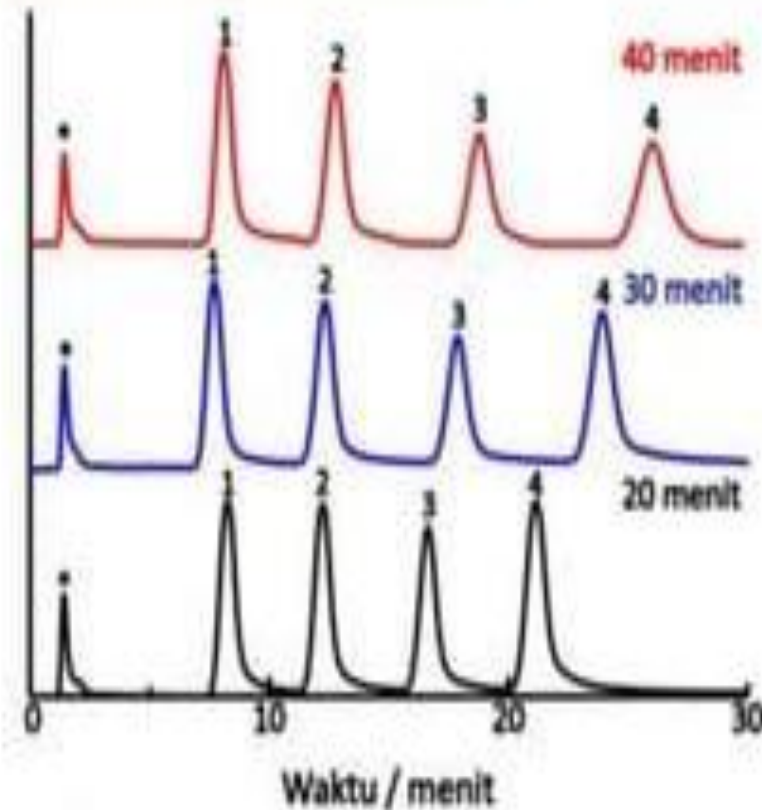
Contoh komposisi FG

Aseton itril	Air(%)	Waktu (menit)
90	10	0-5
70	30	5 -10
65	35	10-15
90	10	15-20

Kerugian

- Sistem pengaturan pd HPLC lebih kompleks
- Pengembangan Metode analisis dan implementasi lebih rumit
- Penyesuaian kolom dengan fase gerak membutuhkan waktu sehingga analisis menjadi lebih lama

Contoh komposisi FG pada elusi gradien



Gambar 5. Pemisahan alkilbenzena secara gradien elusi menggunakan kolom monolith poli-(LMA-co-EDMA). Fasa gerak A: asetonitril-air (40:60 w/w); fasa gerak B: asetonitril-air (60:40 w/w); laju alir 0,1 mL/menit; volume injeksi: 0,2 μ L; deteksi UV: 214 nm.
Puncak: (*) urasil, (1) etilbenzena, (2) propilbenzena, (3) butilbenzena dan (4) amilbenzena.

ELUSI ISOKRATIK

- Isokratik, cara pengaturan fasa gerak yg hanya memerlukan 1 macam komposisi pelarut baik pelarut tunggal maupun pelarut campuran. (komposisi pelarut sama dari mulai analisis hingga selesai)
- Jika digunakan 2 jenis pelarut maka diperlukan 2 pompa utk mengatur pelarut agar komposisinya tetap selama pemisahan
- Contoh: Metanol : Air: Asetonitril dengan perbandingan 50:10:40

TEKNIK PENANGANAN SAMPEL UJI

Sampel berupa padatan
perlu dihancurkan dan
dilarutkan, disaring

Sampel berupa larutan
dapat diencerkan

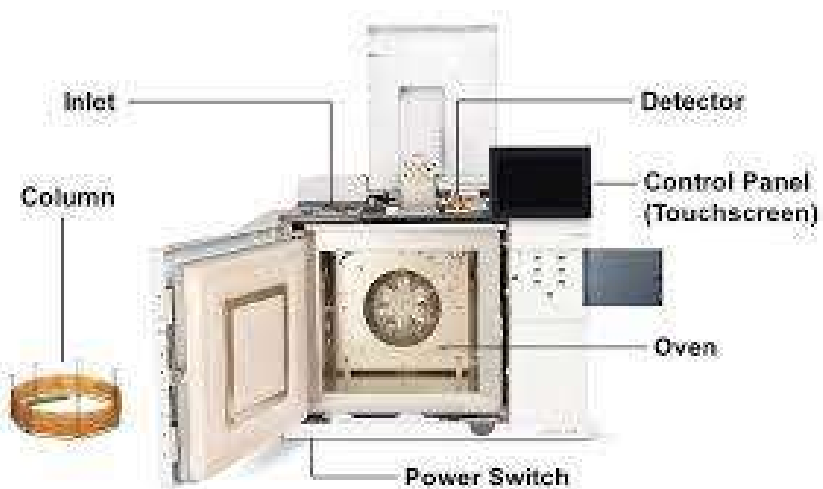
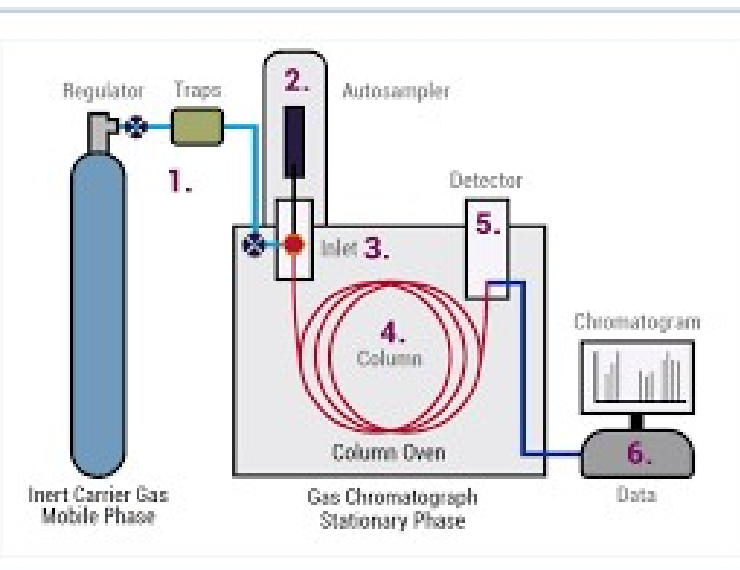
Sampel berupa krim atau
emulsi perlu dilarutkan dan
dipisahkan dari pembawa
yang dapat merusak kolom

