

**MODUL PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS**  
**(FAR6250324)**



**Tim Penyusun:**

apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**  
**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO**  
**YOGYAKARTA**  
**2025**

# KATA PENGANTAR

Modul Praktikum Kimia Analisis adalah petunjuk tata laksana mata kuliah Praktikum Kimia Analisis (FAR6250324) yang harus dilaksanakan oleh mahasiswa semester II, Program Studi S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta tahun ajaran 2024/2025. Panduan ini bukan merupakan referensi yang dapat dijadikan pustaka baku untuk sebuah makalah ataupun laporan, dengan demikian mahasiswa diharapkan untuk tetap mempelajari buku-buku referensi sekunder lain terkait keilmuan Kimia Analisis guna menambah pengetahuan dan memperkuat pemahaman atas ilmu yang dipelajari dan praktikum yang dikerjakan.

Modul panduan Praktikum Kimia Analisis ini merupakan pengembangan berbagai referensi yang tercantum dalam daftar pustaka, dalam rangka memberikan bekal keterampilan dan keilmuan yang relevan bagi mahasiswa S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta. Namun demikian, masih terdapat banyak kekurangan dan masih memerlukan berbagai penyempurnaan lebih lanjut. Untuk itu, berbagai hal yang belum terakomodir dalam modul ini, akan diatur kemudian dalam proses pembelajaran Praktikum Kimia Analisis. Selain itu, sangat diharapkan kritik dan saran bagi kelengkapan dan perbaikan modul ini.

Sebagai penutup, penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah ikut membantu dalam mewujudkan modul praktikum ini.

Yogyakarta, Maret 2025

Tim penyusun

# DAFTAR ISI

MODUL PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS.....	1
KATA PENGANTAR .....	2
DAFTAR ISI .....	3
TATA TERTIB PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS .....	4
TEORI DASAR SPEKTROFOTOMETRI .....	5
PRAKTIKUM 1. <i>GOOD LABORATORY PRACTICE</i> .....	25
PRAKTIKUM 2 ANALISIS KANDUNGAN DEKSAMETASON DALAM JAMU DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) .....	25
PRAKTIKUM 3 TITRASI ASAM-BASA.....	25
PRAKTIKUM 4 ANALISIS PENETAPAN KADAR PARARACETAMOL DENGAN SPEKTROFOTOMETER ULTRAVIOLET-VISIBLE (UV-VIS) .....	25
PRAKTIKUM 5 IDENTIFIKASI GUGUS FUNGSI SENYAWA ASAM BENZOAT DENGAN SPEKTROFOTOMETER INFRAMERAH .....	28
PRAKTIKUM 6 ANALISIS KANDUNGAN KAFEIN DALAM KOPI DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI .....	33
PRAKTIKUM 7 IDENTIFIKASI QUARSETIN DENGAN KROMATOGRAFI DENSITOMETRI.....	37

## TATA TERTIB PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS

1. Setiap peserta harus hadir tepat pada waktu yang telah ditentukan. Apabila peserta terlambat lebih dari 15 (lima belas) menit dari waktu yang telah ditentukan, maka mahasiswa tidak diperkenankan mengikuti praktikum pada hari itu dan diwajibkan mengikuti praktikum pada hari lain (inhal untuk percobaan tersebut).
2. Selama mengikuti praktikum, peserta harus memakai sepatu dan kaos kaki (dilarang mengenakan sandal atau sepatu sandal) dan jas praktikum berwarna putih dan dikancingkan dengan rapi.
3. Setiap peserta wajib membuat laporan sementara sebelum mengikuti praktikum yang formatnya sudah ditentukan.
4. Setiap peserta wajib membuat catatan data praktikum dan ditandatangani dosen/asisten setelah selesai suatu acara praktikum.
5. Setiap peserta wajib membuat laporan akhir praktikum dan dikumpulkan sebelum mengikuti praktikum berikutnya.
6. Setiap peserta harus mengembalikan alat-alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering. Sebelum meninggalkan ruang praktikum, peserta harus mengembalikan botol-botol bahan kimia yang telah ditutup rapat ke tempat semula.
7. Setiap peserta harus menjaga kebersihan dan kerapian laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama mengikuti praktikum, peserta harus bersikap sopan, baik dalam berbicara maupun bergaul.
8. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3).
9. Dapatkan nasehat/keterangan dari dosen atau asisten mengenai segala sesuatu yang berkaitan dengan hal yang kurang jelas sebelum melakukan percobaan.
10. Semua mahasiswa tidak dibenarkan bekerja di dalam laboratorium tanpa kehadiran dosen/asisten praktikum.
11. Mahasiswa yang sakit atau memiliki keperluan sangat mendesak sehingga tidak dapat mengikuti praktikum pada hari yang telah terjadwal, diperbolehkan inhal (menunda praktikum) dengan mengirim surat ijin/permohonan praktikum inhal kepada dosen yang mengampu.
12. Apabila peserta praktikum melanggar hal-hal yang telah diatur di atas maka yang bersangkutan dapat dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan untuk melanjutkan praktikum pada hari itu. Kegiatan praktikum dinyatakan batal dan tidak diijinkan untuk inhal.
13. Hal-hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian.

# TEORI DASAR SPEKTROFOTOMETRI

Spektrofotometri adalah teknik analisis yang menggunakan cahaya untuk mengukur konsentrasi suatu bahan kimia. Dalam uraian ini, hanya dibatasi pada penggunaan cahaya di daerah ultraviolet (UV) yaitu antara panjang gelombang ( $\lambda$ ) 200 - 400 nm yang memiliki energi setara dengan 72-150 kcal/mol, dan pada daerah sinar tampak (VIS, visible) yaitu antara panjang gelombang 400 - 800 nm yang memiliki energi setara dengan 36 - 72 kcal/mol.

Rentang energi pada kisaran tersebut seringkali berhubungan dengan perbedaan energi antara keadaan elektron beberapa molekul. Transisi elektron dalam suatu molekul dapat terjadi apabila molekul tersebut menyerap energi yang sesuai dengan besarnya energi untuk keperluan tersebut.

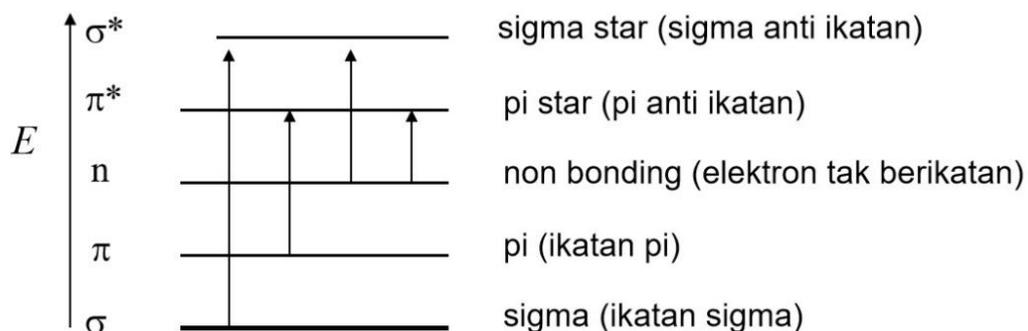
## Sistem ikatan tunggal atau sistem sigma ( $\sigma$ )

Sistem ikatan tunggal (ikatan  $\sigma$ ) cenderung menunjukkan transisi elektron dari orbital ikatan sigma ke orbital anti ikatan sigma ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ). Bila dalam molekul dengan ikatan sigma terdapat juga elektron non ikatan (non bonding, n), dapat pula terjadi transisi elektron non ikatan ke orbital anti ikatan sigma ( $n \rightarrow \sigma^*$ ). Kedua transisi tersebut ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$  dan  $n \rightarrow \sigma^*$ ) secara khas terjadi atau teramati pada pita absorpsi di bawah 200 nm.

## Sistem ikatan rangkap dua atau sistem pi ( $\pi$ )

Sistem ikatan rangkap dua atau sistem pi ( $\pi$ ) dan elektron non ikatan apabila menyerap cahaya dengan energi yang sesuai dapat mengalami transisi elektron yang menghasilkan pita absorpsi di daerah UV-VIS. Transisi tersebut merupakan jenis transisi dari orbital ikatan pi ke orbital anti ikatan pi ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) dan transisi dari elektron non ikatan ke orbital anti ikatan pi ( $n \rightarrow \pi^*$ ).

## Tipe transisi elektronik



Gambar 1. Diagram tingkat energi

Logam-logam transisi yang memiliki orbital d tidak terisi atau terisi sebagian biasanya menunjukkan pita absorpsi di daerah UV-Vis. Transisi yang menghasilkan pita tersebut sering merupakan hasil dari perbedaan tingkat energi pada elektron d

(logam yang bersangkutan) yang meningkat dari elektron-elektron atom donor yang terikat secara koordinasi. Karakteristik spektra logam transisi melibatkan transisi elektron antara tingkat energi yang berbeda-beda dari orbital d. Absorpsi melibatkan transisi elektron dari suatu orbital d yang memiliki energi rendah ke orbital d yang memiliki energi tinggi.

Tabel 1. Karakteristik transisi elektron

	Transisi	$\lambda$ (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 <sub>2</sub> O, CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> Cl CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>
	$n \rightarrow \pi^*$	250-600	1~2	Karbonil, nitro, nitrat, karboksil

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

Sampel yang secara nyata mengabsorpsi di daerah Vis biasanya memiliki warna karena warna akan dihasilkan apabila suatu pita frekuensi tertentu diabsorpsi dari sinar putih. Panjang gelombang sesungguhnya dari transisi d-d tergantung pada logam yang terlibat (jumlah elektron d yang mula-mula ada), jumlah gugus pengkoordinasi, kekuatan (kebasaan) dari atom donor dan geometri dari gugus pengkoordinasi.

Molekul-molekul dengan kemampuan untuk menunjukkan transisi elektronik seperti di atas dinamakan memiliki kromofor (chromo: warna, phoros: pembentuk). Kromofor sering dikaitkan dengan gugus molekuler tertentu.

- Untuk mengamati transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$ , molekul tersebut harus memiliki gugus molekuler yang terdiri dari ikatan rangkap seperti etilen, asetilen, karbonil dan senyawa azo.
- Untuk mengamati transisi  $n \rightarrow \pi^*$ , molekul harus memiliki ikatan rangkap dan elektron-elektron non ikatan seperti karbonil, gugus nitro dan gugus azo.
- Molekul yang menunjukkan transisi  $n \rightarrow \sigma^*$  harus memiliki ikatan tunggal dan elektron-elektron non ikatan seperti alkohol, amida dan air.

Gugus lain yang dikenal dengan auksokrom (auxein: meningkat, chromo: warna) tidak menunjukkan absorpsi sendiri tetapi dapat mempengaruhi panjang gelombang atau intensitas suatu pita absorpsi dari suatu kromofor.

Pergeseran panjang gelombang dapat diklasifikasikan sebagai:

- Pergeseran bathokromik yaitu pergeseran merah atau pergeseran ke panjang gelombang ( $\lambda$ ) yang lebih panjang.

- Pergeseran hipsokromik yaitu pergeseran biru atau pergeseran ke panjang gelombang ( $\lambda$ ) yang lebih pendek.

