

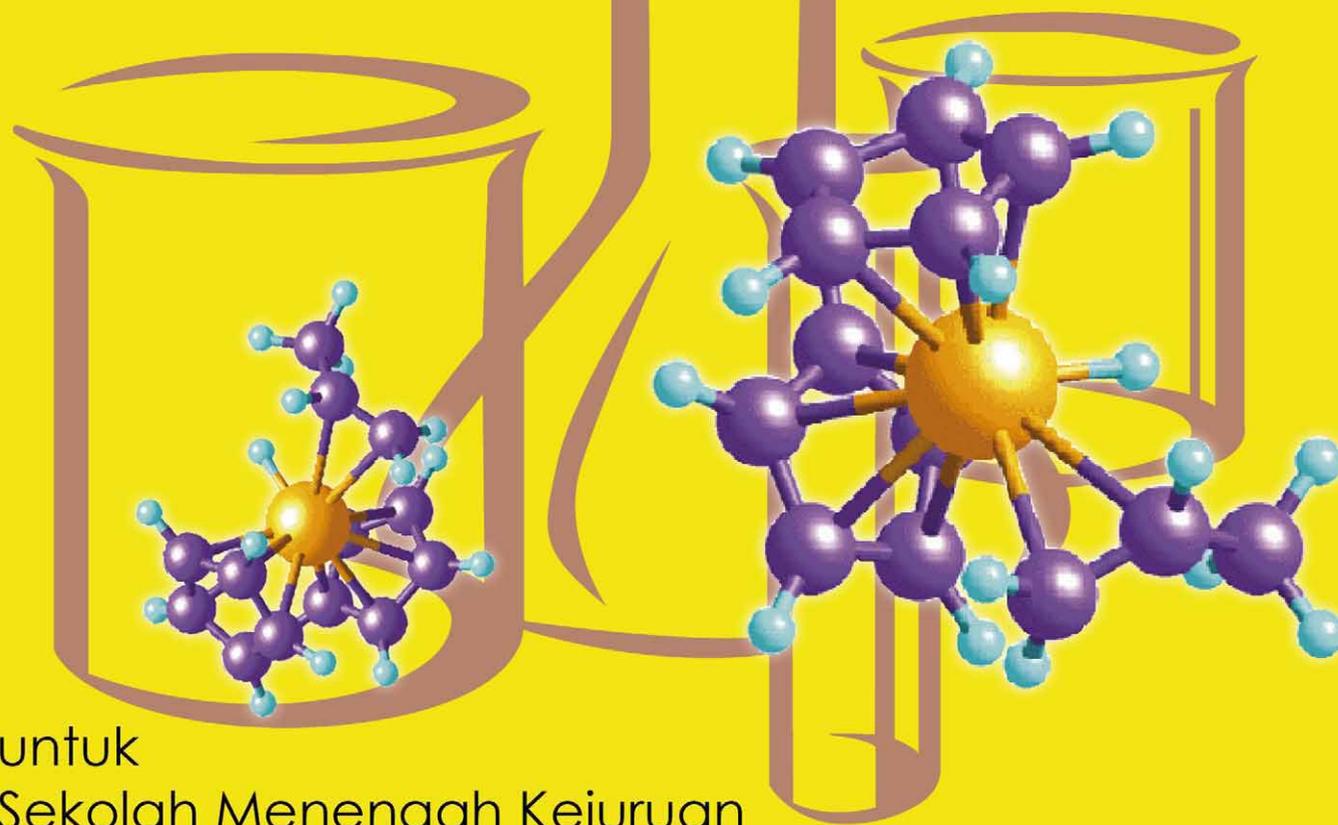
Adam Wiryawan,  
dkk.



Adam Wiryawan, dkk.

# Kimia Analitik

KIMIA ANALITIK



untuk  
Sekolah Menengah Kejuruan



Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan  
Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional

untuk SMK

Adam Wiryawan, dkk.

# KIMIA ANALITIK

**SMK**



**Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan**  
Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional

Hak Cipta pada Departemen Pendidikan Nasional  
Dilindungi Undang-undang

# KIMIA ANALITIK

Untuk SMK

Penulis : Adam Wiryawan  
Rurini Retnowati  
Akhmad Sabarudin

Perancang Kulit : TIM

Ukuran Buku : 17,6 x 25 cm

WIR WIRYAWAN, Adam  
k Kimia Analitik untuk SMK /oleh Adam Wiryawan, Rurini Retnowati, Akhmad Sabarudin ---- Jakarta : Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional, 2008.  
... (halaman romawi terakhir) ... (halaman angka terakhir) hlm  
Daftar Pustaka : Lampiran. A1  
ISBN : 978-602-8320-40-5

Diterbitkan oleh  
**Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan**  
Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional  
Tahun 2008

## KATA SAMBUTAN

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat rahmat dan karunia Nya, Pemerintah, dalam hal ini, Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional, telah melaksanakan kegiatan penulisan buku kejuruan sebagai bentuk dari kegiatan pembelian hak cipta buku teks pelajaran kejuruan bagi siswa SMK. Karena buku-buku pelajaran kejuruan sangat sulit di dapatkan di pasaran.

Buku teks pelajaran ini telah melalui proses penilaian oleh Badan Standar Nasional Pendidikan sebagai buku teks pelajaran untuk SMK dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelayakan untuk digunakan dalam proses pembelajaran melalui Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008.

Kami menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada seluruh penulis yang telah berkenan mengalihkan hak cipta karyanya kepada Departemen Pendidikan Nasional untuk digunakan secara luas oleh para pendidik dan peserta didik SMK.

Buku teks pelajaran yang telah dialihkan hak ciptanya kepada Departemen Pendidikan Nasional ini, dapat diunduh (*download*), digandakan, dicetak, dialihmediakan, atau difotokopi oleh masyarakat. Namun untuk penggandaan yang bersifat komersial harga penjualannya harus memenuhi ketentuan yang ditetapkan oleh Pemerintah. Dengan ditayangkan *soft copy* ini diharapkan akan lebih memudahkan bagi masyarakat khususnya para pendidik dan peserta didik SMK di seluruh Indonesia maupun sekolah Indonesia yang berada di luar negeri untuk mengakses dan memanfaatkannya sebagai sumber belajar.

Kami berharap, semua pihak dapat mendukung kebijakan ini. Kepada para peserta didik kami ucapkan selamat belajar dan semoga dapat memanfaatkan buku ini sebaik-baiknya. Kami menyadari bahwa buku ini masih perlu ditingkatkan mutunya. Oleh karena itu, saran dan kritik sangat kami harapkan.

Jakarta, 17 Agustus 2008  
Direktur Pembinaan SMK

## KATA PENGANTAR

Dengan rahmat Allah SWT kami dapat menyusun buku ajar dengan judul Kimia Analitik.

Buku ini mencakup pokok bahasan : kegiatan di laboratorium dengan benar, keselamatan dan kesehatan kerja di laboratorium, metode analisis kimia yaitu secara gravimetri, volumetri (titrasi), spektrofotometri, kromatografi.

Mudah-mudahan Buku ini bermanfaat bagi siswa Sekolah Menengah terutama siswa Sekolah Menengah Kejuruan.

Para siswa diharapkan melengkapinya dari literatur yang disarankan untuk kesempurnaan buku ini.

Kami ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga tersusunnya buku ini

Penulis,

## DAFTAR ISI

Kata Pengantar .....	i
Daftar isi .....	ii
I. PENDAHULUAN .....	1
- Pengertian Kimia Analitik .....	1
- Penggunaan Kimia Analitik .....	1
- Tahapan dalam analisis kimia .....	2
- Metode dalam analisis kimia .....	4
II. PERLAKUAN DATA HASIL .....	5
- Pendahuluan .....	5
- Ketepatan dan ketelitian .....	5
- Kesalahan dalam pengukuran .....	7
- Rambatan kesalahan .....	8
- Batas kepercayaan .....	9
- U J I Q .....	11
- Contoh perhitungan kesalahan pada titrasi .....	12
- Soal latihan .....	15
III. KEGIATAN DI LABORATORIUM .....	16
- Kegiatan yang benar di laboratorium .....	16
- Menyiapkan laboratorium untuk analisis rutin .....	16
- Menyimpan bahan kimia dan larutan .....	17
- Perawatan alat gelas .....	17
IV. KESELAMATAN DAN KESEHATAN KERJA DI LABORATORIUM .....	19
- Hal-hal penyebab kecelakaan .....	19
- Sumber-sumber kecelakaan kerja .....	20
- Pengenalan bahan beracun dan Berbahaya .....	25
- Teknik percobaan berbahaya .....	28
V. TITRASI (VOLUMETRI) .....	37
- Prinsip titrasi .....	37
- Konsentrasi larutan .....	39
VI. TITRASI ASAM BASA .....	44

- Prinsip titrasi asam basa .....	44
- Kurva titrasi asam basa .....	44
- Indikator asam basa .....	45
- Beberapa prosedur titrasi asam basa :	47
- Standarisasi HCl dengan NaBorax .....	47
- Standarisasi NaOH dengan HCl .....	48
- Standarisasi NaOH dengan Asam Oksalat .....	48
- Analisa kadar Asam asetat dalam cuka .....	49
- Analisa Kadar $\text{Na}_2\text{CO}_3$ dalam soda ...	50
VII. ARGENTOMETRI .....	52
Metode MOHR .....	52
- Standarisasi $\text{AgNO}_3$ dengan NaCl .....	53
- Penentuan kadar NaCl dalam garam dapur .....	54
- Penentuan khlorida dalam air laut .....	54
Metode VOLHARD .....	55
- Standarisasi $\text{NH}_4\text{SCN}$ dengan $\text{AgNO}_3$ .....	55
- Penentuan kadar NaCl dalam garam dapur .....	56
- Penentuan khlorida dalam air laut .....	57
Metode FAJANS .....	58
- Standarisasi larutan $\text{AgNO}_3$ dengan Larutan NaCl .....	58
- Penentuan kadar NaCl dalam garam dapur .....	59
- Penentuan khlorida dalam air laut .....	60
- Penentuan kadar sulfat .....	61
VIII. TITRASI KOMPLEKSOMETRI .....	63
- Standarisasi larutan EDTA dengan $\text{CaCl}_2$ .....	65
- Penentuan total kesadahan air laut .....	66
IX. TITRASI OKSIDASI REDUKSI .....	67
PENENTUAN BESI SECARA TITRASI OKSIDASI DENGAN BIKHROMAT .....	68
- Menyiapkan larutan standar $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .....	69