VIDE

O

SELAMAT BELAJAR

KROMATOGRAFI GAS



- Merupakan metode yg dinamis untuk pemisahan dan deteksi untuk **senyawa yg mudah menguap** (volatile) dalam suatu campuran.
- Telah banyak digunakan dlm bidang industri, lingkungan, farmasi, **minyak**, kimia klinik, forensik, makanan dll.
- Untuk pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yg **mudah menguap**.
- Analisis **kualitatif dan kuantitatif senyawa** dalam suatu campuran.
- Bersifat **desktrutif dan non destruktif** tergantung detektor yg digunakan.
- Untuk analisis sampel padat, cair dan gas, dimana untuk **sampel padat harus dilarutkan sebelum diinjeksikan** (syringe).

Prinsip Kromatografi Gas



- Pemisahan solut yg mudah menguap (volatile)
- Solute stabil terhadap panas.
- Solute bermigrasi melalui kolom (fase diam) tergantung dr kecepatan distribusi.
- Solut akan terelusi karena ada peningkatan titik didih di kolom, kecuali ada interaksi antara solut dan fase diam.
- Fase gerak berupa gas akan mengelusi solut dr ujung kolom sampai kedetektor.
- Suhu yang digunakan kisaran $50 - 350^{\circ}\text{C}$

Jenis Kromatografi Gas



- **Kromatografi gas-cair (KGC)**

Fase diam yg digunakan : cairan yg diikatkan pd suatu bahan sehingga solut akan terlarut dlm fase diam

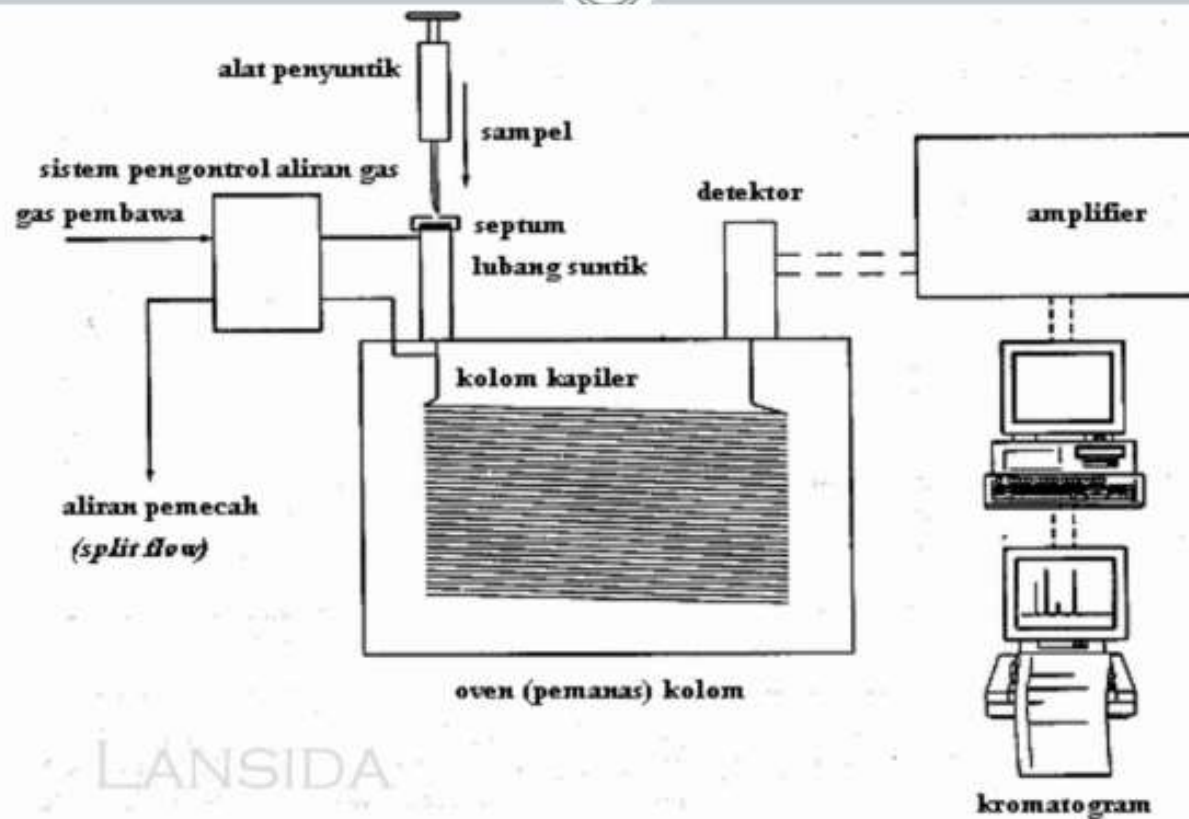
Mekanisme : partisi

- **Kromatografi gas-padat (KGP)**

Fase diam padatan (kadang2 polimerik).