Peningkatan intensitas absorpsi dinamakan efek hiperkromik, sedangkan penurunan intensitas absorpsi dinamakan dengan efek hipokromik.

Proses klasik untuk melakukan pengukuran secara fisik suatu absorpsi molekuler dari sinar UV atau Vis melibatkan pelewatan cahaya melalui sampel. Tenaga radiasi sinar datang ( $P_0$ ) dan tenaga sinar yang diteruskan ( $P$ ) sesudah melalui sampel berkaitan dengan definisi transmittan ( $T$ ).

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

Atau bila dirumuskan dengan absorban ( $A$ ) maka:

$$A = -\log T$$

Ada hubungan antara energi yang dimiliki sinar dengan panjang gelombang sinar yang bersangkutan:

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

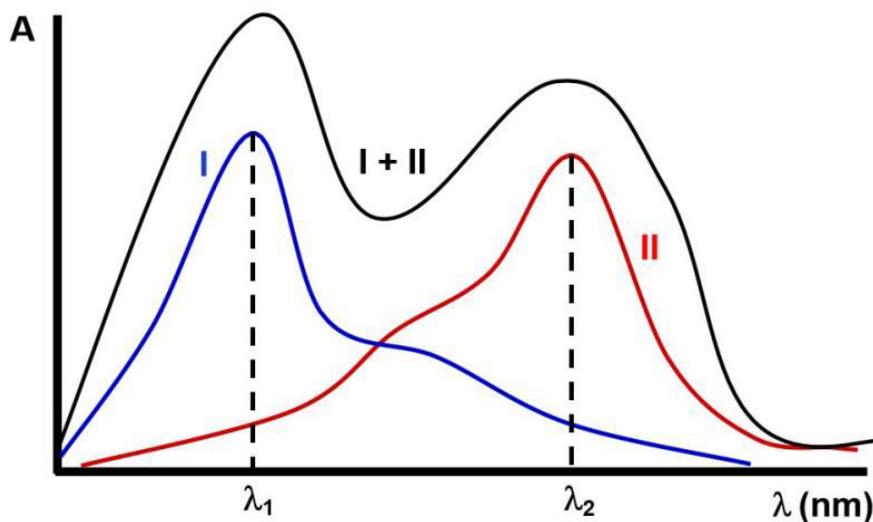
E: tenaga radiasi cahaya  
h: tetapan planck yang harganya  $6,626 \times 10^{-34}$  joule.  
c: kecepatan cahaya yang harganya  $2,998 \times 10^8$  ms<sup>-1</sup>  
 $\lambda$ : panjang gelombang

Ada hubungan kuantitatif antara banyaknya sinar yang diserap bila sinar mengenai sampel (dalam larutan) dan konsentrasi dari zat penyerap. Hubungan tersebut dikenal dengan hukum Lambert-Beer.

$$A = \epsilon bc$$

A: absorban  
 $\epsilon$ : koefisien ekstingsi molar (cm<sup>-1</sup>M<sup>-1</sup>)  
b: tebal kuvet (cm)  
c: konsentrasi (M)

Campuran 2 senyawa juga dapat ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri. Sebagai contoh adalah penetapan kadar asetosal dan asam salisilat, masing-masing dapat ditetapkan dengan menggunakan serapan pada daerah ultraviolet. Campuran asam salisilat dan asetosal sering terjadi dalam sediaan karena peruraian asetosal, Berikut adalah spektra dari campuran 2 senyawa:



**Gambar 2.** Spektra dari asetosal dan asam salisilat

Spektra di atas merupakan spektra campuran dari asetosal (I,  $\lambda_1$ ) dalam kloroform yang memberikan panjang gelombang maksimal di 278 nm dan asam salisilat (II,  $\lambda_2$ ) yang memberikan panjang gelombang maksimal di 308 nm. Dari spektra ini dapat digunakan untuk menurunkan persamaan di atas, yaitu:

$$A^{278} = A_{\text{asetosal}}^{278} + A_{\text{asam salisilat}}^{278}$$

$$A^{278} = \epsilon_{\text{asetosal}}^{278} \cdot b \cdot C_{\text{asetosal}} + \epsilon_{\text{asam salisilat}}^{278} \cdot b \cdot C_{\text{asam salisilat}}$$

$$A^{308} = A_{\text{asetosal}}^{308} + A_{\text{asam salisilat}}^{308}$$

$$A^{308} = \epsilon_{\text{asetosal}}^{308} \cdot b \cdot C_{\text{asetosal}} + \epsilon_{\text{asam salisilat}}^{308} \cdot b \cdot C_{\text{asam salisilat}}$$

Keterangan:

$A_{278}$  dan  $A_{308}$  adalah absorbansi yang diamati dari suatu campuran pada panjang gelombang 278 nm dan 308 nm.

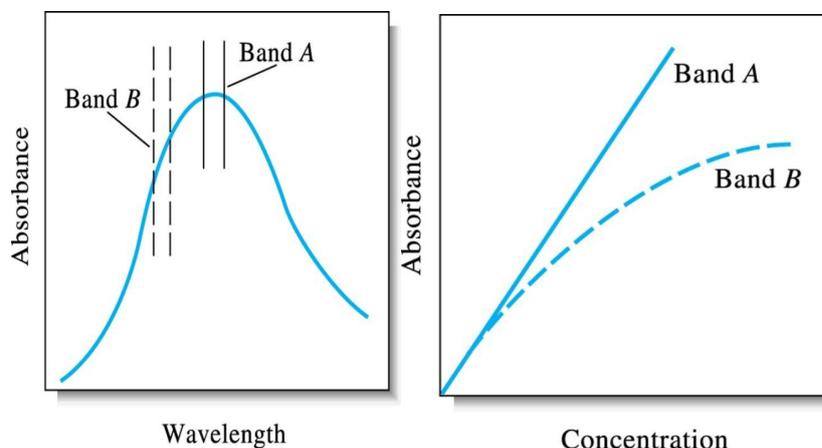
Bagian dari suatu molekul yang bertanggungjawab pada penyerapan cahaya dinamakan kromofor. Setiap benda yang menyerap sinar tampak akan nampak berwarna. Warna yang dapat dilihat dikatakan sebagai komplemen dari warna yang diserap.

Tabel berikut ini menunjukkan hubungan antara warna yang diamati, warna yang diserap dan panjang gelombangnya.

Panjang gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati/komplemen
400-435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
435-480 nm	Biru	Kuning
480-490 nm	Biru kehijauan	Oranye

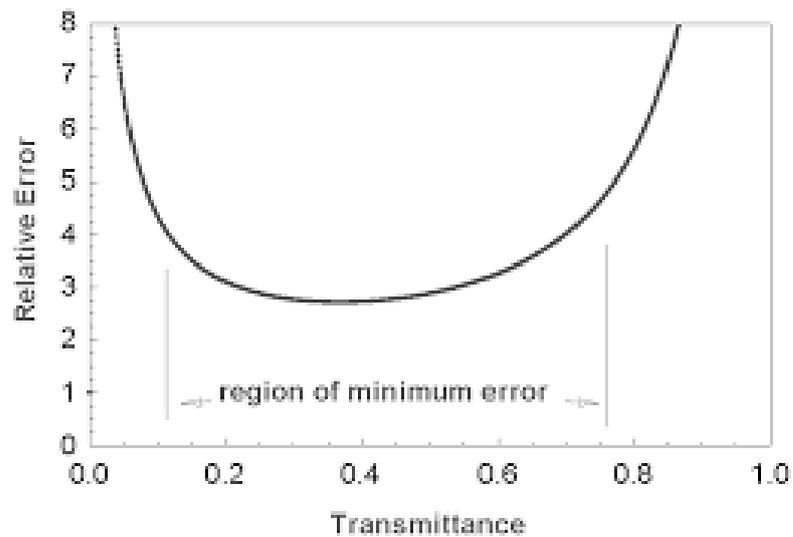
490-500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500-560 nm	Hijau	Merah anggur
560-580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580-595 nm	Kuning	Biru
595-610 nm	Oranye	Biru kekuningan
610-750 nm	Merah	Hijau kebiruan

Pada pengukuran absorban harus dilakukan pada panjang gelombang maksimal sebab pada panjang gelombang maksimal akan memberikan kepekaan (sensitivity) yang tinggi. Di samping itu, pada panjang gelombang maksimal memberikan kesalahan paling kecil. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Perbedaan pengukuran absorban pada panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{maks}$ ) (Band A) dan tidak pada  $\lambda_{maks}$  (Band B). Pengukuran pada  $\lambda_{maks}$  akan memberikan garis linier (Band A). Pengukuran tidak pada  $\lambda_{maks}$  memberikan garis yang tidak linier (Band B).

Nilai pengukuran absorban sebaiknya antara 0,2 sampai 0,8 atau nilai transmitannya antara 15% sampai 65% sebab dalam rentang nilai tersebut kesalahan relatifnya (relative error) kecil seperti terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik hubungan antara transmittan dengan kesalahan relatif.

#### **ALAT**

##### **Peralatan yang secara umum diperlukan pada spektrofotometri:**

1. Spektrofotometer
2. Kuvet
3. Neraca Analitik
4. Mikropipet (1000  $\mu$ L dan 200  $\mu$ L).
5. Labu Takar (berbagai volume: 5 mL, 10 mL, 25 mL)
6. Pipet Volume 1 mL, 5 mL, 10 mL
7. Pipet ukur 5 mL, 10 mL
8. Pro pipet
9. Alat penunjang: gelas kimia, spatula gelas, spatula logam

# PRAKTIKUM 1

## *GOOD LABORATORY PRACTICE*

### A. TUJUAN

Tujuan dari praktikum ini yaitu:

1. Memahami konsep dasar dan prinsip *Good Laboratory Practice* (GLP).
2. Mempelajari peran dokumentasi dan pencatatan data dalam GLP.
3. Mengetahui prosedur kerja yang sesuai dengan standar GLP.
4. Menerapkan GLP dalam pelaksanaan kegiatan laboratorium.

### B. DASAR TEORI

*Good Laboratory Practice* (GLP) merupakan sistem yang mengatur proses, kondisi, dan lingkungan laboratorium untuk memastikan bahwa data yang diperoleh dari penelitian atau pengujian memiliki kualitas yang tinggi, dapat dipercaya, serta sesuai dengan standar yang ditetapkan. Sistem GLP pertama kali diperkenalkan oleh Food and Drug Administration (FDA) Amerika Serikat pada tahun 1978 dan diadopsi oleh berbagai lembaga internasional, termasuk Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). GLP bertujuan untuk memastikan bahwa data yang dihasilkan dari laboratorium memiliki integritas, reliabilitas, dan dapat diterima secara internasional untuk tujuan regulasi.

*Good Laboratory Practice* pada bidang ilmiah dan industri sangat penting dalam penelitian obat, toksikologi, bioteknologi, serta pengujian lingkungan. Standar GLP diterapkan oleh berbagai badan regulasi, seperti Food and Drug Administration (FDA), Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), dan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Indonesia.