- Melarutkan sampel bijih besi .....	70
- Titrasi larutan sampel dengan $K_2Cr_2O_7$ ...	71
<b>PENENTUAN TEMBAGA SECARA</b>	<b>71</b>
<b>IODOMETRI</b> .....	
- Standarisasi $Na_2S_2O_3$ dengan $KIO_3$ .....	72
- Pelarutan Sampel .....	73
- Titrasi larutan sampel dengan $Na_2S_2O_3$ ..	74
<b>X. GRAVIMETRI</b> .....	<b>75</b>
- Penentuan klorida .....	77
- Penentuan aluminium .....	79
- Penentuan sulfat .....	81
- Penentuan kalium .....	83
<b>XI. ANALISIS MIKROBIOLOGI</b> .....	<b>85</b>
- Inoculating dengan jarum ose .....	86
- Pipetting .....	87
- Alcohol flaming .....	88
<b>XII. ANALISIS PROKSIMAT</b> .....	<b>90</b>
- Bahan dan Alat .....	91
- Metode analisis .....	91
- Analisis proksimat dan asam lemak .....	92
<b>XIII. ANALISIS SECARA ELEKTROKIMIA</b> .....	<b>97</b>
- Menyiapkan standar .....	97
- Menguji sampel .....	97
- Kebijakan/Prosedur yang tersedia .....	98
- Pengetahuan dan ketrampilan penunjang	98
<b>XIV. UJI ORGANOLEPTIK</b> .....	<b>100</b>
- Persiapan untuk uji organoleptik .....	100
- Melaksanakan uji organoleptik .....	100
- Mencatat dan melaporkan hasil .....	100
- Kebijakan yang berkaitan .....	101
- Peralatan yang diperlukan .....	101
- Prosedur penilaian .....	101
<b>XV. SPEKROFOTOMETRI UV TAMPAK</b>	<b>103</b>

- Radiasi Elektromagnetik .....	103
- Absorpsi radiasi oleh molekul .....	105
- Teori spektrofotometri absorpsi molekul .	107
- Analisis kuantitatif .....	115
- Instrumen yang digunakan pada spektrofotometer UV tampak .....	125
- Analisa multi komponen .....	133
- Praktikum 1 : Spektrofotometri UV- tampak .....	137
- Praktikum 2 : Analisa multi komponen ...	147
- Praktikum 3 : Penentuan kadar quinin ....	151
X. SPEKTROFOTOMETRI INFRA MERAH .....	153
- Teori dasar absorpsi infra merah .....	153
- Struktur sempurna pada absorpsi infra merah .....	154
- Transisi lain yang menghasilkan absorpsi infra merah .....	154
- Kompleksitas spektrum infra merah .....	154
- Penyajian spektrum infra merah .....	155
- Aplikasi spektrofotometri absorpsi infra merah .....	155
- Bahan yang digunakan untuk sel absorpsi pada spektrofotometer infra merah ..	155
- Instrumentasi .....	156
- Praktikum spektrofotometri infra merah ..	157
XI. SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM . . . .	159
- Pendahuluan .....	159
- Lebar pita spektra .....	160
- Spektrometer serapan atom .....	161
- Praktikum SSA .....	177
XI. KROMATOGRAFI .....	188
- Pendahuluan .....	188
- Klasifikasi kromatografi .....	189
- Teori dasar .....	191
- Kromatografi Gas .....	195
- Pemilihan fase gerak .....	200

- Kromatogram. ....	202
- Parameter pemisahan pada kolom .....	203
- Pengoperasian kolom.....	207
- Indeks retensi .....	210
- Fase diam .....	214
- Fase diam yang tersedia .....	225
- Detektor pada kromatografi gas .....	228
- Analisis dengan kromatografi gas .....	244
- Kromatografi cair .....	252
- Interaksi solven-solut dalam kromatografi .....	259
- Fase gerak untuk kromatografi cair .....	261
- Tutorial .....	270
- Praktikum kromatografi .....	271
 BAHAN BACAAN .....	 307

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. PENGERTIAN KIMIA ANALITIK

Kimia Analitik merupakan salah satu cabang Ilmu Kimia yang mempelajari tentang pemisahan dan pengukuran unsur atau senyawa kimia. Dalam melakukan pemisahan atau pengukuran unsur atau senyawa kimia, memerlukan atau menggunakan metode analisis kimia.

Kimia analitik mencakup kimia analisis kualitatif dan kimia analisis kuantitatif. Analisis kualitatif menyatakan keberadaan suatu unsur atau senyawa dalam sampel, sedangkan analisis kuantitatif menyatakan jumlah suatu unsur atau senyawa dalam sampel.

### 1.2. PENGGUNAAN KIMIA ANALITIK

Kimia analitik tidak hanya digunakan di bidang kimia saja, tetapi digunakan juga secara luas di bidang ilmu lainnya. Penggunaan kimia analitik di berbagai bidang diantaranya :

a. Pengaruh komposisi kimia terhadap sifat fisik.

Efisiensi suatu katalis, sifat mekanis dan elastisitas suatu logam, kinerja suatu bahan bakar sangat ditentukan oleh komposisi bahan-bahan tersebut.

b. Uji kualitas.

Analisis kimia sangat diperlukan untuk mengetahui kualitas udara di sekitar kita, air minum yang kita gunakan, makanan yang disajikan. Dibidang industri, analisis kimia digunakan secara rutin untuk menentukan suatu bahan baku yang akan digunakan, produk setengah jadi dan produk jadi. Hasilnya dibandingkan dengan spesifikasi yang ditetapkan. Bidang ini disebut pengawasan mutu atau *quality controll*.

- c. Penentuan konsentrasi bahan/senyawa yang bermanfaat atau bernilai tinggi.

Analisis kimia digunakan pada penentuan kadar lemak dalam krim, kadar protein dalam suatu makanan atau bahan pangan, kadar uranium dalam suatu bijih tambang.

- d. Bidang kedokteran.

Untuk mendiagnosis suatu penyakit pada manusia diperlukan suatu analisis kimia, sebagai contoh : tingkat konsentrasi bilirubin dan enzim fosfatase alkali dalam darah menunjukkan adanya gangguan fungsi liver. Tingkat konsentrasi gula dalam darah dan urin menunjukkan penyakit gula.

- e. Penelitian.

Sebagian besar penelitian menggunakan kimia analitik untuk keperluan penelitiannya. Sebagai contoh pada penelitian korosi logam, maka ditentukan berapa konsentrasi logam yang terlarut ke dalam lingkungan air. Di bidang pertanian, suatu lahan pertanian sebelum digunakan, maka tingkat kesuburannya ditentukan dengan mengetahui tingkat konsentrasi unsur yang ada di dalam tanah, misalnya konsentrasi N, P, K dalam tanah.

### 1.3.TAHAPAN DALAM ANALISIS KIMIA

Dalam melakukan analisis kimia, perlu dilakukan tahapan analisis untuk memperoleh hasil analisis kimia yang tepat dan teliti.

- a. Perencanaan analisis.

Sebelum melakukan analisis kuantitatif, maka perlu memperhatikan dua hal berikut ini ;

- Informasi analisis apa yang diperlukan :

Dalam hal ini perlu diperhatikan tingkat ketepatan dan ketelitian hasil analisis yang diperlukan dan tipe sampel yang akan dianalisis.

- Metode analisis yang harus digunakan :

Untuk mendapatkan hasil analisis dengan tingkat ketepatan dan ketelitian tertentu memerlukan metode analisis tertentu. Selain itu

untuk memilih metode analisis, diperlukan bahan kimia dan peralatan tertentu.

b. Pengambilan sampel (sampling).

Masalah utama dalam sampling adalah pengambilan sampel secara representatif. Hal ini sering tidak tercapai karena keadaan sampel secara keseluruhan tidak homogen.

c. Persiapan sampel untuk analisis.

Tahap ini meliputi pengeringan sampel, pengukuran sampel dan pelarutan sampel.

*Pengeringan sampel.*

Tahap ini dilakukan untuk sampel dalam wujud padat. Pengeringan sampel dilakukan untuk menghilangkan kadar air yang ada dalam sampel. Pengeringan sampel dilakukan menggunakan oven dengan suhu 100 – 110°C sampai mencapai berat konstan.

*Penimbangan atau pengukuran volume sampel.*

Dalam analisis kuantitatif, sampel yang dianalisis harus diketahui secara kuantitatif berat atau volume sampel.

*Pelarutan sampel.*

Dalam pelarutan sampel harus dipilih pelarut yang dapat melarutkan sampel secara sempurna. Pelarut yang biasa digunakan dikelompokkan menjadi ; air, pelarut organik, pelarut asam (asam encer, asam kuat, asam campuran) serta peleburan.

d. Pemisahan senyawa pengganggu.

Kebanyakan metode analisis kimia bersifat selektif hanya untuk unsur atau senyawa yang dianalisis. Ada beberapa metode analisis yang tidak selektif, karena adanya unsur atau senyawa pengganggu.

Untuk itu unsur atau senyawa pengganggu harus dipisahkan dari sampel yang akan dianalisis. Metode yang paling mudah untuk pemisahan unsur/senyawa pengganggu adalah pengendapan. Metode yang lain adalah ekstraksi pelarut dan kromatografi.

e. Pengukuran (analisis) unsur/senyawa yang akan diketahui.

Metode analisis kuantitatif digunakan untuk menentukan kadar unsur/senyawa. Beberapa metode analisis disajikan pada sub bab 1.4.

f. Perhitungan, pelaporan dan evaluasi hasil analisis.

Setelah melakukan analisis secara kuantitatif, maka perlu dilakukan perhitungan untuk mendapatkan jumlah analit dalam sampel. Termasuk memperhitungkan berapa berat sampel (untuk sampel padat) atau volume sampel (untuk sampel cair) dan juga faktor pengenceran.