Mekanismenya adsorpsi.

Sistem Kromatografi Gas



Fase Gerak



- Fase gerak = gas pembawa
- Fase gerak tidak berpengaruh pada selektifitas
- Bersifat tdk reaktif, murni/kering (detektor error), dpt disimpan dlm tangki tekanan tinggi (hidrogen : merah dan nitrogen: abu2)
- Gas pembawa : hidrogen, nitrogen, helium atau camp argon dan metana.
- Pemilihan fase gerak tergantung penggunaan detektor



- Helium : gas pembawa yg sering digunakan krn meberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik (mengurangi pelebaran pita).
- Kecepatan alir gas 50 – 70 mL/menit (d: 6mm)
- Kecepatan alir gas 25 – 30 mL/menit (d: 3 mm)
- Kecepatan alir gas 0,2 – 2 mL/menit (kolom kapiler)
- Kecepatan alir gas berbanding lurus dgn penampang kolom (4:2)
- Penggunaan kolom dgn diameter yg kecil menghemat penggunaan fase gerak



- Kecepatan alir pd kapiler sangat rendah, maka ditambahkan gas tambahan pd kebanyakan detektor
- Dimana gasnya ditambakna setelah solut mau mencapai detektor.
- Gas tambahan berupa helium
- Gas nitrogen efisien dgn kecepatan ± 10 mL/menit
- Gas helium efisien pd kecepatan alir ± 40 mL/menit

Fase gerak dan Detektor



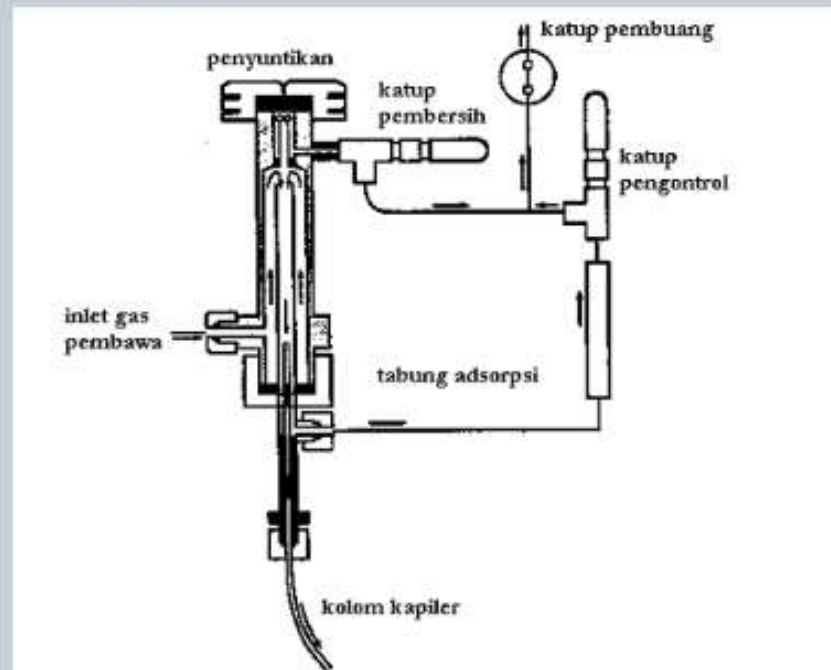
Gas Pembawa	Detektor
Hidrogen	Hantar Panas
Helium	Hantar Panas Ionisasi nyala Fotometri nyala Termoionik
Nitrogen	Ionisasi nyala Tangkap elektron Fotometri nyala Termoionik
Argon	Ionisasi nyala
Argon + metana 5 %	Tangkap elektron
Karbon dioksida	Hantar panas

Injektor/Inlet



- Fungsinya: mengantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa (fase gerak).
- Penyuntikan sampel bisa dilakukan manual dan autosampler (tergantung jumlah sampel)
- Sampel di dalam microsyringe disuntikan ke dlm lubang yg ditutup septum (karet yg tahan panas)
- Inlet hrs dipanaskan tersendiri dan tingginya 10 – 15°C dari suhu kolom maksimum (agar sampel menguap seluruhnya).

- Pada kolom kapiler yg diinjeksikan sampel hanya sedikit hanya 0,01 ul.



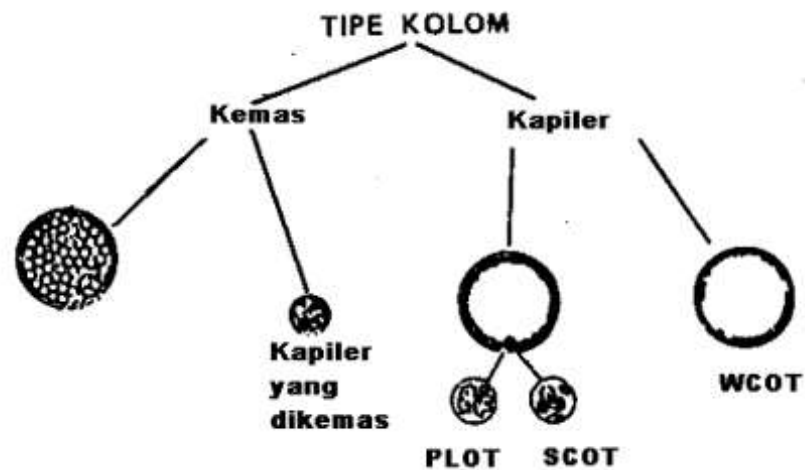
Preparasi Sampel

- Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Sampel padat harus dilarutkan dan **dapat larut dalam pelarut organik**, serta dapat **menguap**.
- Konsentrasi sampel biasanya 1-10%.
- Pelarut sample yang umum digunakan : hidrokarbon bertitik didih rendah, etil eter, alcohol, dan keton. Pelarut harus memiliki sifat berbeda dengan sampel yang dianalisis.