GLP bertujuan untuk memastikan keandalan dan integritas data yang dihasilkan dalam suatu laboratorium. Prinsip-prinsip utama dalam GLP meliputi:

- **Organisasi dan Personalia:** Semua personel harus memiliki kualifikasi, pelatihan, dan tanggung jawab yang jelas.
- **Fasilitas dan Peralatan:** Laboratorium harus memiliki fasilitas yang memadai serta peralatan yang terkalibrasi dengan baik.
- **SOP (Standard Operating Procedure):** Prosedur baku harus tersedia untuk setiap aspek penelitian guna memastikan konsistensi dalam pelaksanaan.
- **Manajemen Data dan Dokumentasi:** Setiap data harus dicatat dengan baik, dapat dilacak, serta dijaga keamanannya.
- **Pengendalian Mutu (Quality Assurance):** Adanya sistem pemantauan dan audit internal untuk memastikan kepatuhan terhadap standar yang berlaku.

#### **Implementasi GLP bertujuan untuk:**

- Meningkatkan kualitas dan kepercayaan terhadap hasil pengujian laboratorium.
- Memastikan keamanan, integritas, dan validitas data dalam penelitian ilmiah.
- Mencegah adanya kesalahan, kecurangan, atau manipulasi data.
- Meningkatkan efisiensi dan efektivitas dalam operasional laboratorium.

## **Regulasi dan Standar GLP**

Beberapa standar internasional yang mengatur GLP antara lain:

- a) OECD Principles of Good Laboratory Practice.
- b) FDA 21 CFR Part 58 (Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies).
- c) WHO Good Laboratory Practice (GLP) Guidelines.

Praktikum ini bertujuan untuk mengenalkan prinsip-prinsip dasar GLP, termasuk standar operasional prosedur (SOP), pencatatan data, serta pemantauan dan validasi hasil laboratorium. Melalui praktikum ini, mahasiswa diharapkan memahami pentingnya kepatuhan terhadap GLP dalam kegiatan laboratorium untuk menghasilkan data yang valid dan dapat dipercaya.

## **C. ALAT DAN BAHAN**

Alat dan bahan yang digunakan yaitu:

1. Buku log atau lembar pencatatan hasil uji
2. Alat laboratorium sesuai jenis pengujian (misalnya: mikropipet, spektrofotometer, timbangan analitik)
3. Reagen atau bahan uji sesuai kebutuhan eksperimen
4. Label dan wadah penyimpanan sampel
5. Alat pelindung diri (APD) seperti jas laboratorium, sarung tangan, dan kacamata pelindung

## **D. PROSEDUR KERJA**

### **1. Persiapan**

Memastikan semua personel memahami prinsip GLP sebelum memulai praktikum. Menyiapkan alat dan bahan sesuai dengan SOP laboratorium. Mengecek kondisi dan kalibrasi alat laboratorium untuk memastikan keakuratan hasil.

### **2. Pelaksanaan**

- a) Menggunakan APD dan menjaga kebersihan area kerja.
- b) Melakukan uji laboratorium sesuai prosedur yang telah ditentukan.
- c) Mencatat setiap langkah, hasil pengamatan, dan kemungkinan kesalahan yang terjadi.
- d) Menyimpan sampel dan bahan dengan label yang jelas sesuai dengan prosedur dokumentasi.

### **3. Manajemen Sampel dan Reagen**

- a) Labeli setiap bahan dengan jelas: **nama, konsentrasi, tanggal pembuatan, dan tanggal kedaluwarsa.**
- b) Simpan bahan sesuai ketentuan suhu dan kelembaban yang dianjurkan.

### **4. Pencatatan dan Pelaporan**

- a) Semua data harus dicatat secara akurat dan tidak boleh diubah tanpa alasan yang jelas.

- b) Jika ada kesalahan pencatatan, lakukan koreksi dengan mencoret informasi yang salah tanpa menghapusnya, lalu tambahkan informasi yang benar dengan tanda tangan dan tanggal koreksi.
- c) Buat laporan hasil uji yang mencakup tujuan, metode, hasil, serta kesimpulan dari eksperimen.
- d) Simpan laporan sesuai prosedur laboratorium agar dapat ditinjau ulang jika diperlukan.

#### **5. Validasi dan Kalibrasi Alat**

- a) Lakukan uji kalibrasi pada alat seperti spektrofotometer dan timbangan analitik.
- b) Bandingkan hasil dengan standar referensi untuk memastikan akurasi.

#### **6. Keselamatan dan Etika dalam GLP**

- a) Memastikan semua prosedur dilakukan dengan memperhatikan keamanan kerja.
- b) Tidak melakukan manipulasi data atau hasil uji.
- c) Menggunakan bahan kimia dengan bijak dan membuang limbah laboratorium sesuai prosedur.
- d) Menjaga integritas dan transparansi dalam setiap proses pengujian

### **E. ANALISIS DATA DAN EVALUASI**

1. Apakah semua prosedur telah terdokumentasi dengan benar sesuai GLP?
2. Apakah alat yang digunakan telah dikalibrasi dan divalidasi dengan baik?
3. Bagaimana penerapan manajemen bahan kimia di laboratorium?
4. Apakah terdapat penyimpangan dalam prosedur yang dapat mempengaruhi keandalan hasil?

### **F. PERTANYAAN DAN DISKUSI**

1. Mengapa dokumentasi yang baik sangat penting dalam penerapan GLP?
2. Bagaimana dampak ketidaksesuaian GLP terhadap validitas hasil penelitian farmasi?
3. Bagaimana perbedaan GLP dengan Good Manufacturing Practice (GMP)?
4. Bagaimana prosedur yang harus dilakukan jika terjadi kesalahan dalam pencatatan hasil laboratorium?

### **7. Evaluasi dan Kesimpulan**

Setelah praktikum selesai, lakukan evaluasi terhadap hasil dan kesesuaian dengan prinsip GLP. Kesimpulan ditarik berdasarkan data yang diperoleh dengan mempertimbangkan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil.

### **DAFTAR PUSTAKA**

Bunn, G. P. (2022). Good laboratory practice for nonclinical studies. CRC Press.

- OECD. (1998). OECD Principles of Good Laboratory Practice (GLP). Paris: OECD Publishing.
- FDA. (1978). Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies. Washington DC: U.S. Food and Drug Administration.
- WHO. (2009). Handbook on Good Laboratory Practice (GLP). Geneva: World Health Organization.
- BPOM RI. (2018). Pedoman Penerapan Good Laboratory Practice (GLP) di Indonesia. Jakarta: BPOM.

## PRAKTIKUM 2

### ANALISIS KANDUNGAN DEKSAMETASON DALAM JAMU DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

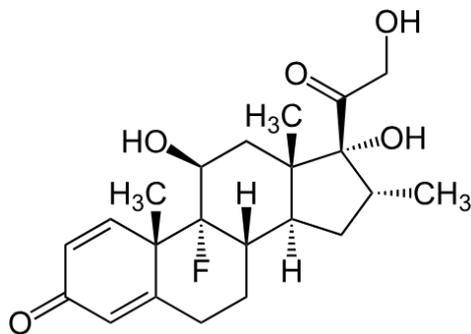
#### A. TUJUAN

Tujuan dari praktikum ini yaitu:

1. Menganalisis metode pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis
2. Menentukan nilai R<sub>f</sub> berdasarkan jarak yang ditempuh oleh senyawa dan jarak yang ditempuh oleh fasa gerak

#### B. DASAR TEORI

Deksametason yaitu senyawa kortikosteroid sintetis yang sering digunakan sebagai antiinflamasi dan immunosupresan. Senyawa ini memiliki aktivitas glukokortikoid yang kuat dan sering disalahgunakan dalam produk jamu untuk memberikan efek cepat dalam meredakan nyeri dan peradangan (Gunawan et al., 2019). Penggunaan deksametason tanpa pengawasan medis dapat menyebabkan efek samping serius seperti gangguan hormonal, osteoporosis, dan gangguan sistem imun (BPOM, 2021).



Gambar 1. Struktur Deksametason

Jamu adalah obat tradisional yang berasal dari bahan alami seperti tanaman obat, hewan, dan mineral. Namun, beberapa produsen nakal menambahkan bahan kimia obat (BKO), termasuk deksametason, untuk meningkatkan efektivitas produk mereka secara instan (Susanto & Rahayu, 2020). Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang akurat untuk mendeteksi keberadaan deksametason dalam jamu.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang sering digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif senyawa dalam campuran. Metode ini memiliki keunggulan dalam hal kesederhanaan, biaya rendah, dan kemampuan mendeteksi berbagai jenis senyawa dalam satu pemisahan (Harborne, 1998). Dalam analisis deksametason, KLT menggunakan fase diam berupa lempeng silika gel dan fase gerak yang sesuai untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya.

Prinsip Kerja KLT dalam Analisis Deksmetason Metode KLT didasarkan pada perbedaan afinitas antara senyawa yang diuji dengan fase diam dan fase gerak. Proses analisis terdiri dari beberapa tahapan, yaitu:

1. **Preparasi Sampel** – Jamu diekstraksi menggunakan pelarut organik untuk menarik keluar senyawa deksametason jika ada.
2. **Aplikasi Sampel** – Sampel diaplikasikan pada lempeng KLT menggunakan mikropipet kapiler.
3. **Pengembangan Kromatogram** – Lempeng ditempatkan dalam bejana KLT yang berisi fase gerak, lalu dibiarkan hingga pelarut naik dan memisahkan komponen dalam sampel.
4. **Visualisasi** – Setelah pengeringan, lempeng diamati di bawah sinar UV atau menggunakan reagen penyemprot khusus untuk mengidentifikasi keberadaan deksametason berdasarkan nilai R<sub>f</sub> (Retardation Factor) yang dibandingkan dengan standar (Setyawati et al., 2022).

Keuntungan Metode KLT di antaranya:

1. Cepat dan mudah digunakan
2. Tidak memerlukan instrumen mahal
3. Dapat digunakan untuk skrining awal dalam mendeteksi senyawa obat

Metode KLT memiliki keterbatasan, seperti:

1. Sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan metode kromatografi lainnya seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)
2. Pengaruh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembaban yang dapat memengaruhi hasil analisis

### C. ALAT DAN BAHAN

#### Alat

1. Chamber
2. Pipa Kapiler
3. Penampak UV 256 nm & 366 nm
4. Micropipet

#### Bahan

1. Plat Kromatografi Lapis Tipis GF254
2. Etanol
3. Deksmetason Tablet
4. Deksmetason Salep
5. Sampel jamu sachet
6. Asam Sulfat
7. Fase Gerak  
asetonitrile: water (7 : 3)  
kloroform:metanol 9:1

### D. PROSEDUR KERJA

1. Persiapan Plat KLT
  - a. Gunakan plat silika gel GF254.
  - b. Aktivasi plat dengan memanaskannya pada suhu 110°C selama 30 menit untuk menghilangkan kelembapan.