Evaluasi terhadap hasil analisis dilakukan terhadap tingkat ketepatan dan ketelitiannya.

#### 1.4. METODE DALAM ANALISIS KIMIA

Beberapa metode analisis kimia yang biasa digunakan, baik yang konvensional maupun yang menggunakan instrumen adalah sebagai berikut ;

- a. Gravimetri.
- b. Titrasi (volumetri) :  
meliputi titrasi Asam basa, Pengendapan, Pembentukan kompleks, Oksidasi reduksi.
- c. Ekstraksi
- d. Kromatografi
- e. Elektro analisis kimia :  
meliputi Polarografi, Potensiometri, Konduktometri.
- f. Spektrofotometri :  
meliputi spektrofotometri sinar tampak (visibel), sinar UV, sinar Infra merah (IR), serapan atom.

## **BAB II**

### **PERLAKUAN DATA HASIL ANALISIS DAN KESALAHAN PENGUKURAN**

#### **2.1. PENDAHULUAN**

Dalam melakukan analisis kimia, untuk memperoleh hasil analisis yang baik, maka perlu memperhatikan hal-hal berikut :

- Seorang analis kimia harus mencatat dengan teliti dan menghitung dengan benar setiap hasil analisis dalam *log book*.
- Analisis biasanya dilakukan beberapa kali ulangan maka analis harus menentukan angka atau hasil terbaik untuk dilaporkan. Harga terbaik diperoleh dari rata-rata beberapa kali pengukuran.
- Analis harus mengevaluasi hasil yang diperoleh dan menentukan batas kesalahan untuk disajikan pada hasil akhir.

#### **2.2. KETEPATAN DAN KETELITIAN**

Pengertian yang jelas mengenai ketelitian (presisi) dan ketepatan (akurasi) dapat digunakan untuk mengevaluasi suatu hasil analisis.

Ketelitian (presisi) adalah kesesuaian diantara beberapa data pengukuran yang sama yang dilakukan secara berulang. Tinggi rendahnya tingkat ketelitian hasil suatu pengukuran dapat dilihat dari harga deviasi hasil pengukuran.

Sedangkan ketepatan (akurasi) adalah kesamaan atau kedekatan suatu hasil pengukuran dengan angka atau data yang sebenarnya (*true value / correct result*).

Untuk memperjelas perbedaan antara ketepatan dan ketelitian diberikan contoh hasil pengukuran pada Tabel 2.1 dan Gambar 2.1. Data tersebut merupakan hasil analisis dari percobaan yang sama tetapi dilakukan oleh empat orang yang berbeda, dimana

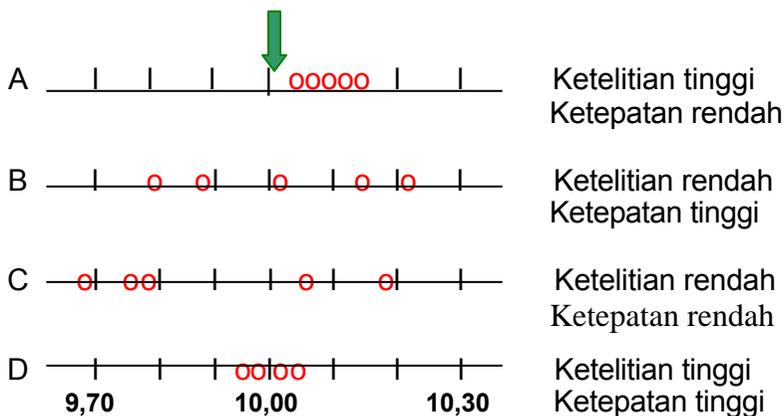
masing-masing dengan lima kali ulangan. Sedangkan angka yang sebenarnya (seharusnya) adalah 10,00.

Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa hasil yang diperoleh A mempunyai ketelitian yang tinggi karena standar deviasinya kecil (0,02), sedangkan ketepatannya rendah karena rata-ratanya 10,10 (jauh terhadap 10,00). Hasil pengukuran yang diperoleh B mempunyai ketelitian yang rendah karena deviasinya besar yaitu 0,17, sedangkan ketepatannya tinggi karena hasil rata-ratanya 10,01 (dekat terhadap 10,00). Hasil analisis yang diperoleh

Tabel 2.1. Hasil pengukuran oleh empat analis

Analis	Hasil	Rata – rata
A	10,08; 10,11; 10,09; 10,10 ; 10,12	10,10 ± 0,02
B	9,88; 10,14; 10,02; 9,80; 10,21	10,01 ± 0,17
C	10,19; 9,79; 9,69; 10,05; 9,78	9,90 ± 0,21
D	10,04; 9,98; 10,02; 9,97; 10,04	10,01 ± 0,03

Hasil yang benar



Gambar 2.1. Ploting data pada tabel 2.1.

C mempunyai ketelitian yang rendah karena deviasinya besar yaitu 0,21, sedangkan ketepatannya juga rendah karena harga rata-rata hasil pengukuran 9,90 (jauh terhadap 10,00). Dan hasil pengukuran oleh D mempunyai ketelitian yang tinggi dan ketepatan yang tinggi pula, hal ini karena deviasinya cukup kecil yaitu 0,03 dan harga rata-rata hasil pengukuran sebesar 10,01 (dekat terhadap 10,00).

Untuk menghitung harga rata-rata dan deviasi digunakan persamaan seperti pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2. Perhitungan rata-rata dan deviasi**

Ulangan (n)	Hasil Pengukuran ( $X_i$ )	Simpangan ( $d= X_i - \bar{X} $ )
1	$X_1$	$ X_1 - \bar{X} $
2	$X_2$	$ X_2 - \bar{X} $
⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮
N	$X_n$	$ X_n - \bar{X} $

Harga rata – rata : 
$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

Deviasi rata – rata : 
$$d = \frac{\sum |X_i - \bar{X}|}{N}$$

Deviasi standar : 
$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

### 2.3. KESALAHAN DALAM PENGUKURAN

#### a. KESALAHAN SISTIMATIK DAN KESALAHAN ACAK

Kesalahan sistimatik (systematic error) disebabkan oleh simpangan tetap dari setiap kali hasil pengukuran dilakukan. Misalnya kesalahan yang berasal kesalahan kalibrasi, pemilihan metode analisa, pemilihan indikator dalam titrasi atau pemakaian

buret yang kotor, kesalahan pembacaan pemakaian labu ukur kelas A lebih kecil dari labu ukur kelas B dan pereaksi yang digunakan.

Kesalahan acak (random error) adalah kesalahan yang timbul karena tidak dapat ditentukan. Sebagai contoh adalah keterbatasan daya pengamatan seseorang dalam membaca buret 50 ml yaitu hanya sampai 0,02 ml, keterbatasan membaca neraca analitis sampai 0,0001 g. Sumber kesalahan lain adalah lingkungan laboratorium.

#### b. KESALAHAN MUTLAK DAN RELATIF

Kesalahan mutlak merupakan kesalahan yang besarnya adalah tertentu sedang kesalahan relatif adalah kesalahan yang besarnya tidak tentu.

Contoh:

Dalam pembacaan buret 50 ml, kesalahan pembacaan adalah 0,02 ml, jadi kesalahan mutlaknya = 0,02 ml

$$\text{Sedang kesalahan relatif} = \frac{0,02}{50} \times 100 \% = 0,04\%$$

#### 2.4. RAMBATAN KESALAHAN

##### a. Penjumlahan dan Pengurangan

Dalam memperhitungkan kesalahan pada penjumlahan dan pengurangan menggunakan kesalahan mutlak.

**Tabel 2.3. Harga kesalahan perhitungan dengan penjumlahan**

Harga sebenarnya	Kesalahan mutlak
$X = U$	$?X = ? U$
$X = U + V$	$?X = ? U + ? V$
$X = U - V$	$?X = ? U + ? V$

##### b. Perkalian dan Pembagian

Dalam memperhitungkan kesalahan pada perkalian dan pembagian menggunakan kesalahan relatif.

Tabel 2.4. Harga kesalahan perhitungan dengan perkalian dan pembagian

Harga sebe narnya	Kesalahan relatif		
$X = U \cdot V$	$\frac{?X}{X}$	$= \frac{?U}{U} +$	$\frac{?V}{V}$
$X = \frac{U}{V}$	$\frac{?X}{X}$	$= \frac{?U}{U} +$	$\frac{?V}{V}$

Contoh :

1.  $(0,31 \pm 0,02) + (0,71 \pm 0,03) =$   
 $= (0,31 + 0,71) \pm (0,02 + 0,03)$   
 $= (1,02 \pm 0,05)$
2.  $(0,71 \pm 0,03) - (0,31 \pm 0,02) =$   
 $= (0,71 - 0,31) \pm (0,03 + 0,02)$   
 $= (0,40 \pm 0,05)$
3.  $(0,31 \pm 0,02) \times (0,71 \pm 0,03)$   
 $= (0,31 \pm 6,45\%) \times (0,71 \pm 4,23\%)$   
 $= (0,31 \times 0,71) \pm (6,45 + 4,23)\%$   
 $= (0,2201 \pm 10,68\%)$   
 $= (0,2201 \pm 0,0235) = (0,22 \pm 0,02)$
4.  $\frac{(0,31 \pm 0,02)}{(0,71 \pm 0,03)} = \frac{(0,31 \pm 6,45\%)}{(0,71 \pm 4,23\%)}$   
 $= \left[ \frac{0,31}{0,71} \right] \pm (6,45 + 4,23)\%$   
 $= (0,4366 \pm 10,68\%)$   
 $= (0,4366 \pm 0,0466) = (0,44 \pm 0,05)$

## 2.5. BATAS KEPERCAYAAN

Untuk menghitung simpangan dari suatu hasil rata-rata dihitung dengan persamaan berikut :

$$\bar{X} \pm \frac{t \times s}{n}$$

Dimana :  $\bar{X}$  = Harga rata – rata  
 $t$  = harga t dilihat dari tabel  
 $s$  = deviasi standar  
 $n$  = jumlah pengamatan/ulangan

Contoh :