KOLOM GC

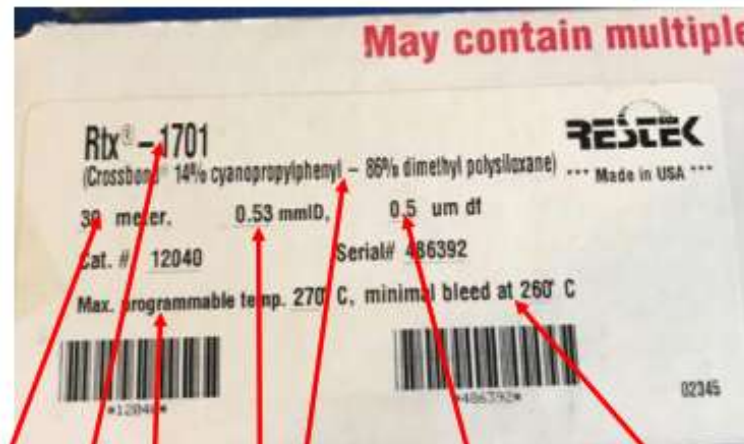
- Tempat pemisahan krn tdpt fase diam
- Merupakan Komponen sentral
- Ada 2 jenis kolom (Kolom kemas (*packing coloum*) dan kolom Kapiler (*Capillary coloum*)
- Kolom Kemas tdr dr fase cair (tabung relatif besar d: 1-3 mm).
- Kolom Kapiler: diameter kecil (0,02 – 0,2 mm) dan dinding kapiler utk penyangga fase diam cair.

Penampang Kolom Kemasan dan kolom Kapiler



Tabel 16.2. Perbandingan kolom kemas dan kolom kapiler

Parameter	Kolom kemas	Kolom kapiler
Tabung	Baja tahan karat (<i>stainless steel</i>).	Silika (SiO_2) dengan kemurnian yang sangat tinggi (kandungan logam < 1 ppm).
Panjang	1-5 m	5-60 m
diameter dalam	2-4 mm	0,10-0,53 mm
Jumlah lempeng/meter	1000	5000
Total lempeng	5000	300.000
Tebal lapisan film	10 mikron	0,05-1 mikron
Resolusi	Rendah	Tinggi
Kec. alir (mL/menit)	10-60	0,5-1,5
Kapasitas	10 μg /puncak	< 100 ng/puncak



Pajang Kolom

Jenis fase & Konsentrasi

Suhu max Program

diameter

Ketebalan Lapisan

Suhu minimal Kolom

- Semakin sempit diameter kolom maka efisiensi pemisahan kolom semakin besar/puncak kromatogram yg dihasilkan semakin tajam.
- **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.

Efisiensi kolom akan meningkat dengan semakin bertambah halus partikel fase diam ini. Semakin kecil diameter partikel fase diam, maka efisiensinya akan meningkat.

Ukuran partikel fase diam biasanya berkisar antara 60–80 mesh (250- 170 μm).

Untuk KGC dipakai lapisan tipis pada padatan pendukung dengan ketebalan 1-10 μm , dan maksimum fase diam cair yang terdapat pada padatan pendukung adalah 10%

- **Kolom kapiler:** kolom ini berbeda dengan kolom kemas, dalam hal adanya rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (tube). Oleh karena itu kolom kapiler juga disebut "Open tubular columns". Fase diam melekat mengelilingi dinding dalam kolom. Ada empat macam jenis lapisan pada kolom kapiler ini, yaitu:
 - *WCOT (Wall Coated Open Tube)*
 - *SCOT (Support Coated Open Tube);*
 - *PLOT (Porous Layer Open Tube);*
 - *FSOT (Fused Silica Open Tube).*

- Kolom kapiler sangat banyak dipakai atau lebih disukai oleh para ilmuwan. Salah satu sebabnya antara lain kemampuan kolom kapiler memberikan harga jumlah pelat teori yang sangat besar (> 300.000 pelat).
- Banyak macam bahan kimia yang dipakai sebagai fase diam antara lain: squalen, DEGS (Dietilglukol suksinat), OV-17 (phenil methyl silicone oil). Semakin tipis lapisan penyalut sebagai fase diam, maka semakin tinggi suhu operasionalnya. Untuk lapisan salut < 1 μm , suhu operasional dapat mencapai 460°C, sementara itu suhu minimalnya dapat mencapai - 60°C.