2. Pembuatan Larutan Sampel dan Standar
  - a. Larutkan Deksametason dalam pelarut organik yang sesuai (etanol atau metanol).
  - b. Buat larutan standar Deksametason 100 mg/mL untuk dibandingkan dengan sampel uji.
3. Penotolan Sampel
  - a. Dengan mikropipet kapiler, totolkan 5-10  $\mu$ L larutan sampel jamu dan larutan standar pada plat KLT.
  - b. Pastikan titik aplikasi berjarak sekitar 1 cm dari tepi bawah plat dan memiliki jarak antar titik sekitar 1-2 cm.
4. Elusi KLT
  - a. Masukkan plat KLT ke dalam bejana KLT yang sudah jenuh dengan fase Gerak acetonitrile: water (7 : 3) atau kloroform:metanol 9:1 selama 15-30 menit.
  - b. Pastikan fase gerak naik hingga sekitar 3/4 tinggi plat (sekitar 8-10 cm).
  - c. Keluarkan plat dan biarkan kering di udara atau menggunakan penguap pelarut.
5. Deteksi dan Identifikasi
  - a. Amati bercak di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm.
  - b. Deksametason biasanya terlihat sebagai bercak yang menyerap UV pada 254 nm.
  - c. Semprot dengan reagen penampak seperti asam sulfat pekat, lalu panaskan pada 110°C selama beberapa menit hingga bercak tampak.

### Interpretasi Hasil

- **Nilai Rf (Retention Factor):**
  - Deksametason memiliki **Rf sekitar 0,3–0,6** tergantung eluen yang digunakan.
  - Rf dihitung dengan rumus:
 
$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari garis awal}}{\text{jarak pelarut dari garis awal}}$$
- **Bercak di UV 254 nm:**
  - Bercak terlihat sebagai area gelap karena menyerap sinar UV.
- **Bercak di UV 366 nm:**
  - Tidak menunjukkan fluoresensi signifikan.
- **Reaksi dengan Reagen Penampak (opsional):**
  - **asam sulfat pekat**, bercak dapat berubah warna menjadi **kuning atau coklat kehitaman** setelah pemanasan.

#### **E. PERHITUNGAN DAN ANALISIS DATA**

1. Hitung nilai Rf untuk setiap noda yang muncul.
2. Bandingkan nilai Rf sampel dengan Rf standar deksametason untuk menentukan keberadaan senyawa tersebut.
3. Jika ditemukan noda dengan Rf sama dengan standar, maka ada indikasi sampel mengandung deksametason.

#### **F. PERTANYAAN DAN DISKUSI**

1. Mengapa fase gerak yang digunakan perlu disesuaikan dengan kepolaran senyawa?
2. Apa dampak jika sampel jamu terbukti mengandung deksametason secara ilegal?
3. Bagaimana cara meningkatkan keakuratan analisis KLT untuk identifikasi deksametason?
4. Apa keuntungan dan keterbatasan metode KLT dibandingkan dengan metode kromatografi lainnya?

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) – Metode identifikasi deksametason dengan KLT.
- British Pharmacopoeia (BP) & United States Pharmacopoeia (USP) – Standar kromatografi untuk identifikasi steroid.
- Stahl, E. (1969). *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Springer-Verlag.
- BPOM. (2021). *Pengawasan Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat (BKO)*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman & Hall.

## PRAKTIKUM 3 TITRASI ASAM-BASA

### A. TUJUAN

Tujuan dari praktikum ini yaitu:

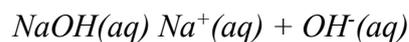
1. Melakukan analisis kimia volumetri berbasis reaksi asam basa.
2. Menentukan molaritas larutan NaOH dengan larutan standar asam oksalat.
3. Menetapkan kadar asam cuka perdagangan

### B. DASAR TEORI

Titration asam-basa adalah metode analisis kuantitatif yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan asam atau basa dengan mereaksikannya dengan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya (Vogel, 2000). Asam dan basa adalah istilah umum dalam ilmu kimia. hidup itu sendiri tergantung atas pengendalian konsentrasi asam dan basa. perubahan konsentrasi kecil asam dan basa (pH) dalam darah dapat menyebabkan kematian. Sifat bahan kimia yang membuat suatu zat menjadi asam adalah sumbangan ion hidrogen,  $H^+$ , ke zat lainnya.



basa adalah zat yang dapat menerima  $H^+$ . dalam contoh berikut, ion hidroksida,  $OH^-$ , diproduksi dari ionisasi sodium hidroksida, ini memungkinkan untuk menerima ion hidrogen. untuk itu,  $NaOH(aq)$  berfungsi sebagai basa pada larutan encer. Reaksi ini terjadi secara stoikiometri dalam perbandingan molar tertentu. Titik ekuivalen tercapai ketika jumlah mol asam sama dengan jumlah mol basa yang telah ditambahkan.



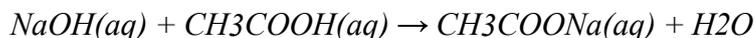
Skala pH mudah dilaksanakan untuk tujuan ini sejak ia mencakup  $H^+$  konsentrasi tinggi sampai  $H^+$  yang berkonsentrasi rendah dalam bentuk yang agak sederhana. secara matematis,  $pH = -\log [H^+]$ , di mana di dalam kurung merepresentasikan konsentrasi dalam mol per liter. Sebaliknya,  $[H^+] = 10^{-pH}$ . Hubungan matematis ini menyatakan bahwa semakin banyak ion hidrogen yang ada dalam larutan, nilai dari pH semakin semakin kecil. Skala pH biasanya mulai 0 – 14, walaupun memungkinkan larutan asam kuat memiliki pH negatif. Cairan yang mengandung asam menunjukkan nilai pH kurang dari 7. Karena  $[OH^-] = [H^+]$  berada pada pH 7, nilainya menunjukkan netralitas. Larutan basa memiliki nilai pH lebih dari 7.

pH dari suatu larutan dapat di ukur dengan berbagai cara, salah satu cara dengan menggunakan indikator pH. Indikator adalah senyawa alami yang mengubah warna dengan perubahan pH. Protonasi dan deprotonasi dari gabungan indikator menghasilkan modifikasi warna. Senyawa bromtimol biru akan menjadi kuning pada pH 6,0 tapi berubah berwarna biru pada pH netral 7,6 ketika ia kehilangan proton.

Tabel di bawah ini mendata beberapa indikator pH dan berbagai warnanya. Melalui warna akan mengubah sinyal, sehingga prediksi pH yang akan bermanfaat dapata berurutan.

<b>Indikator</b>	<b>pH transisi</b>	<b>Warna asam</b>	<b>Warna Basa</b>
Kresol Merah	0,2 – 1,8	Merah	Kuning
Timol Biru	1,2 – 2,8	Merah	Kuning
Metil Orange	3,1 – 4,4	Merah	Kuning
Bromocresol hijau	3,8 – 5,4	Kuning	Biru
Merah metil	4,4 - 6,0	Merah	Kuning
Bromocresol ungu	5,2 – 6,8	Kuning	Ungu
Phenol red	6,4 – 8,0	Kuning	Merah
Timol biru	8,0 – 9,6	Kuning	Biru
Phenolptalein	8,1 – 9,6	Bening	Merah muda
Timolftalein	9,3 - 10,0	Tidak berwarna	Biru
Kuning alizarin	9,8 - 11,4	Biru - kuning	Kuning - coklat

Asidimetri dan alkalimetri adalah analisis kuantitatif volumetri berdasarkan reaksi netralisasi. Keduanya dibedakan pada larutan standarnya. Analisis tersebut dilakukan dengan cara titrasi. Pada titrasi basa terhadap asam cuka, reaksinya adalah:



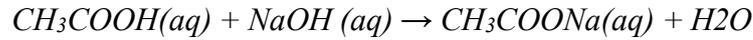
Pada titrasi asam asetat dengan NaOH (sebagai larutan standar) akan dihasilkan garam yang berasal dari asam lemah dan basa kuat. Garam natrium asetat ini akan terurai sempurna karena senyawa itu adalah garam, sedang ion asam asetat akan terhidrolisis oleh air.



Ion asetat akan terhidrolisis oleh molekul air, menghasilkan molekul asam asetat dan ion hidroksi. Larutan garam dari basa kuat dan asam lemah seperti natrium asetat, akan bersifat basa dalam air ( $pH > 7$ ). Garam tersusun dari basa lemah dan asam kuat, larutan garamnya akan bersifat asam ( $pH < 7$ ). Sedangkan garam yang tersusun dari basa dan asam kuat, larutan dalam air akan bersifat netral ( $pH = 7$ ). Hidrolisis hanya terhadap asam lemah, basa lemah, ion basa dan ion asam lemah. Titik ekuivalen pada proses titrasi

Asam cuka dengan larutan natrium hidroksida akan diperoleh pada  $pH > 7$ . Untuk mengetahui titik ekuivalen diperlukan indikator tertentu sebagai penunjuk selesainya proses titrasi. Warna indikator berubah oleh pH larutan. Warna pada pH rendah tidak sama dengan warna pada pH tinggi. Titrasi asam asetat dengan NaOH sebagai indikator. Pada analisis asam asetat dalam cuka perdagangan akan diperoleh informasi apakah kadar yang tertulis pada etiket sudah benar dan tidak menipu. Analisis dilakukan dengan menitrasi larutan asam asetat perdagangan

dengan larutan NaOH standar.



Gram ekuivalen dari asam asetat dapat dihitung yaitu :

$$\text{Mol ekuivalen asam asetat} = \text{mol ekuivalen NaOH}$$

$$\frac{\text{Massa asam asetat (gram)}}{\text{BE asam asetat}} = \text{Vol NaOH} \times N \text{ NaOH}$$

Dalam hal ini molaritas NaOH sama dengan normalitas NaOH karena valensi NaOH = 1.  $V_{NaOH}$  = volume NaOH yang diperlukan untuk menetralkan semua asam asetat dalam larutan. Karena valensi asam asetat = 1, maka 1 mol ekuivalen asam asetat = 1 mol.

$$\text{Berat asam asetat (gram)} = \text{mol ekuivalen asam asetat} \times \text{BE asam asetat.}$$

Menurut hukum ekuivalen:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

dengan:

$N_1$  = Normalitas asam

$V_1$  = Volume asam yang dititrasi

$N_2$  = Normalitas basa (NaOH)

$V_2$  = Volume basa yang digunakan

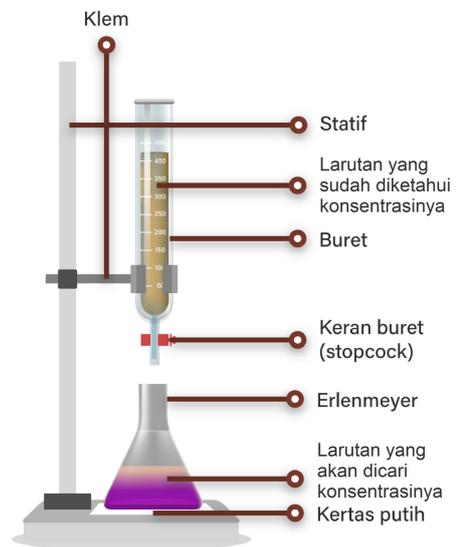
### C. ALAT DAN BAHAN

#### Alat:

- Buret (50 mL)
- Pipet volumetrik (10 mL)
- Erlenmeyer (100 mL)
- Gelas ukur
- Kaki buret dan statif

#### Bahan:

- Larutan NaOH (sampel)
- Larutan standar HCl 0.1 N atau  $H_2SO_4$  0.1 N
- Indikator fenolftalein atau metil oranye
- Akuades (air suling)



### D. PROSEDUR KERJA

#### Standarisasi Larutan NaOH

- Persiapan larutan NaOH: buat larutan NaOH dengan konsentrasi 0.1 M.
- Persiapan buret: Isi buret dengan HCl 0.1 M. Pastikan tidak ada gelembung udara.
- Pengambilan sampel: Ditimbang 225 mg asam oksalat, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250mL lalu dilarutkan dengan aquades 10 mL.