Hasil rata-rata dari 10 pengukuran 56,06% dan deviasi standarnya 0,21%, maka simpangan dapat dihitung sebagai berikut :

$$\bar{X} = 56,06\% ; a = 0,21\% ; t_{(n=10) (90\%)} = 1,833$$

$$?x = \frac{t \times s}{n} = \frac{1,833 \times 0,21}{10} = 0,12$$

$$\text{Hasil pengukuran} = ( 56,06 \pm 0,12 ) \%$$

**Tabel 2.5. Tabel harga t untuk harga n dan tingkat kepercayaan yang berbeda**

Jumlah Pengukuran N	Tingkat Kebebasan n-1	Tingkat Kepercayaan		
		0,10 90%	0,05 95%	0,01 99%
2	1	6,314	12,706	63,657
3	2	2,920	4,303	9,925
4	3	2,353	3,182	5,841
5	4	2,320	2,776	4,604
6	5	2,015	2,571	4,032
7	6	1,943	2,447	3,707
8	7	1,895	2,365	3,499
9	8	1,800	2,306	3,355
10	9	1,833	2,262	3,250
11	10	1,812	2,228	3,169
12	11	1,796	2,201	3,106
13	12	1,782	2,179	3,055
14	13	1,771	2,160	3,012
15	14	1,761	2,145	2,977
16	15	1,753	2,131	2,947
21	20	1,725	2,086	2,845
26	25	1,708	2,060	2,787
31	30	1,697	2,042	2,750
41	40	1,684	2,021	2,704
61	60	1,671	2,000	2,660
~ + 1	~	1,645	1,960	2,576

2.6. U J I Q : Uji pencilan data.

Uji Q digunakan untuk mengetahui apakah suatu harga dari beberapa data dapat digunakan atau tidak. Uji ini biasanya dilakukan pada tingkat kepercayaan 90%. Harga Q terdapat pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6. Daftar harga Q dan persamaan uji Q

Rumus menghitung Q	n	Q <sub>0,90</sub>	Q <sub>0,96</sub>	Q <sub>0,99</sub>
Harga terkecil : Q = $\frac{X_2 - X_1}{X_n - X_1}$ (X <sub>1</sub> )	3	0,94	0,98	0,99
	4	0,76	0,85	0,93
	5	0,64	0,73	0,82
	6	0,56	0,64	0,74
Harga terbesar : Q = $\frac{X_n - X_{n-1}}{X_n - X_1}$ (X <sub>n</sub> )	7	0,51	0,59	0,68
	8	0,47	0,54	0,63
	9	0,44	0,51	0,60
	10	0,41	0,48	0,57

Langkah-langkah dalam melakukan uji Q, data analisis diurut dari yang terkecil sampai yang terbesar, kemudian Q untuk harga terkecil dan harga terbesar dihitung, bila Q hitung > Q tabel, maka harga atau data tersebut tidak digunakan, tetapi bila Q hitung < Q tabel maka data tersebut masih digunakan.

Contoh:

Kita mempunyai data sebagai berikut : 40,12 ; 40,15 ; 40,55, maka dapat dilakukan uji Q dengan cara sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Harga terbesar : } Q &= \frac{X_3 - X_2}{X_3 - X_1} = \frac{40,55 - 40,15}{40,55 - 40,12} \\ &= \frac{0,40}{0,43} = 0,93 \end{aligned}$$

karena Q hitung < Q tabel jadi data terbesar yaitu 40,55 tidak perlu dibuang, Q tabel (90%)(n-3) = 0,94

$$\begin{aligned} \text{Harga terkecil : } Q &= \frac{X_2 - X_1}{X_3 - X_1} = \frac{40,15 - 40,12}{40,55 - 40,12} \\ &= \frac{0,03}{0,43} = 0,07 \end{aligned}$$

karena  $Q$  hitung  $<$   $Q$  tabel, jadi data terkecil yaitu 41,12 tetap digunakan.

## 2.7. CONTOH PERHITUNGAN KESALAHAN PADA TITRASI.

STANDARDISASI LARUTAN HCl DENGAN LARUTAN STANDAR Natrium tetraborat ATAU Boraks ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )

a. Pembuatan larutan standar Boraks 0,1000 N

Ditimbang 10,645 gram Boraks kemudian dilarutkan sampai 1000 ml dalam labu ukur. Sehingga kesalahan (?N) dari  $N_{\text{Boraks}}$  berasal dari timbangan dan labu ukur 1000 ml.

- Kesalahan mutlak timbangan =  $\pm 0,1$  mg

$$\begin{aligned} \text{Kesalahan relatif} &= \frac{2 \times 0,1}{10964,5} \times 100 \% \\ &= 1,82 \times 10^{-3} \% \end{aligned}$$

Catatan :

Kesalahan relatif timbangan 2 kali, karena pembacaan timbangan dilakukan dua kali, yaitu ;

- Waktu menimbang tempat (wadah)
- Waktu menimbang tempat dan zat

- Kesalahan mutlak dari labu ukur 1000 ml.

Kesalahan mutlak labu ukur 1000 ml adalah  $\pm 0,4$  ml.

$$\text{Kesalahan relatif} = \frac{0,4}{1000} \times 100 \% = 0,04 \%$$

Jadi kesalahan relatif dari timbangan dan labu ukur 1000 mL

$$= (1,82 \times 10^{-3} + 0,04) \% = 0,04 \%$$

$$\text{Kesalahan mutlak} = \frac{0,04 \%}{100\%} \times 0,1000 = 0,0004$$

Jadi Normalitas Boraks =  $(0,1000 \pm 0,0004) \text{ N}$

- b. Standardisasi larutan HCl dengan larutan standar Boraks  
 $(0,1000 \pm 0,0004) \text{ N}$

Dipipet 25,00 ml larutan Boraks  $(0,1000 \pm 0,0004) \text{ N}$ , dititrasi dengan larutan HCl. Percobaan dilakukan 3 kali ulangan. Untuk titik akhir titrasi diperlukan volume larutan HCl sebanyak :  
I. 26,50 mL; II. 26,54 mL; III. 26,46 mL.

Untuk menghitung Normalitas (N) HCl digunakan rumus :

$$N_{\text{HCl}} = \frac{V_{\text{Boraks}} \times N_{\text{Boraks}}}{V_{\text{HCl}}}$$

Untuk itu lebih dahulu diketahui  $V_{\text{Boraks}}$  dan  $V_{\text{HCl}}$  sedang  $N_{\text{Boraks}}$  sudah dihitung/diketahui.

? $V_{\text{boraks}}$  dilihat dari kesalahan pipet volume 25 mL yaitu  $\pm 0,06 \text{ mL}$ .

? $V_{\text{HCl}}$  dihitung dari deviasi standar

$$\text{Volume HCl (Rata-rata)} = \frac{26,50 + 26,54 + 26,46}{3} = 26,50 \text{ mL}$$

$$S (n-1) = 0,04$$

$$\begin{aligned} ?V_{\text{HCl}} &= \frac{S (n-1) \times t (90\%) (n=3)}{n} \\ &= \frac{0,04 \times 2,92}{3} = 0,07 \end{aligned}$$

$$V_{\text{HCl}} = (26,50 \pm 0,07) \text{ ml}$$

$$V_{\text{Boraks}} = (25,00 \pm 0,06) \text{ ml}$$

$$N_{\text{Boraks}} = (0,1000 \pm 0,0004) \text{ N}$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi } N_{\text{HCl}} &= \frac{V_{\text{Boraks}} \times N_{\text{Boraks}}}{V_{\text{HCl}}} \\ &= \frac{(25,00 \pm 0,06) \times (0,1000 \pm 0,0004)}{(26,50 \pm 0,07)} \\ &= \frac{\left[ 25,00 \pm \frac{0,06}{25,00} \times 100\% \right] \left[ 0,1000 \pm \frac{0,0004}{0,1000} \times 100\% \right]}{\left[ 26,50 \pm \frac{0,07}{26,50} \times 100\% \right]} \\ &= \frac{(25,00 \pm 0,24\%) (0,1000 \pm 0,04\%)}{(26,50 \pm 0,26\%)} \\ &= \left[ \frac{25,00 \times 0,1000}{26,50} \right] \pm (0,24 + 0,04 + 0,26) \% \\ &= (0,0943 \pm 0,54\%) \\ &= 0,0943 \pm \left[ \frac{0,54}{100} \times 0,0943 \right] \\ &= (0,0943 \pm 0,0005) \end{aligned}$$

## SOAL LATIHAN

1. Hasil analisis kadar albumin (g/L) dari sampel darah manusia yang dilakukan oleh 5 laboratorium yang berbeda (A, B, C, D, E) dengan enam kali ulangan adalah sebagai berikut :  
A. 42,5 41,6 42,1 41,9 41,1 42,2  
B. 39,8 43,6 42,1 40,1 43,9 41,9  
C. 43,5 42,8 43,8 43,1 42,7 43,4  
D. 35,0 43,0 37,1 40,5 36,8 42,4  
E. 42,2 41,6 42,0 41,8 42,6 39,0  
Kadar albumin dalam sampel darah manusia standar sebesar 42,0 g/l. Berikan komentar hasil analisis masing-masing laboratorium mengenai tingkat ketelitian dan ketepatan.
2. Dengan metode dan sampel yang sama, laboratorium A melakukan analisis kembali seperti pada soal nomor 1. Hasil yang diperoleh adalah : 41,5 ; 40,8 ; 43,3 ; 41,9 ; 42,2 ; 41,7 g/L. Berikan komentar yang sama seperti soal nomor 1.
3. Hasil pengukuran pH dari suatu larutan bufer memberikan hasil sebagai berikut : 5,12; 5,20; 5,15; 5,17; 5,16; 5,19; 5,15. Hitung batas kepercayaan 95% dan 99% untuk hasil pengukuran pH tersebut.
4. Lakukan uji Q (0,90) untuk data terbesar dan terkecil terhadap data berikut : 5,12; 6,82; 6,12; 6,32; 6,22; 6,32; 6,02. Hitung harga rata-rata, deviasi standar sebelum dan sesudah uji Q. Lakukan juga uji Q yang kedua dan seterusnya bila ada data yang dibuang dengan uji Q pertama.