- Fase diam yang dipakai pada kolom kapiler dapat bersifat non polar, polar, atau semi polar.
- 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; DBWAX; CP-WAX; Carbowax-20M).
- Jenis fase diam akan menentukan urutan elusi komponen-komponen dalam campuran.. Contoh fase diam, kegunaan untuk analisis golongan senyawa, polaritas, dan suhu maksimum operasi yang diizinkan diringkas pada tabel dibawah ini :

Jenis Fase Diam dan Penggunaannya

Fase diam	Polaritas	Golongan sampel	Suhu maksimum
Squalen	non polar	hidrokarbon	125°C
Apiezon L	non polar	Hidrokarbon, ester, eter	300°C
Metil silikon	non polar	Steroid, pestisida, alkaloida, ester	300°C
Dionil ptalat	semi polar	Semua jenis	17°C
Dietilenglikolsuksinat	polar	Ester	200°C
Carbowax 20M	polar	Alkohol, amina aromatik, keton	250°C

Suhu Kolom

GC didasarkan pada 2 sifat senyawa yang dipisahkan yaitu :

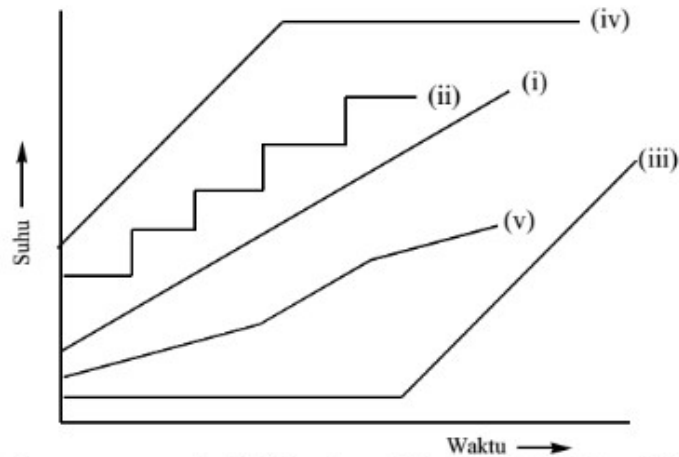
- a. kelarutan senyawa dalam cairan tertentu,
- b. tekanan uapnya atau keatsiriannya (titik didih senyawa).

Karena tekanan uap berbanding langsung dengan suhu, maka suhu merupakan faktor yang utama pada GC. Walaupun suhu kolom dapat berkisar antara $-100-400\text{ }^{\circ}\text{C}$, dalam prakteknya beberapa pembatas harus diperhatikan.

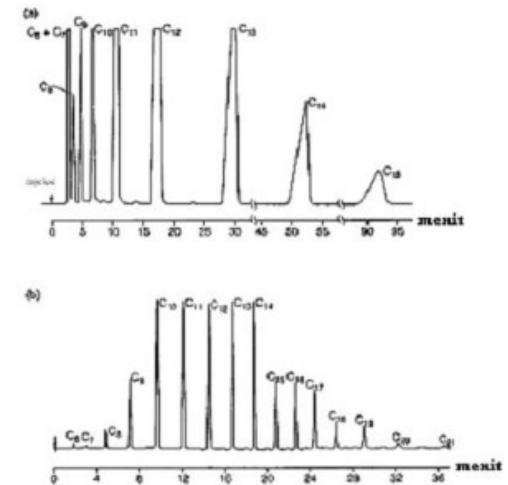
Suhu pemakaian kolom yang mengandung fase diam ini dibatasi juga oleh kestabilannya. Beberapa fase diam jika digunakan suhu yang terlalu tinggi akan terurai secara perlahan-lahan. Suhu minimum dan maksimum berbagai jenis fase diam yang dianjurkan terdapat dalam tabel dibawah ini :

Fase diam	Suhu minimum (°C)	Suhu maksimum (°C)
Apiezon L	50	255
Metil silikon	0 (untuk gom 100)	300-3500
Fenil/metil silikon	0	300
Carbowax (polietilen glikol)	10-30	225
Sianosilikon	0	275
Alkil ftalat	20	225
Dexsil	50	450

- Pemisahan pada KG dapat dilakukan pada suhu tetap yang biasanya disebut dengan pemisahan isothermal dan dapat dilakukan dengan menggunakan suhu yang berubah secara terkendali yang disebut dengan pemisahan suhu terprogram.



Gambar 16.4. Lima jenis pemrograman suhu (i) linier dengan laju yang kita inginkan. (ii) bertahap. yang diikuti peningkatan suhu secara linier. (iv) linier diikuti dengan isothermal. (v) multilinier.



Gambar 16.5. Pemisahan seri *n*-alkana yang dilakukan pada suhu isothermal (gambar a) dan pada suhu terprogram (pada gambar b); kolom: Apiezon 3%; kecepatan alir fase gerak (Helium): 10 ml/menit.

Regenerasi Kolom

Setelah kolom dipakai dalam jangka waktu sekian lama, kemungkinan yang paling sering terjadi adalah penyumbatan kolom. Hal ini sering terjadi pada kolom kapiler. Akibat dari hal tersebut maka kinerja kolom akan menurun, khususnya untuk kolom yang fase diamnya adalah fase terikat. Apabila terjadi penyumbatan pada kolom kapiler atau menurunnya kinerja kolom, maka perlu dilakukan regenerasi untuk meremajakan atau mengembalikan kinerja kolom pada kondisi semula

Cara Regenerasi Kolom

- **Pemotongan kolom**

Pemotongan kolom biasanya dilakukan jika terjadi penyumbatan pada ujung depan kolom (terutama kolom kapiler). Komponen-komponen sampel yang tidak dapat diatsirikan (diuapkan) sering menyumbat kolom pada ujung depannya. Salah satu tanda adanya penyumbatan pada kolom adalah adanya puncak kromatogram yang melebar atau berekor. Pengatasan masalah ini yang umum dilakukan adalah dengan cara memotong kolom kapiler tersebut sepanjang 50 cm dari ujung depannya. Biasanya pemotongan dikerjakan dengan memakai pemotong intan yang ujungnya sangat tajam (pensil intan)



- **Pengkondisian (*Conditioning*)**

untuk memelihara kolom agar waktu hidup (life time)-nya cukup lama. Pengkondisian dilakukan lebih kurang 30 menit sebelum dan sesudah analisis, tergantung pada kontaminasinya. Oleh karena itu, dapat saja dilakukan pengkondisian lebih dari 30 menit. Suhu yang dipakai pada saat pengkondisian sebaiknya terprogram dengan kenaikan $5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai suhu operasional

- **Pencucian kolom**

untuk kolom fase terikat sebaiknya dilakukan pencucian dengan memakai tangki (tabung) pencuci yang dilakukan di luar oven.