4. Penambahan indikator: Tambahkan 2-3 tetes fenolftalein
5. Proses titrasi:
  - o Teteskan NaOH 0.1 M dari buret ke larutan NaOH dalam Erlenmeyer sambil dikocok.
  - o Saat warna merah muda mulai memudar, titrasi diperlambat hingga terjadi perubahan warna menjadi bening (titik ekuivalen).
6. Catat volume NaOH yang digunakan.

Data:

	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
<b>1. Penimbangan</b>			
Berat cawan kosong	: .....	g .....	g .....
Berat cawan + asam oksalat	: .....	g .....	g .....
Berat asam oksalat	: .....	g .....	g .....
<b>2. Titrasi</b>			
Volume titran NaOH	: .....	mL .....	mL .....

BM asam oksalat C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 90,03 g/mol

Valensi asam oksalat: 2

BE asam oksalat C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 45,015

Rumus perhitungan:

*mg ekuivalen NaOH*      *mg ekuivalen asam oksalat*

$$mL_{NaOH} \times N_{NaOH} = \frac{mg_{asam\ oksalat}}{BE_{asam\ oksalat}}$$

$$N_{NaOH} = \frac{mg_{asam\ oksalat}}{mL_{NaOH} \times BE_{asam\ oksalat}}$$

### Penentuan Kadar Asam Cuka Perdagangan

1. Diambil 10,0 mL larutan cuka perdagangan dengan pipet volume, kemudian dimasukkan dalam labu takar kapasitas 100,0 mL dan diencerkan hingga tepat volume 100,0 mL.
2. Diambil 10 mL larutan encer (1), dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 150 mL dan ditambah 2 tetes indikator pp.
3. Larutan ini dititrasi dengan larutan NaOH standar hingga terjadi perubahan warna, dari tidak berwarna menjadi merah jambu.
4. Titrasi dilakukan 3 kali.
5. Setelah selesai buret harap dicuci dengan asam encer (sisa asam asetat perdagangan).
6. Catat data eksperimen dan perhitungkan normalitas NaOH setelah dilakukan standarisasi.

Data:

Merek asam cuka yang dipakai: .....

Kadar asam cuka pada label kemasan: .....

Titrasi:

Volume titran NaOH 1: ..... mL

..... mL

..... mL

Perhitungan:

BM Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ): 60

BE Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ): 60

$mg \text{ ekuivalen } \text{CH}_3\text{COOH} = mg \text{ ekuivalen } \text{NaOH}$

$mg_{\text{CH}_3\text{COOH}} = mL_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times BE_{\text{CH}_3\text{COOH}}$  (dalam volume sampel yang telah diencerkan FP)

$mg_{\text{CH}_3\text{COOH}} = mL_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times BE_{\text{CH}_3\text{COOH}} \times FP$  (mg) (dalam volume sampel)

$g_{\text{CH}_3\text{COOH}} = \frac{mL_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times BE_{\text{CH}_3\text{COOH}} \times FP}{1000}$  (dalam volume sampel)

Kadar asam asetat (dalam % b/v) =  $\frac{g_{\text{CH}_3\text{COOH}}}{\text{volume sampel (mL)}} \times 100\% \text{ b/v}$

Kadar asam asetat (rata – rata) =  $\frac{\text{Kadar 1} + \text{Kadar 2} + \text{Kadar 3}}{3} = \dots\dots\% \text{ b/v}$

### Pembuatan Dan Perhitungan Larutan Dapar (Buffer) Asetat

1. Diambil 10,0 mL larutan asam asetat dengan pipet volume, kemudian dimasukkan dalam labu takar kapasitas 100,0 mL dan diencerkan hingga tepat volume 100,0 mL.
2. Diambil 50,0 mL larutan encer (1) dengan pipet volume/labu takar, dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 150 mL dan ditambah 2 tetes indikator jingga metil.
3. Larutan ini dititrasi dengan larutan NaOH standar hingga terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning (pH 4,4).
4. Hitung sisa asam yang belum bereaksi dengan NaOH menggunakan rumus buffer:

$$K_a = \frac{[H^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} \quad [H^+] = K_a \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}$$

pH: 4,4 dan 6,0

pKa  $\text{CH}_3\text{COOH}$ : 3,75

5. Lakukan dengan cara yang sama tetapi gunakan indikator merah metil, pH akhir titrasi 6,0 dengan perubahan warna merah menjadi kuning.

### Pembuatan Larutan HCl 0,1 N

1. Perhitungkan normalitas larutan pekat murni HCl 37% v/v (diketahui

- BJ HCl pekat 1,19 g/mL; BM HCl 36,5).
- Kalkulasi kebutuhan volume larutan pekat HCl untuk membuat larutan HCl 0,1N sebanyak yang diperlukan (sekitar 300 mL).
  - Ambil HCl pekat sesuai hasil perhitungan menggunakan pipet ukur, masukkan dalam labu takar yang sesuai (300,0 mL), lalu tambahkan aquades hingga tanda tera.

### Penentuan Kadar Natrium Bikarbonat

- Ditimbang seksama 0,2 g sampel, dimasukkan dalam labu Erlenmeyer 150 ml, lalu ditambah 25 ml air.
- Larutan ditambah 2 tetes indikator metil orange, lalu dititrasikan dengan larutan baku HCl 0,1 M hingga diperoleh perubahan warna dari kuning menjadi merah muda.
- Titrasikan dilakukan 3 kali.
- Catat data eksperimen dan kalkulasi perhitungan yang diperlukan.

Data:

		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
A.	Penimbangan			
	Berat cawan kosong	: .....	g .....	g .....
	Berat cawan + Natrium bikarbonat	: .....	g .....	g .....
	Berat Natrium bikarbonat	: .....	g .....	g .....
B.	Titrasikan			
	Volume titran HCl	: .....	mL .....	mL .....

Rumus perhitungan:

$mg \text{ ekuivalen } NaHCO_3 = mg \text{ ekuivalen } HCl$

$$mL_{HCl} \times N_{HCl} = \frac{mg_{NaHCO_3}}{BE_{NaHCO_3}}$$

$$mg_{NaHCO_3} = N_{HCl} \times mL_{HCl} \times BE_{NaHCO_3} \text{ (tiap 0,2 gram sampel).}$$

BM Natrium bikarbonat  $NaHCO_3$ : 84

BE Natrium bikarbonat  $NaHCO_3$ : 84

$$Kadar \ NaHCO_3 \text{ (dalam \% } b/b) = \frac{mg_{CH_3COOH}}{200mg \text{ sampel}} \times 100\% \ b/b$$

$$Kadar \ NaHCO_3 \text{ (rata-rata)} = \frac{Kadar \ 1 + Kadar \ 2 + Kadar \ 3}{3} = \dots\dots\% \ b/b$$

### E. PERHITUNGAN DAN ANALISIS DATA

- Hitung **normalitas asam** dalam sampel berdasarkan volume NaOH yang digunakan.

2. Jika diketahui jenis asam dalam sampel, ubah normalitas menjadi molaritas dengan memperhitungkan jumlah ion  $H^+$  dalam rumus kimia.
3. Bandingkan hasil dengan nilai teoritis atau standar farmakope untuk menilai keakuratan metode.

#### **F. PERTANYAAN DAN DISKUSI**

1. Mengapa indikator fenolftalein digunakan dalam titrasi asam lemah dan basa kuat?
2. Apa efek kelebihan titran terhadap hasil perhitungan?
3. Bagaimana cara meningkatkan akurasi dalam titrasi asam-basa?
4. Jika larutan NaOH terkena udara dalam waktu lama, bagaimana pengaruhnya terhadap konsentrasinya?

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, F. J. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9th ed. Cengage Learning.
- Vogel, A. I. (2000). *Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis*. 6th ed. Prentice Hall.
- Farmakope Indonesia Edisi VI. (2020). Jakarta: BPOM RI.

## PRAKTIKUM 4

### ANALISIS PENETAPAN KADAR PARARACETAMOL DENGAN SPEKTROFOTOMETER ULTRAVIOLET-VISIBLE (UV-VIS)

#### A. TUJUAN

1. Memahami prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis dalam analisis farmasi.
2. Menentukan kadar parasetamol dalam sampel menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.
3. Menganalisis dan menginterpretasikan hasil absorbansi untuk kuantifikasi parasetamol.

#### B. DASAR TEORI

Parasetamol (asetaminofen) adalah senyawa analgesik dan antipiretik yang banyak digunakan untuk meredakan nyeri dan menurunkan demam. Senyawa ini memiliki rumus molekul  $C_8H_9NO_2$  dengan struktur mengandung gugus amida (-CONH<sub>2</sub>) dan hidroksil aromatik (-OH) yang berkontribusi terhadap sifat absorbansinya dalam daerah sinar ultraviolet (Sastrohamidjojo, 2001).

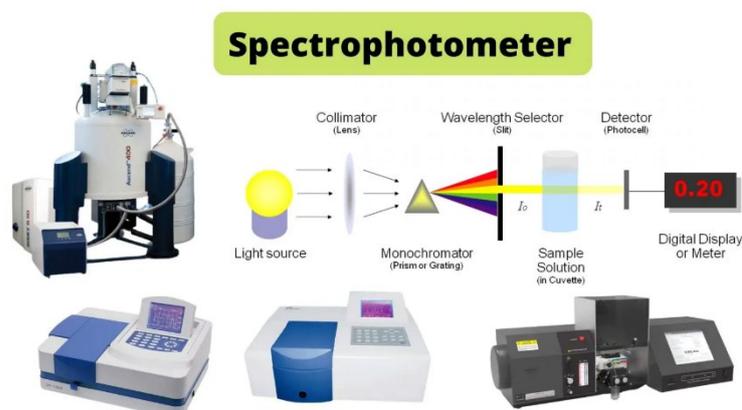
Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis kuantitatif yang mengukur absorbansi cahaya oleh suatu zat pada panjang gelombang tertentu dalam rentang ultraviolet (200-400 nm) atau visible (400-800 nm) (Skoog et al., 2014).

Penentuan kadar parasetamol menggunakan prinsip hukum Lambert-Beer:

$$A = \epsilon \times b \times C$$

dengan:

- **A** = Absorbansi
- **$\epsilon$**  = Koefisien absorptivitas molar ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
- **b** = Panjang lintasan sel (cm)
- **C** = Konsentrasi larutan (mol/L)



Parasetamol memiliki serapan maksimum ( $\lambda_{max}$ ) sekitar 243 nm dalam pelarut metanol atau akuades, yang digunakan sebagai panjang gelombang analisis utama (British Pharmacopoeia, 2021).

Prinsip Analisis Parasetamol dengan Spektrofotometri UV-Vis yaitu:

- Sampel larut dalam pelarut yang sesuai dan diukur absorbansinya pada  $\lambda_{\max}$  243 nm.
- Konsentrasi parasetamol dihitung berdasarkan kurva standar yang diperoleh dari larutan standar dengan berbagai konsentrasi.
- Hasil dibandingkan dengan kadar yang tertera dalam farmakope untuk memastikan kualitas obat.