## **BAB III**

### **KEGIATAN DI LABORATORIUM**

#### **3.1. KEGIATAN YANG BENAR DI LABORATORIUM**

##### **a. Melaksanakan pengecekan peralatan**

Laboratorium dalam melaksanakan kegiatannya, harus melakukan pemantauan kondisi laboratorium, diantaranya melakukan pengecekan alat gelas dan instrumen.

Pengecekan alat gelas dan instrumen dilakukan dengan cara memeriksa secara periodik alat gelas dan instrumen selalu dalam keadaan bersih setelah digunakan, bila ada kerusakan alat gelas dan instrumen maka diperbaiki atau tidak digunakan lagi.

##### **c. Pengecekan sampel uji**

Sampel yang ada atau diterima suatu laboratorium, harus disiapkan untuk selanjutnya sampel tersebut diuji menggunakan prosedur yang tersedia.

Preparasi sampel untuk uji di laboratorium dilakukan berdasarkan uraian yang ada dalam Bab I.

##### **c. Memelihara kesehatan laboratorium**

Setiap orang yang bekerja di laboratorium harus menggunakan baju/jas laboratorium dan pelindung yang lain seperti kaca mata untuk bekerja di laboratorium.

#### **3.2. MENYIAPKAN LABORATORIUM UNTUK ANALISIS RUTIN**

##### **a. Membersihkan wilayah kerja**

Ruangan laboratorium dibersihkan setiap selesai digunakan yaitu lantai dan meja laboratorium. Bila ada tumpahan dibersihkan

dan dibuang dengan menggunakan pelindung untuk tangan dan muka.

b. Membersihkan timbangan dan ruang timbang

Timbangan harus ditempatkan di ruang khusus yang tertutup sehingga tidak bercampur dengan alat yang lain. Secara teratur setiap kali selesai menimbang maka timbangan dan piringan timbangan harus bersih dari debu dan tumbahan bahan kimia. Pembersihan timbangan menggunakan alat kuas/sikat yang halus.

### **3.3. MENYIMPAN BAHAN KIMIA DAN LARUTAN**

a. Penyimpanan dan inventarisasi bahan kimia

Bahan kimia dikelompokkan menjadi bahan padat, bahan cair, asam kuat dan lainnya. Pengelompokkan tersebut harus disertai dengan inventarisasi dan data masing-masing bahan kimia dan stok serta kartu kendalinya.

b. Menyiapkan larutan dan standarisasinya

Larutan yang disiapkan dikelompokkan menjadi larutan yang tahan dalam beberapa bulan dan yang harus disiapkan setiap saat sebelum digunakan.

Untuk membuat larutan dengan konsentrasi tertentu, perlu dihitung menggunakan rumus yang telah ada. Perhitungan tersebut disajikan pada bab IV.

Larutan yang tidak digunakan lagi atau kadaluarsa serta sisa atau buangan larutan ditampung pada penampung dengan pengelompokan : sisa logam, asam, basa, bahan organik dan lainnya.

### **3.4. PERAWATAN ALAT GLAS**

a. Pengelompokan alat gelas

Alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia dikelompokkan menjadi : (1). Peralatan dasar : gelas piala, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan, pipet, botol pereaksi dll. (2). Peralatan ukur : gelas ukur, pipet ukur, pipet volume, buret, botol

BOD dll. (3). Peralatan analisis : termometer, piknometer, elektroda, dll.

b. Penggunaan alat gelas

Peralatan gelas yang telah digunakan harus dicuci dan dibersihkan. Untuk alat gelas yang terkontaminasi dipisahkan dari alat gelas yang lain, bila perlu dilakukan sanitasi.

Secara periodik dalam melakukan inventarisasi alat gelas perlu pengecekan apakah ada kerusakan (pecah), sehingga bila ada kerusakan maka perlu diadakan perbaikan atau dibuang.

Perlu adanya formulir peminjaman penggunaan alat gelas, sehingga ada kendali keluar masuknya alat gelas dari gudang alat gelas.

## **BAB IV KESELAMATAN DAN KERSEHATAN KERJA DI LABORATORIUM**

Keselamatan dan kesehatan kerja merupakan suatu pemikiran dan upaya untuk menjamin keutuhan dan kesempurnaan baik jasmani maupun rohani. Dengan keselamatan dan kesehatan kerja maka para pekerja diharapkan dapat melakukan pekerjaan dengan aman dan nyaman. Pekerjaan dikatakan aman jika apapun yang dilakukan oleh pekerja tersebut, resiko yang mungkin muncul dapat dihindari. Pekerjaan dikatakan nyaman jika para pekerja yang bersangkutan dapat melakukan dengan merasa nyaman dan betah, sehingga tidak mudah capek

### **4.1. HAL-HAL PENYEBAB KECELAKAAN**

Ada dua hal penyebab terjadinya kecelakaan kerja, yaitu :

a. Terjadi secara kebetulan.

Dianggap sebagai kecelakaan dalam arti asli (*genuine accident*) sifatnya tidak dapat diramalkan dan berada di luar kendali manajemen perusahaan. Misalnya, seorang karyawan tepat berada di depan jendela kaca ketika tiba-tiba seseorang melempar jendela kaca sehingga mengenainya.

b. Kondisi kerja yang tidak aman.

Kondisi kerja yang tidak aman merupakan salah satu penyebab utama terjadinya kecelakaan. Kondisi ini meliputi faktor-faktor sebagai berikut:

- (1). Peralatan yang tidak terlindungi secara benar.
- (2). Peralatan yang rusak.

- (3). Prosedur yang berbahaya dalam, pada, atau di sekitar mesin atau peralatan gudang yang tidak aman (terlalu penuh).
- (4). Cahaya tidak memadai, suram, dan kurang penerangan.
- (5). Ventilasi yang tidak sempurna, pergantian udara tidak cukup, atau sumber udara tidak murni.

Pemilihan terhadap faktor-faktor ini adalah dengan meminimalkan kondisi yang tidak aman, misalnya dengan cara membuat daftar kondisi fisik dan mekanik yang dapat menyebabkan terjadinya kecelakaan. Pembuatan checklist ini akan membantu dalam menemukan masalah yang menjadi penyebab kecelakaan.

#### **4.2. SUMBER-SUMBER KECELAKAAN KERJA**

Faktor-faktor yang besar pengaruhnya terhadap timbulnya bahaya dalam proses industri maupun laboratorium meliputi suhu, tekanan, dan konsentrasi zat-zat pereaksi. Suhu yang tinggi diperlukan dalam rangka menaikkan kecepatan reaksi kimia dalam industri, hanya saja ketahanan alat terhadap suhu harus dipertimbangkan. Tekanan yang tinggi diperlukan untuk mempercepat reaksi, akan tetapi kalau tekanan sistem melampaui batas yang diperkenankan dapat terjadi peledakan. Apalagi jika proses dilakukan pada suhu tinggi dan reaktor tidak kuat lagi menahan beban. Konsentrasi zat pereaksi yang tinggi dapat menyebabkan korosif terhadap reaktor dan dapat mengurangi umur peralatan. Selain itu sifat bahan seperti bahan yang mudah terbakar, mudah meledak, bahan beracun, atau dapat merusak bagian tubuh manusia.

Beberapa sumber bahaya yang berpotensi menimbulkan kecelakaan kerja dapat dikategorikan sebagai berikut:

#### a. Bahan Kimia.

Meliputi bahan mudah terbakar, bersifat racun, korosif, tidak stabil, sangat reaktif, dan gas yang berbahaya. Penggunaan senyawa yang bersifat karsinogenik dalam industri maupun laboratorium merupakan problem yang signifikan, baik karena sifatnya yang berbahaya maupun cara yang ditempuh dalam penanganannya. Beberapa langkah yang harus ditempuh dalam penanganan bahan kimia berbahaya meliputi manajemen, cara pengatasan, penyimpanan dan pelabelan, keselamatan di laboratorium, pengendalian dan pengontrolan tempat kerja, dekontaminasi, disposal, prosedur keadaan darurat, kesehatan pribadi para pekerja, dan pelatihan. Bahan kimia dapat menyebabkan kecelakaan melalui pernafasan (seperti gas beracun), serapan pada kulit (cairan), atau bahkan tertelan melalui mulut untuk padatan dan cairan.

Bahan kimia berbahaya dapat digolongkan ke dalam beberapa kategori yaitu, bahan kimia yang eksplosif (oksidator, logam aktif, hidrida, alkil logam, senyawa tidak stabil secara termodinamika, gas yang mudah terbakar, dan uap yang mudah terbakar). Bahan kimia yang korosif (asam anorganik kuat, asam anorganik lemah, asam organik kuat, asam organik lemah, alkil kuat, pengoksidasi, pelarut organik). Bahan kimia yang merusak paru-paru (asbes), bahan kimia beracun, dan bahan kimia karsinogenik (memicu pertumbuhan sel kanker), dan teratogenik.

#### b. Aliran Listrik

Penggunaan peralatan dengan daya yang besar akan memberikan kemungkinan-kemungkinan untuk terjadinya

kecelakaan kerja. Beberapa faktor yang harus diperhatikan antara lain:

(1). Pemakaian *safety switches* yang dapat memutus arus listrik jika penggunaan melebihi limit/batas yang ditetapkan oleh alat.

(2). Improvisasi terhadap peralatan listrik harus memperhatikan standar keamanan dari peralatan.

(3). Penggunaan peralatan yang sesuai dengan kondisi kerja sangat diperlukan untuk menghindari kecelakaan kerja.

(4) Berhati-hati dengan air. Jangan pernah meninggalkan pekerjaan yang memungkinkan peralatan listrik jatuh atau bersinggungan dengan air. Begitu juga dengan semburan air yang langsung berinteraksi dengan peralatan listrik.

(5). Berhati-hati dalam membangun atau memperbaiki peralatan listrik agar tidak membahayakan pengguna yang lain dengan cara memberikan keterangan tentang spesifikasi peralatan yang telah direparasi.

(6). Pertimbangan bahwa bahan kimia dapat merusak peralatan listrik maupun isolator sebagai pengaman arus listrik. Sifat korosif bahan kimia dapat menyebabkan kerusakan pada komponen listrik.

(7). Perhatikan instalasi listrik jika bekerja pada atmosfer yang mudah meledak. Misalnya pada lemari asam yang digunakan untuk pengendalian gas yang mudah terbakar.