Yang terbaik untuk dipakai sebagai larutan pencuci adalah pentana yang dapat dipakai sebagai larutan pencuci semua jenis kolom.

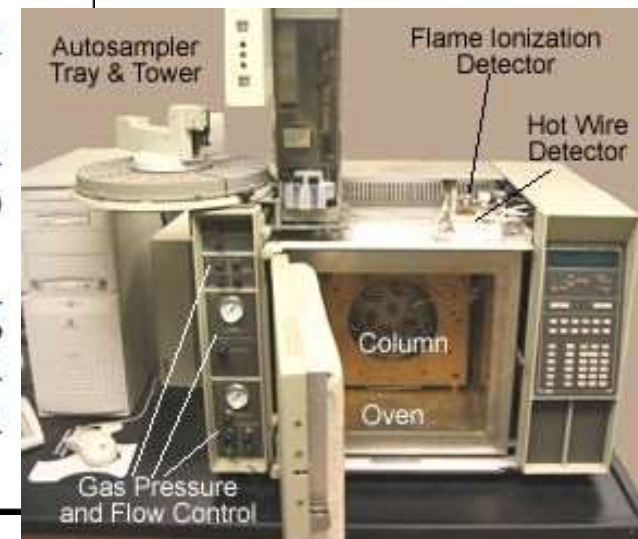
Untuk mencuci material pengotor yang lebih polar dapat juga dipakai metilen klorida atau metanol.

Setelah proses pencucian maka diusahakan semua cairan pencuci keluar dari kolom.

Pada saat instalasi kembali, kolom yang telah dicuci jangan dihubungkan langsung dengan detektor

DETEKTOR GC

- Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan.
- suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik.
- Kromatogram yang merupakan hasil pemisahan fisik
- komponen-komponen oleh KG disajikan oleh detektor sebagai deretan luas puncak terhadap waktu
- Akan tetapi apabila kromatografi gas digabung dengan instrumen yang multipleks misalnya GC/FT-IR/MS, kromatogram akan disajikan dalam bentuk lain.

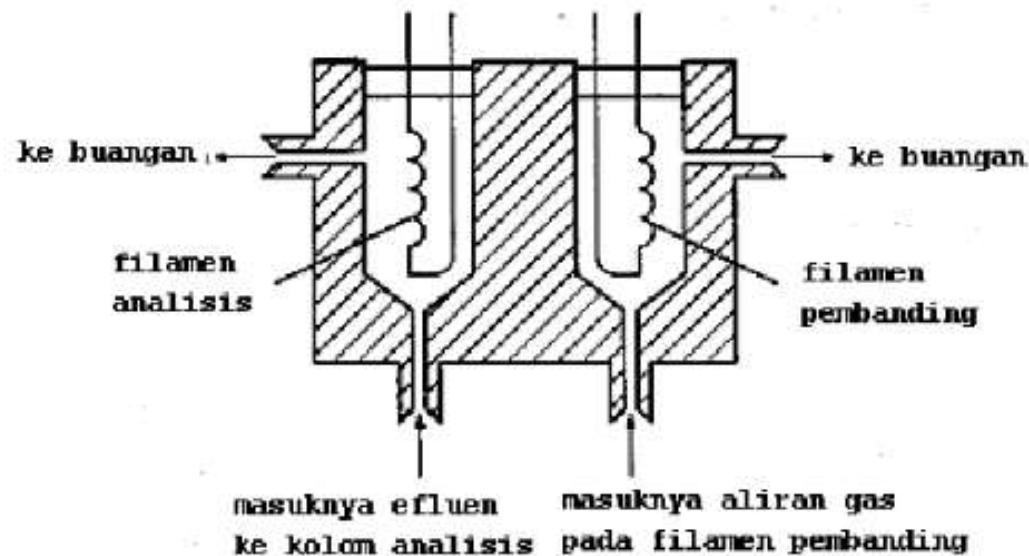


Jenis detektor	Jenis sampel	Batas deteksi	Kecepatan alir (mL/menit)		
			Gas pem-bawa	H ₂	Udara
Hantar panas	Senyawa umum	5-100 ng	15-30	-	-
Ionisasi nyala	Hidrokarbon	10-100 pg	20-60	30-40	200-500
Penangkap elektron	Halogen organik, pestisida	0,05-1 pg	30-60	-	-
Nitrogen-fosfor	Senyawa nitrogen organik dan Fosfat organik	0,1-10 g	20-40	1-5	70-100
Fotometri nyala (393 nm)	Senyawa-senyawa sulfur	10-100 pg	20-40	50-70	60-80
Fotometri nyala (526 nm)	Senyawa-senyawa fosfor	1-10 pg	20-40	120-170	100-150
Fotoionisasi	Senyawa-senyawa yang terionisasi dengan UV	2 pg C/detik	30-40	-	-
Konduktivitas elektrolitik	Halogen, N, S	0,5 pg Cl 2 pg S 4 pg N	20-40	80	-
<i>Fourier Transform</i> -infra merah (FT-IR)	Senyawa-senyawa organik	1000 pg	3-10	-	-
Selektif massa	Sesuai untuk senyawa apapun	10 pg-10 ng	0,5-30	-	-
Emisi atom	Sesuai untuk elemen apapun	0,1-20 pg	60-70	-	-