### C. ALAT DAN BAHAN

#### Alat:

- a) Spektrofotometer UV-Vis
- b) Kuarsa atau kuvet kaca (panjang lintasan 1 cm)
- c) Timbangan analitik
- d) Gelas ukur, labu takar, dan pipet

#### Bahan:

- a) Sebek parasetamol murni (standar)
- b) Sampel tablet parasetamol
- c) Metanol / akuades sebagai pelarut
- d) NaOH 0,1 M

### D. PROSEDUR KERJA

#### Pembuatan Larutan Standar Paracetamol (100 ppm)

- a) Timbang 10 mg Paracetamol standar dengan timbangan analitik.
- b) Larutkan dalam akuades atau metanol dalam labu takar 100 mL untuk mendapatkan larutan stok 100  $\mu\text{g/mL}$ .
- c) Buat larutan baku dengan pengenceran hingga konsentrasi yang sesuai

#### Pembuatan Larutan Standar untuk Kurva Kalibrasi

- a) Ambil **0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 mL** larutan induk.
- b) Encerkan masing-masing dalam **labu takar 50 mL** dengan pelarut hingga tanda batas.
- c) Ukur absorbansi larutan standar pada  $\lambda_{\max}$  243 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
- d) Buat kurva kalibrasi dengan memplot absorbansi terhadap konsentrasi.

#### Pembuatan Larutan Sampel Uji

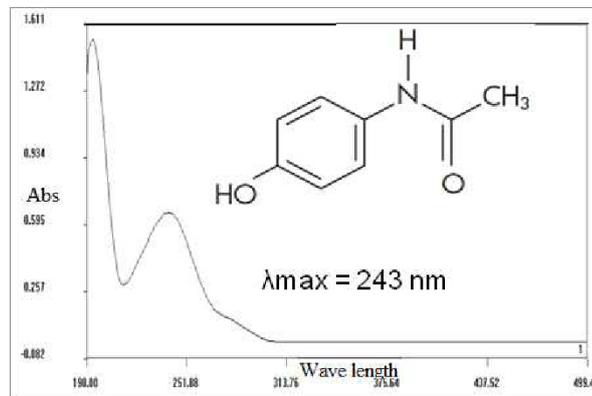
- a) Paracetamol dalam bentuk tablet, timbang dan haluskan sejumlah tablet yang setara dengan 100 mg Paracetamol. (Sampel Sirup ambil 5 mL)
- b) Larutkan dalam akuades atau metanol dan sonikasi selama 15 menit untuk melarutkan zat aktif.
- c) Saring larutan menggunakan kertas saring Whatman No.1 untuk menghilangkan eksipien yang tidak larut.
- d) Encerkan sesuai kebutuhan agar konsentrasi berada dalam rentang standar (10–50  $\mu\text{g/mL}$ ).

#### Pengukuran Spektrum UV-Vis

- a) Nyalakan spektrofotometer UV-Vis dan biarkan alat stabil.

- b) Atur panjang gelombang ke 243–256 nm.
- c) Gunakan akuades atau metanol sebagai blanko dan kalibrasi alat.
- d) Masukkan larutan standar Paracetamol ke dalam kuvet dan catat absorbansinya.
- e) Lakukan hal yang sama untuk larutan sampel uji.
- f) buat kurva kalibrasi dengan memplot absorbansi terhadap konsentrasi larutan standar.
- g) Bandingkan spektrum serapan sampel dengan standar untuk mengonfirmasi keberadaan Paracetamol.

#### E. INTERPRETASI HASIL



1. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{max}$ ): Paracetamol memiliki puncak serapan di 243–256 nm.
2. Kurva Kalibrasi: Menggunakan hukum Lambert-Beer:  $A = \epsilon bc$  =  $\epsilon bcA = \epsilon bc$  dengan:

$$A = \epsilon bc$$

A = Absorbansi

$\epsilon$  = Koefisien absorbansi molar

b = Panjang lintasan kuvet (1 cm)

c = Konsentrasi larutan ( $\mu\text{g/mL}$ )

3. Hasil dinyatakan positif Paracetamol jika:
  - a. Sampel menunjukkan  $\lambda_{max}$  yang sama dengan standar.
  - b. Absorbansi berada dalam rentang yang diharapkan.
4. Jika diperlukan analisis kuantitatif: Gunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi untuk menentukan kadar Paracetamol dalam sampel.

#### F. PERTANYAAN DAN DISKUSI

1. Mengapa parasetamol memiliki serapan maksimum pada 243 nm?
2. Bagaimana pengaruh pemilihan pelarut terhadap hasil analisis?
3. Apa keuntungan metode spektrofotometri UV-Vis dibandingkan metode lainnya dalam penetapan kadar parasetamol?
4. Faktor apa saja yang dapat mempengaruhi keakuratan hasil pengukuran?

### **Sumber Pustaka**

1. Farmakope Indonesia Edisi VI (2022) –
2. British Pharmacopoeia (BP) & United States Pharmacopeia (USP)
3. Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. (2017). Principles of Instrumental Analysis (7th ed.). Cengage Learning.
4. Beckett, A.H., & Stenlake, J.B. (2004). Practical Pharmaceutical Chemistry (4th ed.). Continuum.

## PRAKTIKUM 5

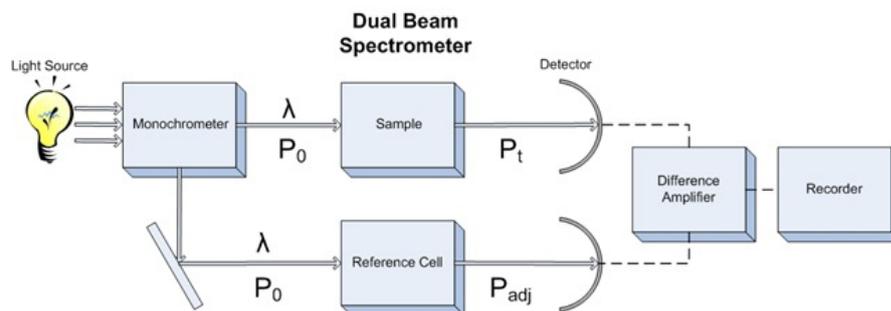
### IDENTIFIKASI GUGUS FUNGSI SENYAWA ASAM BENZOAT DENGAN SPEKTROFOTOMETER INFRAMERAH

#### A. TUJUAN

1. Memahami prinsip dasar spektrofotometri inframerah (FTIR) dalam identifikasi gugus fungsi senyawa organik.
2. Mengidentifikasi gugus fungsi dalam senyawa asam benzoat berdasarkan spektrum inframerahnya.
3. Membandingkan spektrum FTIR sampel asam benzoat dengan spektrum standar untuk konfirmasi identitas senyawa.

#### B. DASAR TEORI

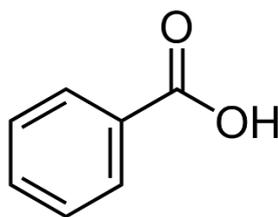
Spektrofotometri inframerah (Fourier Transform Infrared Spectroscopy/FTIR) adalah metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu senyawa berdasarkan interaksinya dengan radiasi inframerah. Molekul akan menyerap energi pada panjang gelombang tertentu sesuai dengan vibrasi ikatan dalam molekul tersebut (Skoog et al., 2014).



Spektrum FTIR biasanya dibagi menjadi dua daerah utama:

- **Daerah bilangan gelombang tinggi ( $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ ):** Berisi pita serapan khas dari gugus fungsi utama seperti  $\text{--OH}$ ,  $\text{--COOH}$ , dan  $\text{C=O}$ .
- **Daerah sidik jari ( $1500\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ):** Mengandung pola unik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesifik suatu senyawa.

Asam benzoat ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ ) adalah senyawa asam karboksilat aromatik yang banyak digunakan sebagai pengawet makanan dan dalam industri farmasi. Asam benzoat memiliki struktur yang terdiri dari cincin benzena yang terikat pada gugus karboksilat ( $\text{--COOH}$ ). Senyawa ini memiliki sifat sebagai antimikroba dengan mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur dalam produk makanan (Sastrohamidjojo, 2001).



Gambar. Struktur Asam Benzoat

Gugus fungsi adalah bagian dari molekul yang menentukan sifat kimia dan fisiknya. Dalam asam benzoat, gugus fungsi utama yang dapat diidentifikasi adalah:

- **Gugus Karboksilat (-COOH):** Bertanggung jawab atas sifat asam dan dapat dikenali melalui serapan khas dalam spektrum inframerah.
- **Cincin Aromatik (Benzena, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>):** Memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang menghasilkan pita serapan khas pada daerah tertentu dalam spektrum inframerah (Silverstein et al., 2014).

Spektrofotometri Inframerah (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) adalah teknik analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa berdasarkan interaksinya dengan radiasi inframerah. Teknik ini bekerja dengan mendeteksi frekuensi serapan khas molekul akibat vibrasi ikatan dalam senyawa kimia (Stuart, 2004).

Pada spektroskopi inframerah, vibrasi molekul yang umum terjadi meliputi:

- **Vibrasi ulur (stretching):** Perubahan panjang ikatan akibat absorpsi energi inframerah.
- **Vibrasi tekuk (bending):** Perubahan sudut ikatan dalam suatu molekul.

Spektrum FTIR biasanya diplot sebagai **transmitansi (%) terhadap bilangan gelombang (cm<sup>-1</sup>)**. Masing-masing gugus fungsi dalam asam benzoat memiliki daerah serapan khas dalam spektrum inframerah:

- **Gugus -OH dalam -COOH:** Serapan lebar sekitar 2500-3300 cm<sup>-1</sup>.
- **Ikatan C=O dalam -COOH:** Serapan kuat di sekitar 1680-1720 cm<sup>-1</sup>.
- **Gugus C-H aromatik:** Serapan di sekitar 3000-3100 cm<sup>-1</sup>.
- **C=C aromatik:** Serapan di daerah 1400-1600 cm<sup>-1</sup> (Silverstein et al., 2014).

#### Keunggulan:

- Cepat dan tidak merusak sampel.
- Dapat digunakan untuk analisis senyawa organik maupun anorganik.
- Mampu memberikan informasi mengenai gugus fungsi spesifik dalam suatu senyawa.

#### Keterbatasan:

- Tidak dapat menentukan struktur lengkap senyawa, hanya informasi gugus fungsi.
- Spektrum dapat dipengaruhi oleh interaksi antar molekul atau kondisi sampel (Stuart, 2004).

## C. ALAT DAN BAHAN

### Alat:

- Spektrofotometer FTIR
- Mortar dan alu (jika menggunakan metode KBr)
- Pellet press (untuk pembuatan pellet KBr)
- Pipet tetes (jika menggunakan metode film cair)

### Bahan:

- 1) Sampel asam benzoat
- 2) Kalium bromida (KBr) murni (jika menggunakan metode pellet KBr)
- 3) Pelarut seperti kloroform atau  $\text{CCl}_4$  (jika menggunakan metode larutan)

## D. PROSEDUR KERJA

### 1. Persiapan Sampel

#### a. Metode KBr (Pellet Press):

- Timbang **1-2 mg asam benzoat** dan campurkan dengan **100 mg KBr**.
- Haluskan campuran dalam mortar hingga menjadi bubuk halus.
- Tekan campuran hingga membentuk pellet tipis dan transparan.