(8). Pengoperasian suhu dari peralatan listrik akan memberikan pengaruh pada bahan isolator listrik. Temperatur sangat rendah menyebabkan isolator akan mudah patah dan rusak. Isolator yang

terbuat dari bahan *polivinil clorida* (PVC) tidak baik digunakan pada suhu di bawah 0 °C. Karet silikon dapat digunakan pada suhu –50 °C. Batas maksimum pengoperasian alat juga penting untuk diperhatikan. Bahan isolator dari *polivinil clorida* dapat digunakan sampai pada suhu 75 °C, sedangkan karet silikon dapat digunakan sampai pada suhu 150 °C.

#### d. Radiasi

Radiasi dapat dikeluarkan dari peralatan semacam Xray difraksi atau radiasi internal yang digunakan oleh material radioaktif yang dapat masuk ke dalam badan manusia melalui pernafasan, atau serapan melalui kulit. Non-ionisasi radiasi seperti ultraviolet, infra merah, frekuensi radio, laser, dan radiasi elektromagnetik dan medan magnet juga harus diperhatikan dan dipertimbangkan sebagai sumber kecelakaan kerja.

#### e. Mekanik.

Walaupun industri dan laboratorium modern lebih didominasi oleh peralatan yang terkontrol oleh komputer, termasuk di dalamnya robot pengangkat benda berat, namun demikian kerja mekanik masih harus dilakukan. Pekerjaan mekanik seperti transportasi bahan baku, penggantian peralatan habis pakai, masih harus dilakukan secara manual, sehingga kesalahan prosedur kerja dapat menyebabkan kecelakaan kerja. Peralatan keselamatan kerja seperti helmet, sarung tangan, sepatu, dan lain-lain perlu mendapatkan perhatian khusus dalam lingkup pekerjaan ini.

f. Api.

Hampir semua laboratorium atau industri menggunakan bahan kimia dalam berbagai variasi penggunaan termasuk proses pembuatan, pemformulaan atau analisis. Cairan mudah terbakar yang sering digunakan dalam laboratorium atau industri adalah hidrokarbon. Bahan mudah terbakar yang lain misalnya pelarut organik seperti aseton, benzen, butanol, etanol, dietil eter, karbon disulfida, toluena, heksana, dan lain-lain. Para pekerja harus berusaha untuk akrab dan mengerti dengan informasi yang terdapat dalam *Material Safety Data Sheets (MSDS)*. Dokumen MSDS memberikan penjelasan tentang tingkat bahaya dari setiap bahan kimia, termasuk di dalamnya tentang kuantitas bahan yang diperkenankan untuk disimpan secara aman.

Sumber api yang lain dapat berasal dari senyawa yang dapat meledak atau tidak stabil. Banyak senyawa kimia yang mudah meledak sendiri atau mudah meledak jika bereaksi dengan senyawa lain. Senyawa yang tidak stabil harus diberi label pada penyimpanannya. Gas bertekanan juga merupakan sumber kecelakaan kerja akibat terbentuknya atmosfer dari gas yang mudah terbakar.

g. Suara (kebisingan).

Sumber kecelakaan kerja yang satu ini pada umumnya terjadi pada hampir semua industri, baik industri kecil, menengah, maupun industri besar. Generator pembangkit listrik, instalasi pendingin, atau mesin pembuat vakum, merupakan sekian contoh dari peralatan yang diperlukan dalam industri. Peralatan-peralatan tersebut berpotensi mengeluarkan suara yang dapat menimbulkan kecelakaan kerja dan gangguan kesehatan kerja. Selain angka

kebisingan yang ditimbulkan oleh mesin, para pekerja harus memperhatikan berapa lama mereka bekerja dalam lingkungan tersebut. Pelindung telinga dari kebisingan juga harus diperhatikan untuk menjamin keselamatan kerja.

### **4.3. PENGENALAN BAHAN BERACUN DAN BERBAHAYA**

a. Petunjuk umum untuk menangani buangan sampah.

Semua bahan buangan atau sampah dikumpulkan menurut jenis bahan tersebut. Bahan-bahan tersebut ada yang dapat didaur ulang dan ada pula yang tidak dapat didaur ulang. Bahan yang termasuk kelompok bahan buangan/sampah yang dapat didaur ulang antara lain gelas, kaleng, botol baterai, sisa-sisa konstruksi bangunan, sampah biologi seperti tanaman, buah-buahan, kantong dan beberapa jenis bahan-bahan kimia. Sedangkan bahan-bahan buangan yang tidak dapat didaur ulang atau yang sukar didaur ulang seperti plastik hendaknya dihancurkan. Karena belum ada aturan yang jelas dalam cara pembuangan jenis sampah di Indonesia, maka sebelum sampah dibuang harus berkonsultasi terlebih dahulu dengan pengurus atau pengelola laboratorium yang bersangkutan.

b. Bahan-bahan buangan yang umum terdapat di laboratorium.

(1). Fine chemicals.

Fine chemicals hanya dapat dibuang ke saluran pembuangan atau tempat sampah jika:

- Tidak bereaksi dengan air.
- Tidak eksplosif (mudah meledak).

- Tidak bersifat radioaktif.
- Tidak beracun.
- Komposisinya diketahui jelas.

(2) Larutan basa.

Hanya larutan basa dari alkali hidroksida yang bebas sianida, amoniak, senyawa organik, minyak dan lemak dapat dibuang ke saluran pembuangan. Sebelum dibuang larutan basa itu harus dinetralkan terlebih dahulu. Proses penetralan dilakukan pada tempat yang disediakan dan dilakukan menurut prosedur mutu laboratorium.

(3). Larutan asam.

Seperti juga larutan basa, larutan asam tidak boleh mengandung senyawa-senyawa beracun dan berbahaya dan selain itu sebelum dibuang juga harus dinetralkan pada tempat dan prosedur sesuai ketentuan laboratorium.

(4). Pelarut.

Pelarut yang tidak dapat digunakan lagi dapat dibuang ke saluran pembuangan jika tidak mengandung halogen (bebas fluor, klorida, bromida, dan iodida). Jika diperlukan dapat dinetralkan terlebih dahulu sebelum dibuang ke saluran air keluar. Untuk pelarut yang mengandung halogen seperti kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) sebelum dibuang harus dilakukan konsultasi terlebih dahulu dengan pengurus atau pengelola laboratorium tempat dimana bahan tersebut akan dibuang.

(5). Bahan mengandung merkuri.

Untuk bahan yang mengandung merkuri (seperti pecahan termometer merkuri, manometer, pompa merkuri, dan sebagainya) pembuangan harus ekstra hati-hati. Perlu dilakukan konsultasi terlebih dahulu dengan pengelola laboratorium sebelum bahan tersebut dibuang.

(6). Bahan radiokatif.

Sampah radioaktif memerlukan penanganan yang khusus. Otoritas yang berwenang dalam pengelolaan sampah radioaktif di Indonesia adalah Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN).

(7). Air pembilas.

Air pembilas harus bebas merkuri, sianida, amoniak, minyak, lemak, dan bahan beracun serta bahan berbahaya lainnya sebelum dibuang ke saluran pembuangan keluar.

### c. Penanganan Kebakaran

Beberapa bahan kimia seperti eter, metanol, kloroform, dan lain-lain bersifat mudah terbakar dan mudah meledak. Apabila karena sesuatu kelalaian terjadi kecelakaan sehingga mengakibatkan kebakaran laboratorium atau bahan-bahan kimia, maka kita harus melakukan usaha-usaha sebagai berikut:

(1). Jika apinya kecil, maka lakukan pemadaman dengan Alat Pemadam Api Ringan (APAR).

(2). Matikan sumber listrik/gardu utama agar listrik tidak mengganggu upaya pemadaman kebakaran.

(3). Lokalisasi api supaya tidak merembar ke arah bahan mudah terbakar lainnya.

(4). Jika api mulai membesar, jangan mencoba-coba untuk memadamkan api dengan APAR. Segera panggil mobil unit Pertolongan Bahaya Kebakaran (PBK) yang terdekat.

(5). Bersikaplah tenang dalam menangani kebakaran, dan jangan mengambil tindakan yang membahayakan diri sendiri maupun orang lain.

#### **4.4. TEKNIK PERCOBAAN BERBAHAYA**

Percobaan-percobaan dalam laboratorium dapat meliputi berbagai jenis pekerjaan diantaranya mereaksikan bahan-bahan kimia, destilasi, ekstraksi, memasang peralatan, dan sebagainya. Masing-masing teknik dapat mengandung resiko yang berbeda antara satu dengan yang lainnya. Tentu saja bahan tersebut sangat berkaitan dengan penggunaan bahan dalam percobaan, sehingga susah untuk memisahkan bahaya antara teknik dan bahan. Walaupun demikian kita dapat memperkecil dan memperkirakan bahaya yang dapat timbul dalam kaitannya dengan teknik dan bahan yang digunakan.

##### **a. Reaksi Kimia**

Semua reaksi kimia menyangkut perubahan energi yang diwujudkan dalam bentuk panas. Kebanyakan reaksi kimia disertai dengan pelepasan panas (reaksi eksotermis), meskipun adapula beberapa reaksi kimia yang menyerap panas (reaksi endotermis). Bahaya dari suatu reaksi kimia terutama adalah karena proses pelepasan energi (panas) yang demikian banyak dan dengan

kecepatan yang sangat tinggi, sehingga tidak terkendali dan bersifat destruktif (merusak) terhadap lingkungan.

Banyak kejadian dan kecelakaan di dalam laboratorium sebagai akibat reaksi kimia yang hebat atau eksplosif (bersifat ledakan). Namun kecelakaan tersebut pada hakikatnya disebabkan oleh kurangnya pengertian atau apresiasi terhadap faktor-faktor kimia-fisika yang mempengaruhi kecepatan reaksi kimia. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan suatu reaksi kimia adalah konsentrasi pereaksi, kenaikan suhu reaksi, dan adanya katalis.