Detektor hantar panas

(*Thermal Conductivity Detektor=TCD*)

- Detektor ini didasarkan bahwa panas dihantarkan dari benda yang suhunya tinggi ke benda lain di sekelilingnya yang suhunya lebih rendah.
- Kecepatan penghantaran panas ini tergantung susunan gas yang mengelilinginya.
- Gas BM rendah mempunyai daya hantar lebih tinggi.
- Jika ada komponen/senyawa yang dibawa fase gerak masuk kedalam detektor, karena BM senyawa biasanya tinggi maka daya hantar menjadi turun.

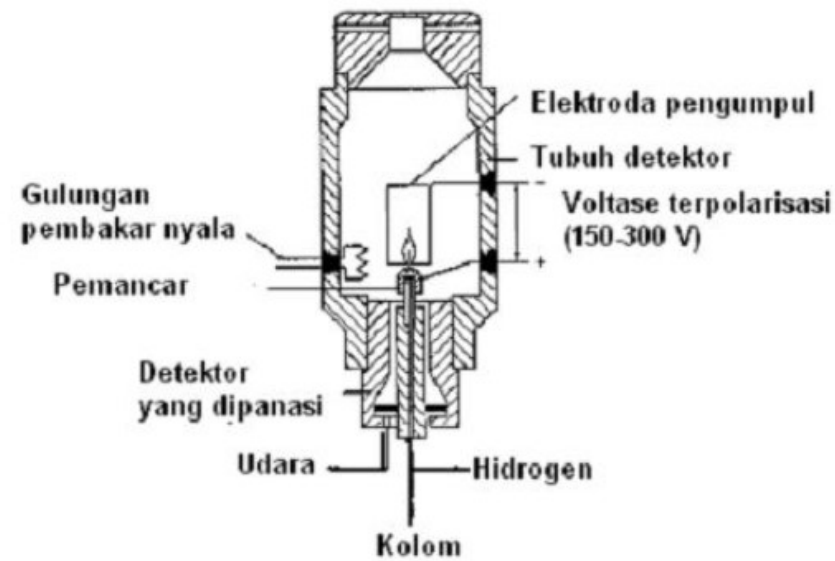


Detektor ini memberi keuntungan bahwa komponen yang dideteksi tidak rusak, sehingga memungkinkan komponen dikumpulkan untuk analisis lebih lanjut.

Detektor hantar panas termasuk detektor konsentrasi, yakni semua molekul yang melewatinya diukur jumlahnya dan tidak tergantung pada laju aliran fase gerak.

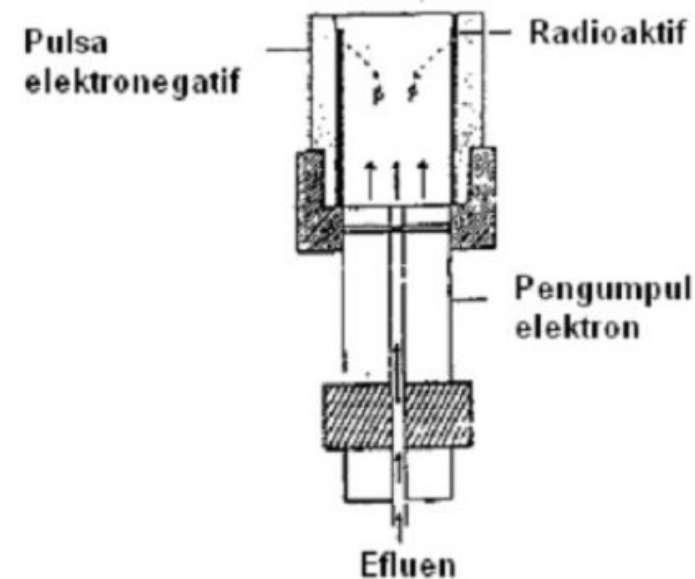
Detektor Ionisasi Nyala (*Flame Ionization Detektor = FID*)

- senyawa organik bila dibakar akan terurai menjadi pecahan sederhana bermuatan positif, biasanya terdiri atas satu karbon (C^+).
- Pecahan ini meningkatkan daya hantar di sekitar nyala, tempat yang telah dipasang elektroda, dan peningkatan daya hantar ini dapat diukur dengan mudah dan direkam. Dengan demikian, gas efluen dari kolom dialirkan ke dalam nyala hidrogen yang terbakar di udara
- Detektor ionisasi nyala (FID) ini mengukur jumlah atom karbon, dan bukan jumlah
- molekul seperti pada TCD