#### b. Metode ATR (Attenuated Total Reflectance):

- Asam benzoat dapat langsung ditempatkan di atas kristal ATR tanpa preparasi tambahan.

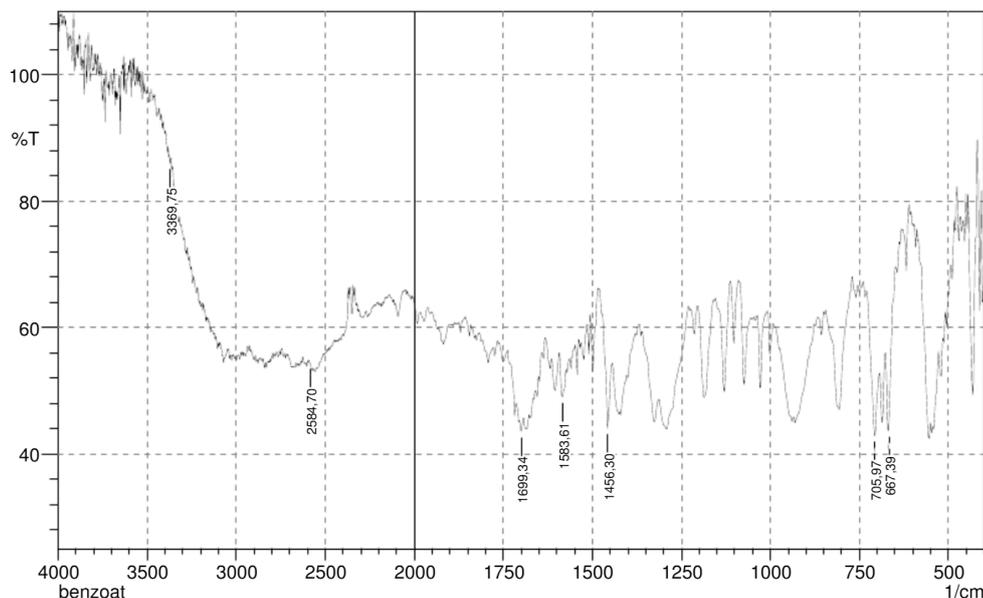
#### c. Metode Film Cair (Jika larut dalam pelarut tertentu):

- Larutkan asam benzoat dalam **kloroform atau  $\text{CCl}_4$** .
- Teteskan larutan pada lempeng NaCl dan biarkan pelarut menguap sebelum dianalisis.

### 2. Pengukuran Spektrum FTIR

- a. Hidupkan **spektrofotometer FTIR** dan biarkan stabil.
- b. Kalibrasi alat dengan menggunakan **latar belakang (background spectrum)** tanpa sampel.
- c. Masukkan sampel asam benzoat yang telah dipreparasi.
- d. Jalankan pemindaian dalam rentang **4000–400  $\text{cm}^{-1}$** .
- e. Simpan dan analisis spektrum yang diperoleh.

## E. INTERPRETASI SPEKTRUM FTIR ASAM BENZOAT



Berikut adalah pita serapan khas asam benzoat:

Gugus Fungsi	Pita Serapan (cm <sup>-1</sup> )	Keterangan
<b>O-H (hidroksil asam karboksilat)</b>	2500-3300	Lebar, menunjukkan adanya ikatan hidrogen
<b>C=O (karbonil asam karboksilat)</b>	1680-1710	Pita kuat dan tajam
<b>C=C aromatik</b>	1450-1600	Pita serapan khas cincin benzena
<b>C-H aromatik</b>	3000-3100	Serapan lemah
<b>C-O (karboksilat)</b>	1200-1300	Serapan khas gugus karboksilat

Ciri khas utama asam benzoat:

- Pita lebar di 2500-3300 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya ikatan hidrogen dalam gugus -OH dari asam karboksilat.
- Pita tajam di sekitar 1680-1710 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya gugus karbonil C=O.
- Pita di 1450-1600 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya cincin aromatik benzena.

## F. PERHITUNGAN DAN ANALISIS DATA

1. Catat bilangan gelombang dari setiap puncak spektrum yang diperoleh.
2. Bandingkan dengan spektrum standar asam benzoat untuk mengidentifikasi kesamaan.
3. Jika terdapat puncak yang menyimpang dari standar, diskusikan kemungkinan faktor penyebabnya.

## **G. PERTANYAAN DAN DISKUSI**

1. Mengapa spektrum FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa organik?
2. Bagaimana perbedaan spektrum FTIR antara asam benzoat dan turunannya (misalnya natrium benzoat)?
3. Apa pengaruh pelarut terhadap hasil spektrum FTIR?
4. Mengapa metode ATR lebih praktis dibandingkan metode pelet KBr?

## **SUMBER PUSTAKA**

- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8th ed.). John Wiley & Sons.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2015). *Introduction to Spectroscopy* (5th ed.). Cengage Learning.
- Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) – Metode identifikasi senyawa dengan spektroskopi inframerah.
- Sastrohamidjojo, H. (2001). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Smith, B. C. (2011). *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Boca Raton: CRC Press.
- Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Chichester: John Wiley & Sons.

## PRAKTIKUM 6

### ANALISIS KANDUNGAN KAFEIN DALAM KOPI DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

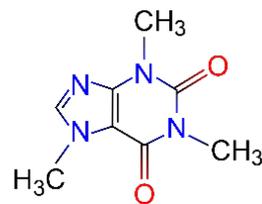
#### A. TUJUAN

1. Memahami prinsip dasar Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) sebagai metode analisis kuantitatif.
2. Menentukan kadar kafein dalam sampel kopi menggunakan metode HPLC.
3. Menganalisis dan menginterpretasikan data hasil kromatografi untuk penentuan kadar kafein.

#### B. DASAR TEORI

Kafein ( $C_8H_{10}N_4O_2$ ) adalah senyawa alkaloid golongan metilxantin yang banyak terdapat dalam kopi, teh, dan minuman energi. Kafein memiliki efek stimulasi pada sistem saraf pusat dan dapat diukur secara kuantitatif menggunakan metode HPLC (Skoog et al., 2014).

Struktur kimia kafein:



HPLC adalah metode kromatografi yang digunakan untuk pemisahan, identifikasi, dan kuantifikasi komponen dalam campuran. Prinsip kerja HPLC didasarkan pada perbedaan interaksi antara senyawa dalam sampel dengan fase diam dan fase gerak yang mengalir melalui kolom bertekanan tinggi (Vogel, 2000). Komponen utama sistem HPLC:

- **Pompa:** Mengalirkan fase gerak dengan tekanan tinggi.
- **Injektor:** Memasukkan sampel dalam volume kecil ke dalam sistem.
- **Kolom kromatografi:** Berisi fase diam (misalnya, C18 reverse-phase) untuk memisahkan komponen.
- **Detektor UV-Vis:** Mendeteksi absorbansi senyawa, khususnya pada panjang gelombang **272 nm** untuk kafein.
- **Data system:** Menganalisis dan mencatat hasil kromatografi.

Metode HPLC yang umum digunakan untuk analisis kafein menggunakan kolom fase diam **C18** dan fase gerak berupa campuran **metanol-air** atau **asam fosfat-air** dalam rasio tertentu (Silverstein et al., 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pemisahan kafein:

- Komposisi fase gerak
- Laju alir (flow rate)
- Panjang gelombang deteksi

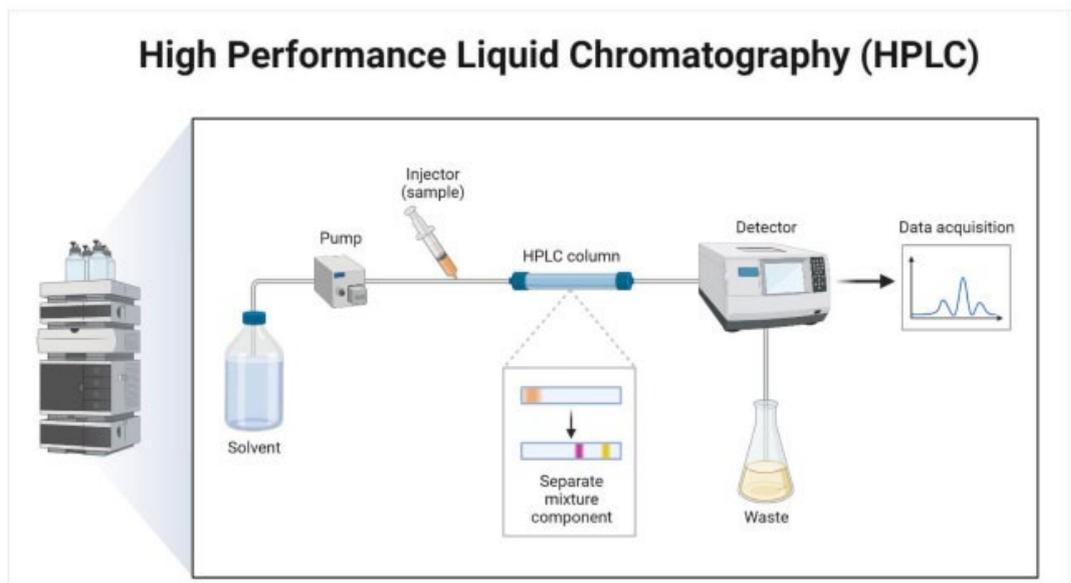
### C. ALAT DAN BAHAN

#### Alat:

1. Sistem HPLC
2. Kolom C18 (reverse phase, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm)
3. Detektor UV-Vis ( $\lambda = 245\text{--}265$  nm)
4. Gelas ukur, labu takar, mikropipet
5. Penyaring membran (0.45 μm atau 0.22 μm)

#### Bahan:

1. Sampel: Asam askorbat standar dan larutan sampel uji
2. Fase gerak (mobile phase): Air : Metanol (or Acetonitrile) = 70:30 v/v  
(Alternatif metanol:air 40:60 v/v)
3. Larutan standar asam askorbat (100 μg/mL dalam air)
4. Akuades atau buffer fosfat untuk pelarut



### D. PROSEDUR KERJA

#### Persiapan Sampel

- a) Timbang 1 gram bubuk kopi dan larutkan dalam 100 mL akuades.
- b) Sonikasi larutan selama 15 menit untuk mengekstraksi kafein.
- c) Saring larutan menggunakan kertas saring, lalu filtrasi dengan membran 0,45 μm.
- d) Masukkan 1 mL filtrat ke dalam vial HPLC.

#### Persiapan Larutan Standar Kafein

- a) Timbang 10 mg kafein standar.
- b) Larutkan dalam 100 mL metanol → Konsentrasi 100 ppm
- c) Buat larutan kerja dengan pengenceran, misalnya 5, 10, 20, 50, 100 ppm untuk kurva kalibrasi.
- d) Filtrasi 0,45 μm.