Sesuai dengan hukum aksi massa, kecepatan reaksi bergantung pada konsentrasi zat pereaksi. Oleh karena itu, untuk percobaan-percobaan yang belum dikenal bahayanya, tidak dilakukan dengan konsentrasi pekat, melainkan konsentrasi pereaksi kira-kira 10% saja. Kalau reaksi telah dikenal bahayanya, maka konsentrasi pereaksi cukup 2 – 5 % saja sudah memadai. Suatu contoh, apabila amonia pekat direaksikan dengan dimetil sulfat, maka reaksi akan bersifat eksplosif, akan tetapi tidak demikian apabila digunakan amonia encer.

Pengaruh suhu terhadap kecepatan reaksi kimia dapat diperkirakan dengan persamaan Arrhenius, dimana kecepatan reaksi bertambah secara eksponensial dengan bertambahnya suhu. Secara kasar apabila suhu naik sebesar  $10^{\circ}\text{C}$ , maka kecepatan reaksi akan naik menjadi dua kali. Atau apabila suhu reaksi mendadak naik  $100^{\circ}\text{C}$ , ini berarti bahwa kecepatan reaksi mendadak naik berlipat  $2^{10} = 1024$  kali. Di sinilah pentingnya untuk melakukan kendali terhadap suhu reaksi, misalnya dengan pendinginan apabila reaksi bersifat eksotermis. Suatu contoh asam meta-nitrobenzen sulfonat pada suhu sekitar  $150^{\circ}\text{C}$  akan meledak akibat reaksi

penguraian eksotermis. Campuran kalium klorat, karbon, dan belerang menjadi eksplosif pada suhu tinggi atau jika kena tumbukan, pengadukan, atau gesekan (pemanasan pelarut). Dengan mengetahui pengaruh kedua faktor di atas maka secara umum dapat dilakukan pencegahan dan pengendalian terhadap reaksi-reaksi kimia yang mungkin bersifat eksplosif.

#### **b. Pemanasan.**

Pemanasan dapat dilakukan dengan listrik, gas, dan uap. Untuk laboratorium yang jauh dari sarana tersebut, kadang kala dipakai pula pemanas kompor biasa. Pemanasan tersebut biasanya digunakan untuk mempercepat reaksi, pelarutan, destilasi, maupun ekstraksi.

Untuk pemanasan pelarut-pelarut organik (titik didih di bawah  $100^{\circ}\text{C}$ ), seperti eter, metanol, alkohol, benzena, heksana, dan sebagainya, maka penggunaan penangas air adalah cara termurah dan aman. Pemanasan dengan api terbuka, meskipun dengan api sekecil apapun, akan sangat berbahaya karena api tersebut dapat menyambar ke arah uap pelarut organik. Demikian juga pemanasan dengan *hot plate* juga berbahaya, karena suhu permukaan dapat jauh melebihi titik nyala pelarut organik.

Pemanasan pelarut yang bertitik didih lebih dari  $100^{\circ}\text{C}$ , dapat dilakukan dengan aman apabila memakai labu gelas borosilikat dan pemanas listrik (*heating mantle*). Pemanas tersebut ukurannya harus sesuai besarnya labu gelas. Penangas minyak dapat pula dipakai meskipun agak kurang praktis. Walaupun demikian penangas pasir yang dipanaskan dengan terbuka, tetap berbahaya untuk bahan-bahan yang mudah terbakar. Untuk keperluan pendidikan, pemanas bunsen dengan dilengkapi anyaman kawat

(*wire gauze*) cukup murah dan memadai untuk bahan-bahan yang tidak mudah terbakar.

### **c. Destruksi.**

Dalam analisis kimia terutama untuk mineral, tanah, atau makanan, diperlukan destruksi contoh agar komponen-komponen yang akan dianalisis terlepas dari matriks (senyawa-senyawa lain). Biasanya reaksi destruksi dilakukan dengan asam seperti asam sulfat pekat, asam nitrat, asam klorida tanpa atau ditambah atau ditambah peroksida seperti persulfat, perklorat, hidrogen peroksida, dan sebagainya. Selain itu, biasanya reaksi juga harus dipanaskan untuk mempermudah proses destruksi. Jelas dalam pekerjaan destruksi terkumpul beberapa faktor bahaya sekaligus, yaitu bahan berbahaya (eksplosif) dan kondisi suhu tinggi yang menambah tingkat bahaya.

Oleh karena itu, destruksi harus dilakukan amat berhati-hati, diantaranya:

- Pelajari dan ikuti prosedur kerja secara seksama, termasuk pengukuran jumlah reagen secara tepat dan cara pemanasannya.
- Percobaan dilakukan dalam almari asam. Hati-hati dalam membuka dan menutup pintu almari asam pada saat proses destruksi berlangsung.
- Lindungi diri dengan kaca mata/pelindung muka dan sarung tangan pada setiap kali bekerja.
- Terutama bagi para pekerja baru atau yang belum berpengalaman, diperlukan supervisi atau konsultasi dengan yang lebih berpengalaman.

Dengan cara di atas akan dapat dicegah terjadinya ledakan yang dapat mengakibatkan luka oleh pecahan kaca atau percikan bahan-bahan kimia yang panas dan korosif.

#### **d. Destilasi.**

Destilasi merupakan proses gabungan antara pemanasan dan pendinginan uap yang terbentuk sehingga diperoleh cairan kembali yang murni. Bahaya pemanasan cairan dapat dihindari dengan memperhatikan sub-bab pemanasan. Dalam pemanasan cairan biasanya ditambahkan batu didih (*boiling chips*), untuk mencegah pendidihan yang mendadak (*bumping*). Batu didih yang berpori perlu diganti setiap kali akan melakukan destilasi kembali. Untuk destilasi hampa udara (*vacuum distillation*), aliran udara melalui kapiler ke dalam bagian bawah labu merupakan pengganti batu didih.

Bahaya yang sering timbul dalam pendingin Leibig adalah kurang kuatnya selang air baik dari keran maupun yang menuju pipa pendingin. Lepasnya selang air dapat menyebabkan banjir dan proses pendinginan tidak berjalan dan uap cairan berhamburan ke dalam ruangan laboratorium. Oleh karena itu, terutama untuk destilasi yang terus-menerus atau sering ditinggalkan, hubungan selang dengan keran dan pipa pendingin perlu diikat dengan kawat.

Labu didih yang terbuat dari gelas perlu dipilih yang kuat. Labu didih bekas atau yang telah lama dipakai, diperiksa terlebih dahulu terhadap kemungkinan adanya keretakan atau *scratch*. Hal ini penting terlebih-lebih untuk destilasi vakum. Apabila pemanasan yang dipakai adalah penangas air, maka perlu diingat bahwa suhu permukaan bak penangas yang terbuat dari logam, dapat melebihi titik nyala dari pelarut yang dalam labu. Dengan demikian, harus dapat dihindarkan kontak antara cairan dengan permukaan

penangas, baik pada saat mengisi labu destilasi dengan cairan maupun pemasangan atau pembongkaran peralatan destilasi.

#### **f. Refluks.**

Refluks juga merupakan gabungan antara pemanasan cairan dan pendinginan uap, tetapi kondensat yang terbentuk dikembalikan ke dalam labu didih. Karena prosesnya mirip dengan destilasi, maka bahaya teknik tersebut serta cara pencegahannya adalah sama dengan teknik destilasi.

#### **g. Pengukuran Volume Cairan**

Memipet cairan atau larutan dalam volume tertentu dengan pipet secara umum tidak diperkenankan memakai mulut untuk menghindari bahaya tertelan dan kontaminasi. Uap dan gas beracun dapat larut dalam air ludah (*saliva*). Memakai pompa karet (*rubber bulb*) untuk mengisi pipet merupakan cara yang paling aman dan praktis, meskipun memerlukan sedikit latihan. Sedangkan untuk cairan yang korosif dapat dilakukan dengan pipet isap (*hypodermic syringe*).

Apabila menuangkan cairan korosif dari sebuah botol, lindungi label botol terhadap kerusakan oleh tetesan cairan. Untuk menuangkan cairan ke dalam gelas ukur bermulut kecil, perlu dipakai corong gelas agar tidak tumpah.

#### **h. Pendinginan.**

Karbon dioksida padat (*dry ice*) dan nitrogen cair adalah pendingin yang sering dipakai. Keduanya dapat membakar atau “menggigit” kulit, sehingga dalam penanganannya harus memakai sarung tangan dan pelindung mata. Karbon dioksida dapat dipakai

bersama-sama dengan pelarut organik untuk menambah pendinginan. Karena banyak terbentuk gas (penguapan) maka pelarut yang digunakan harus nontoksik dan tidak mudah terbakar. Propana-2-ol lebih baik daripada pelarut organik terklorisasi atau aseton yang mudah terbakar.

Nitrogen cair biasa dipakai sebagai “trap” uap air dalam destilasi vakum, agar air tidak merusak pompa. Dalam pendinginan tersebut udara dapat pula tersublimasi menjadi padat, termasuk oksigen dan hal ini berbahaya bila bercampur dengan bahan organik. Labu Dewar tempat nitrogen cair perlu pula dilindungi dengan logam agar tidak berbahaya bila pecah.

Baik karbon dioksida maupun nitrogen mempunyai berat jenis yang lebih berat daripada udara, sehingga dapat mendesak udara untuk pernafasan. Oleh karena itu, bekerja dengan kedua pendingin tersebut perlu dalam ruang yang berventilasi baik atau di ruang terbuka. Dalam transportasi di gedung bertingkat, keduanya sama sekali tidak boleh diangkut melewati lift penumpang. Kemacetan lift yang dapat terjadi sewaktu-waktu, dapat berakibat fatal karena gas tersebut akan mendesak oksigen dan kematian tidak dapat dihindarkan.

#### **i. Perlakuan Terhadap Silika.**

Silika dalam bentuk partikel-partikel kecil yang terserap ke dalam paru-paru dapat menimbulkan penyakit silikosis. Percobaan-percobaan dalam kromatografi lapis tipis, banyak memakai bubuk halus silika gel. Hindarkanlah bubuk halus tersebut, karena dapat terjadi hamburan di dalam ruang udara pernafasan kita.

Asbes juga merupakan sumber partikel silika dan dengan panjang serat sebesar 5 mikron sangat berbahaya. Asbes sebagai bahan isolasi panas dalam laboratorium perlu dilapisi lagi dengan bahan yang dapat mencegah partikel halus beterbangan di udara tempat kita bernafas.