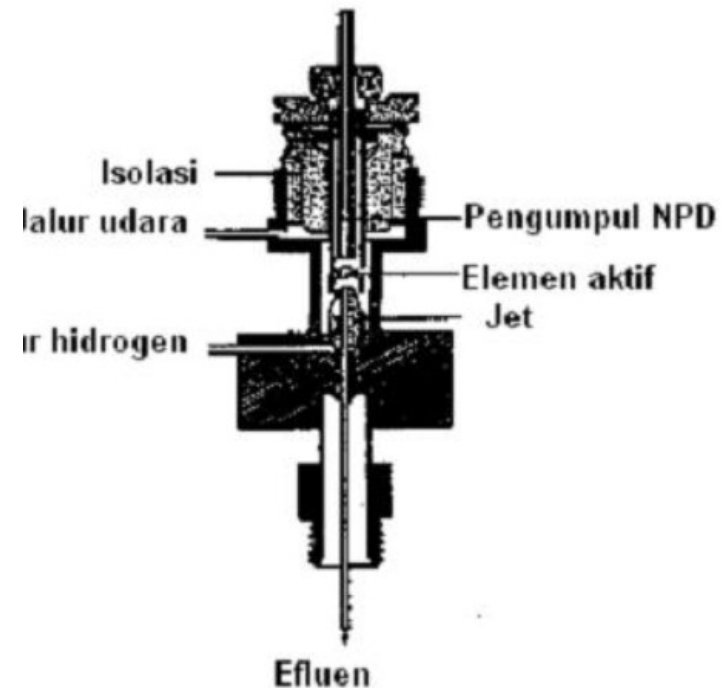
Detektor tangkap elektron (Elektron Capture Detektor= ECD)

- Detektor ini dilengkapi dengan sumber radio aktif yaitu tritium ($_3\text{H}$) atau $_{63}\text{Ni}$ yang ditempatkan diantara dua elektroda.
- Tegangan listrik yang dipasang antara katoda dan anoda tidak terlalu tinggi (2-100 volt).
- Prinsip Kerja: penangkapan elektron oleh senyawa yang mempunyai afinitas terhadap elektron bebas, yaitu senyawa yang mempunyai unsur-unsur elektronegatif.



Detektor nitrogen-fosfor (*Nitrogen Phosphorous Detektor* =NPD)

- Prinsip Kerja NPD = FID
- NPD sangat selektif terhadap nitrogen dan fosfor karena adanya elemen aktif diatas aliran kapiler yang terbakar oleh plasma (1600 °C)
- NPD sangat baik dalam analisis dibidang farmasi dan klinik disamping itu sangat baik pula untuk mendukung analisis mengenai dampak lingkungan
- Gas pengelusi yang baik adalah helium dengan laju aliran yang umum dipakai 30 ml/menit



Detektor fotometri nyala

- Prinsip kerja: senyawa yang mengandung sulfur atau fosfor dibakar dalam nyala hidrogen-oksigen, maka akan terbentuk spesies-spesies yang tereksitasi yang akan runtuh (*decay*) dan menghasilkan suatu emisi kemiluminesen yang spesifik yang dapat diukur pada panjang gelombang tertentu.
- Untuk yang mengandung atom S (393 nm), sementara yang mengandung fosfor panjang gelombang 526 nm

Detektor konduktivitas elektrolitik

- Detektor yang spesifik untuk mendeteksi senyawa yang mengandung atom sulfur, nitrogen, dan halogen.
- Detektor ini tersusun atas tungku (*furnace*) yang mampu memberikan suhu paling kecil 100 °C.
- Efluen dari kolom KG akan memasuki tungku lalu dipirolisiskan dalam suatu udara yang kaya hidrogen atau oksigen.
- Hasil-hasil dari pirolisis ini selanjutnya dicampur dengan pelarut yang sesuai dan menghasilkan suatu larutan yang bersifat konduktif

Detektor foto-ionisasi

- suatu senyawa menyerap energi foton dari suatu lampu UV, maka senyawa tersebut akan terionisasi
- Detektor ini dapat digunakan untuk deteksi senyawa-senyawa aromatis, keton, aldehid, ester, amin, senyawa-senyawa sulfur organik, senyawa-senyawa anorganik seperti hidrogen sulfida, HI, HCl, klorin, iodium, dan fosfin.
- Keuntungan lain detektor ini adalah bahwa pelarut-pelarut umum yang sering digunakan seperti metanol, kloroform, metilen klorida, karbon tetraklorida, dan asetonitril tidak memberikan atau sedikit memberikan tanggapan (respon), jika digunakan lampu UV yang mempunyai potensial ionisasi 12 eV.

Detektor spektrometer massa

- Spektrometer massa jika digunakan sebagai detektor maka akan mampu memberikan informasi data struktur kimia senyawa yang tidak diketahui.
- Dengan menggunakan spektrometer massa untuk memonitor ion tunggal atau beberapa ion yang karakteristik dalam analit, maka batas deteksi ion-ion ini akan ditingkatkan

APLIKASI GC

1. Aplikasi dalam pemeriksaan kebersihan

Kromatografi gas digunakan untuk mengecek apakah ada polutan udara atau yang berasal dari air seperti **senyawa organik yang mudah menguap, hidrokarbon aromatik polisiklik, benzena, toluena, benzo dll; residu organoklorin, pestisida organofosfat pada tanaman; bahan tambahan makanan seperti asam benzoat; cairan tubuh dan jaringan dan bahan biologis lainnya Analisis asam amino, asam lemak, vitamin, dll.**

2. Aplikasi dalam pemeriksaan kesehatan

Kromatografi gas digunakan untuk **Analisis cairan biologis seperti cairan tubuh dan jaringan: asam lemak, trigliserida, vitamin, gula, dll.**

3. Aplikasi dalam analisis obat

Kromatografi gas digunakan untuk pemeriksaan **Obat antiepilepsi, komponen volatil dalam obat paten Cina, dan penentuan alkaloid.**

SELAMAT BELAJAR