- e) Lakukan replikasi 3 kali dari larutan induk 100 ppm

#### **Pengaturan Kondisi HPLC**

- a) Kolom: C18 (5  $\mu$ m, 250 mm  $\times$  4,6 mm)
- b) Fase gerak: Metanol:Air (40:60 v/v)
- c) Laju alir: 1,0 mL/menit
- d) Volume injeksi: 20  $\mu$ L
- e) Deteksi: 272 nm (UV-Vis)
- f) Waktu retensi kafein: Sekitar 3-5 menit

#### **Pengukuran dan Identifikasi**

- a) Kalibrasi sistem HPLC dengan injeksi blanko (fase gerak tanpa sampel).
- b) Injeksi larutan standar kafein untuk membuat kurva kalibrasi.
- c) Injeksi larutan sampel kopi dan catat kromatogram yang diperoleh.
- d) Hitung kadar kafein berdasarkan luas puncak dibandingkan kurva kalibrasi.

#### **E. INTERPRETASI HASIL**

1. Waktu retensi (Rt) kafein sekitar 2–5 menit tergantung kondisi kolom dan fase gerak.
2. Puncak kromatogram sampel harus memiliki Rt yang sama dengan standar agar bisa dikonfirmasi sebagai asam askorbat.
3. Jika perlu analisis kuantitatif, hitung konsentrasi dengan persamaan regresi dari kurva standar.

#### **F. PERHITUNGAN DAN ANALISIS DATA**

##### **Kurva Kalibrasi Kafein:**

- Plotkan luas puncak terhadap konsentrasi standar kafein.
- Gunakan persamaan regresi linear  $y = mx + c$  untuk menentukan kadar kafein dalam sampel.

##### **Penentuan Konsentrasi Kafein dalam Kopi:**

$$C_{\text{sampel}} = \frac{(A_{\text{sampel}} - c)}{m}$$

$C_{\text{sampel}}$  = Konsentrasi kafein dalam kopi (ppm)

$A_{\text{sampel}}$  = Luas puncak kafein dalam sampel

$m, c$  = Parameter dari kurva kalibrasi

##### **Konversi ke mg/g Kopi:**

Jika volume ekstraksi 100 mL dan massa sampel kopi 1 gram:

$$\text{Kafein(mg/g)} = C_{\text{sampel}} \times 100$$

#### **G. PERTANYAAN DAN DISKUSI**

1. Mengapa HPLC dipilih sebagai metode analisis kafein dibandingkan metode lain?

2. Bagaimana pengaruh komposisi fase gerak terhadap waktu retensi kafein?
3. Apa keuntungan menggunakan detektor UV-Vis pada analisis kafein?
4. Bagaimana cara mengoptimalkan resolusi pemisahan kafein dalam kromatogram?

#### **SUMBER PUSTAKA**

Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) – Metode analisis asam askorbat dengan HPLC.

United States Pharmacopeia (USP 42-NF37) – Standar kromatografi asam askorbat.  
Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. (2017). Principles of Instrumental Analysis (7th ed.). Cengage Learning.

Sharma, R. (2015). High-Performance Liquid Chromatography: Advances and Perspectives. Elsevier.

# PRAKTIKUM 7

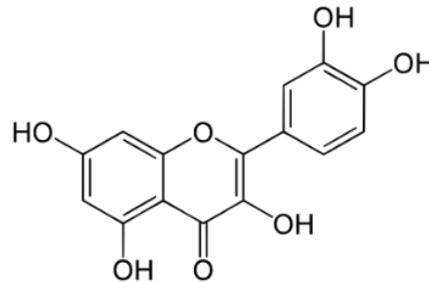
## IDENTIFIKASI QUARSETIN DENGAN KROMATOGRAFI DENSITOMETRI

### A. TUJUAN

1. Memahami prinsip dasar Kromatografi Lapis Tipis Densitometri (TLC-Densitometri) dalam analisis senyawa flavonoid.
2. Mengidentifikasi kuersetin dalam sampel menggunakan metode KLT-Densitometri
3. Menentukan kadar kuersetin dengan teknik densitometri berdasarkan intensitas serapan.

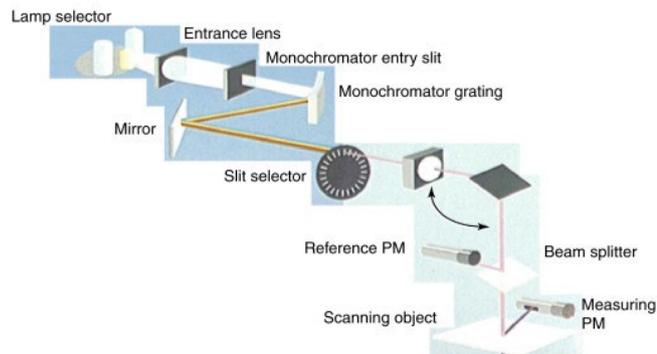
### B. DASAR TEORI

Kuersetin adalah senyawa flavonoid yang banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, dan tanaman obat. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, dan berpotensi sebagai agen farmasi dalam berbagai terapi (Harborne, 1998). Struktur kimia kuersetin:



Ciri-ciri kuersetin dalam analisis KLT:

- R<sub>f</sub> (faktor retensi): Bervariasi tergantung fase gerak, berkisar 0,3 – 0,7 pada fase gerak polar-semi polar.
- Deteksi UV: Fluoresensi khas pada 254 nm dan 366 nm setelah penyemprotan dengan reagen pengembang.



TLC-Densitometri adalah teknik analisis kromatografi yang menggabungkan pemisahan senyawa dengan KLT dan kuantifikasi berbasis deteksi densitometri. Prinsipnya melibatkan:

- Pemisahan senyawa dalam fase diam (pelat KLT) menggunakan fase gerak.
- Visualisasi dengan sinar UV atau reagen semprot.
- Kuantifikasi intensitas bercak menggunakan scanner densitometri berdasarkan absorbansi atau fluoresensi (Wagner & Bladt, 1996).

Keuntungan metode TLC-Densitometri:

- Cepat dan murah dibanding HPLC.
- Sensitivitas tinggi dengan selektivitas yang baik.
- Kuantifikasi non-destruktif, memungkinkan analisis lanjutan

### C. ALAT DAN BAHAN

#### Alat:

- Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan lempeng silika gel GF<sub>254</sub>
- Densitometer (UV 254 nm dan 366 nm)
- Chamber KLT
- Mikropipet atau kapiler aplikasi

#### Bahan:

- Sampel: Ekstrak atau larutan kuersetin standar
- Pelarut: Metanol atau etanol
- Fase gerak (mobile phase): Campuran kloroform:metanol:asam format (80:20:1 v/v/v)
- Reagen semprot (jika diperlukan): AlCl<sub>3</sub> 5% untuk fluoresensi

### D. PROSEDUR KERJA

#### 1) Persiapan Larutan Standar Kuersetin

- Timbang 1 mg kuersetin standar.
- Larutkan dalam 1 mL metanol → Konsentrasi 1000 ppm.
- Buat larutan kerja dengan pengenceran ke 50–200 µg/mL.

#### 2) Persiapan Larutan Sampel

- Ekstrak sampel dari bahan alam menggunakan metanol atau etanol.
- Saring dan konsentrasikan dengan rotary evaporator.
- Larutkan kembali dalam metanol untuk aplikasi KLT.

#### 3) Proses KLT

- Aplikasi sampel dan standar pada lempeng silika GF<sub>254</sub>.
- Pengembangan dengan fase gerak kloroform:metanol:asam format (80:20:1 v/v/v) hingga mencapai jarak 8 cm.
- Pengeringan lempeng dan observasi di UV 254 nm & 366 nm. Densitometri scanning pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm untuk kuantifikasi.

## E. INTERPRETASI HASIL

### Persiapan Pelat KLT

- Gunting pelat KLT ukuran  $10 \times 10$  cm.
- Aktifkan dengan pemanasan  $110^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit.

### Aplikasi Sampel dan Standar

- Teteskan 1-5  $\mu\text{L}$  standar dan sampel dengan kapiler/mikropipet pada pelat KLT.
- Jarak antar bercak minimal 1 cm.

### Pengembangan Kromatografi

- Masukkan pelat ke dalam bejana berisi fase gerak kloroform:metanol:air (70:30:3).
- Biarkan pelarut naik hingga 8 cm, angkat dan keringkan.

### Deteksi dan Visualisasi

- Amati bercak di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm.
- Semprotkan reagen  $\text{AlCl}_3$  5%, keringkan, lalu amati kembali di UV 366 nm.

## Analisis Densitometri

- Pindai pelat KLT menggunakan scanner densitometri pada panjang gelombang 366 nm.
- Catat intensitas fluoresensi dan luas area bercak.
- Buat kurva kalibrasi dari standar kuersetin (luas puncak vs. konsentrasi).
- Hitung kadar kuersetin dalam sampel menggunakan regresi linear:

$$C_{\text{sampel}} = \frac{(A_{\text{sampel}} - c)}{m}$$

dengan:

$C_{\text{sampel}}$  = Konsentrasi kuersetin dalam sampel (ppm)

$A_{\text{sampel}}$  = Luas puncak kuersetin dalam sampel

$m, c$  = Parameter dari kurva kalibrasi

## F. HASIL DAN ANALISIS DATA

- Bandingkan nilai  $R_f$  kuersetin dalam standar dan sampel.
- Hitung persentase kadar kuersetin dalam sampel ekstrak.
- Interpretasi spektrum densitometri untuk konfirmasi identifikasi.

## G. PERTANYAAN DAN DISKUSI

- Mengapa fase gerak yang digunakan memiliki perbandingan kloroform:metanol:air (70:30:3)?

2. Apa fungsi reagen  $\text{AlCl}_3$  dalam visualisasi kuersetin?
3. Apa keunggulan metode KLT-Densitometri dibandingkan HPLC?
4. Bagaimana pengaruh variasi volume injeksi terhadap intensitas sinyal dalam densitometri?

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman & Hall.
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer-Verlag.
- Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, F. J. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9th ed. Cengage Learning.
- Farmakope Indonesia Edisi VI. (2020). Jakarta: BPOM RI.

## FORMAT LAPORAN SEMENTARA

Penyusunan laporan sementara mengikuti format sebagai berikut:

<b>JUDUL PRAKTIKUM</b>
Nama mahasiswa : NIM :
I. TUJUAN
II. DASAR TEORI
III. ALAT DAN BAHAN
IV. PROSEDUR KERJA Prosedur kerja dituliskan secara skematis, berupa diagram alir.
V. DATA DAN KALKULASI

## FORMAT LAPORAN AKHIR

Penyusunan laporan akhir mengikuti format sebagai berikut: Halaman sampul:

<b>PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS</b>
<b>JUDUL TOPIK</b>

Nama Mahasiswa NIM Hari/tanggal praktikum
Dosen pengampu: ..... Asisten pendamping: .....
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA 2025

Empty rectangular box at the top of the page.

Halaman isi, memuat:

<b>JUDUL</b>	
I. TUJUAN	} Merupakan laporan sementara yang telah mendapatkan acc.
II. DASAR TEORI	
III. ALAT DAN	
IV. PROSEDUR KERJA	
V. DATA DAN KALKULASI	
VI. PEMBAHASAN	
VII. KESIMPULAN	
Dosen Pengampu	Praktikan
ttd	ttd
Nama Dosen	Nama mahasiswa