*Glass wool* apabila tidak hancur, tidaklah berbahaya bagi paru-paru. Akan tetapi serat-serat *glass wool* tersebut sangat halus dan tajam serta dapat masuk ke dalam kulit apabila dipegang langsung oleh tangan kita. Ini akan menimbulkan gatal-gatal atau sakit dan oleh karena itu memegang *glass wool* harus dengan penjepit dari logam atau plastik.

#### **j. Perlakuan Terhadap Air Raksa.**

Percobaan-percobaan dengan manometer atau polarografi selalu memakai air raksa yang cukup berbahaya karena sifat racunnya ( $NAB = 0,05 \text{ mg/m}^3$ ). Tetesan-tetesan air raksa dapat melenting atau meloncat tanpa dapat dilihat oleh mata kita, dan pecah berhamburan di atas meja kerja. Partikel-partikel kecil ini juga sukar kita lihat apalagi kalau sampai masuk ke celah-celah atau retakan-retakan meja. Apabila tidak hati-hati, maka ruang di mana kita bekerja dapat jenuh dengan uap air raksa. Udara ruangan yang jenuh dengan uap air raksa berarti telah jauh melebihi nilai ambang batas (NAB) uap air raksa tersebut.

Untuk menghindari bahaya tersebut di atas, daerah kerja dengan air raksa perlu dipasang dulang (*tray*) yang diisi air, agar percikan air raksa dapat dikumpulkan. Ventilasi yang baik sangat diperlukan, dan apabila tidak ada, maka bekerja dalam ruangan yang terbuka jauh lebih aman daripada dalam ruangan tertutup.

#### **k. Bekerja Dengan Peralatan Sinar Ultraviolet dan Sinar X.**

Banyak pekerjaan yang dilakukan dengan peralatan yang memancarkan cahaya ultraviolet (UV) seperti spektrofotometer atau kromatografi lapis tipis (TLC). Cahaya ultraviolet dapat merusak, dan terutama kerusakan pada kornea mata. Oleh karena itu, harus dapat dihindarkan keterpaan cahaya ultraviolet pada mata, baik pada saat membuka peralatan spektrofotometer maupun pada saat menyinari noda-noda kromatografi lapis tipis (TLC) dengan cahaya ultraviolet.

Peralatan yang memakai sinar-X, seperti fluoresensi atau difraksi sinar-X, lebih berbahaya lagi bila tidak dilakukan dengan hati-hati. Sinar-X mempunyai daya tembus yang kuat dan dapat merusak sel-sel tubuh. Usaha untuk menghindari serta melindungi diri terhadap kemungkinan keterpaan radiasi sinar-X (yang tak dapat dilihat oleh mata) merupakan suatu keharusan dalam bekerja dengan peralatan tersebut. Untuk hal yang sama pula dilakukan bila kita bekerja dengan peralatan yang memancarkan sinar gamma yang lebih kuat dari pada sinar-X.

# BAB V

## TITRASI (VOLUMETRI)

### 5.1. PRINSIP TITRASI

Titration or also called volumetry is a chemical analysis method that is fast, accurate and often used to determine the concentration of a substance in a solution. Titration is based on a reaction that can be described as follows:



dimana : **A** adalah penitrasi (titran), **B** senyawa yang dititrasi,  
**a** dan **b** jumlah mol dari **A** dan **B**.

Volumetry (titration) is done by adding (preparing) a certain volume (usually from a buret) of a standard solution (which is already known its concentration with certainty) that is needed to react completely with a solution whose concentration is unknown. To know that the reaction has gone to completion, an indicator solution is added to the solution being titrated.

Standard solution is called titrant. If the volume of standard solution is known from an experiment then the concentration of the substance in the solution that is unknown can be calculated with the following equation:

$$N_B = \frac{V_A \times N_A}{V_B}$$

Dimana :  $N_B$  = konsentrasi larutan yang belum diketahui konsentrasinya

$V_B$  = volume larutan yang belum diketahui konsentrasinya

$N_A$  = konsentrasi larutan yang telah diketahui konsentrasinya (larutan standar)

$V_A$  = volume larutan yang telah diketahui konsentrasinya (larutan standar)

Dalam melakukan titrasi diperlukan beberapa persyaratan yang harus diperhatikan, seperti ;

- a. Reaksi harus berlangsung secara stoikiometri dan tidak terjadi reaksi samping.
- b. Reaksi harus berlangsung secara cepat.
- c. Reaksi harus kuantitatif
- d. Pada titik ekuivalen, reaksi harus dapat diketahui titik akhirnya dengan tajam (jelas perubahannya).
- e. Harus ada indikator, baik langsung atau tidak langsung.

Berdasarkan jenis reaksinya, maka titrasi dikelompokkan menjadi empat macam titrasi yaitu :

- a. Titrasi asam basa
- b. Titrasi pengendapan
- c. Titrasi kompleksometri
- d. Titrasi oksidasi reduksi

Tahap pertama yang harus dilakukan sebelum melakukan titrasi adalah pembuatan larutan standar. Suatu larutan dapat digunakan sebagai larutan standar bila memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- mempunyai kemurnian yang tinggi
- mempunyai rumus molekul yang pasti
- tidak bersifat higroskopis dan mudah ditimbang
- larutannya harus bersifat stabil
- mempunyai berat ekuivalen (BE) yang tinggi

Suatu larutan yang memenuhi persyaratan tersebut di atas disebut larutan standar primer. Sedang larutan standar sekunder adalah larutan standar yang bila akan digunakan untuk standardisasi harus distandardisasi lebih dahulu dengan larutan standar primer.

## 5.2. KONSENTRASI LARUTAN

Ada beberapa cara dalam menyatakan konsentrasi suatu larutan, yaitu sebagai berikut :

MOLARITAS (M) : adalah banyaknya mol zat yang terlarut dalam 1000 mL larutan.

NORMALITAS (N) : adalah banyaknya gram ekuivalen zat yang terlarut dalam 1000 mL larutan.

MOLALITAS (m) : adalah banyaknya mol zat yang terlarut dalam 1000 mg pelarut.

Persen berat adalah 
$$\frac{\text{Berat zat terlarut}}{\text{Berat larutan}} \times 100\%$$

Persen volume adalah 
$$\frac{\text{Volume zat terlarut}}{\text{Volume larutan}} \times 100\%$$

Normalitas (N) ditentukan oleh banyaknya gram ekuivalen zat terlarut dalam 1000 ml larutan. Berat ekuivalen (BE) dapat ditentukan berdasarkan jenis reaksi, sebagai berikut :

- Reaksi asam basa (netralisasi)
- Reaksi pengendapan
- Reaksi pembentukan senyawa kompleks
- Reaksi oksidasi reduksi

Dalam *reaksi netralisasi*, setiap senyawa akan melepaskan atau menerima atom hidrogen. Jadi berat ekuivalen (BE) berdasarkan reaksi netralisasi (asam basa) dapat ditentukan sebagai berikut :

$$BE = \frac{\text{Masa molekul relatif (Mr)}}{\text{Banyaknya atom H yang dilepas atau diterima}}$$

Berat ekuivalen suatu senyawa dalam *reaksi pengendapan* dan *pengomplekan* ditentukan oleh valensi dari senyawa tersebut.

$$BE = \frac{\text{Masa molekul relatif (Mr)}}{\text{Valensi senyawa tsb.}}$$

Berat ekuivalen (BE) dalam *reaksi oksidasi reduksi* didasarkan pada banyaknya elektron yang dilepaskan atau dikat dalam suatu reaksi oksidasi atau reduksi.

$$BE = \frac{\text{Masa molekul relatif (Mr)}}{\text{Banyaknya elektron yang dilepas atau diikat}}$$

Contoh perhitungan Berat Ekuivalen :

1. Reaksi asam basa :
  - BE HCl = Mr HCl
  - BE H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = ½ Mr H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
  - BE NaOH = Mr NaOH
2. Reaksi pengendapan :
  - BE AgNO<sub>3</sub> = Mr AgNO<sub>3</sub>
  - BE NaCl = Mr NaCl
3. Reaksi oksidasi (dalam suasana asam) :
  - BE KMnO<sub>4</sub> = 1/5 Mr KMnO<sub>4</sub>
  - BE K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 1/6 Mr K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Contoh Perhitungan :

1. Berapa normalitas (N) dari HCl pekat yang mempunyai BJ = 1,1878 dan konsentrasinya 37% (Mr = 36,5)

Jawab :

- BJ = 1,1878 gram

berarti di dalam 1 Liter larutan terdapat 1187,8 gram

- Konsentrasi 37%

berarti terdapat =  $\frac{37}{100} \times 1187,8 \text{ gram} = 439,486 \text{ gram}$

Jadi Normalitas (N) HCl tersebut =  $\frac{\text{berat yang terkandung}}{\text{berat ekuivalennya}}$

$$= \frac{439,486}{36,5} = 12,04$$

Secara langsung dapat dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Normalitas (N) HCl} &= \frac{1000 \times \text{BJ} \times \text{C}}{\text{BE} \times 100} \\ &= \frac{1000 \times 1,1878 \times 37}{36,5 \times 100} \\ &= 12,04 \text{ N} \end{aligned}$$

2. Berapa Normalitas (N)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dengan BJ = 1,19 dan konsentrasinya 98% (Mr=98).

Jawab :

- BJ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  = 1,19

Berarti dalam 1 Liter larutan terdapat 1190 gram

- Konsentrasi 98 %

98

Berarti terdapat =  $\frac{98}{100} \times 1190 \text{ gram} = 1160,20 \text{ gram}$

$$\text{Jadi Normalitas } \text{H}_2\text{SO}_4 = \frac{1160}{\frac{1}{2} \times 98} = 23,8 \text{ N}$$

Secara langsung dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{Normalitas } \text{H}_2\text{SO}_4 = \frac{1000 \times 1,19 \times 98}{\frac{1}{2} \times 98 \times 100} = 23,8 \text{ N}$$

3. Jadi untuk membuat larutan HCl 0,1 N sebanyak 1000 mL yang dibuat dari HCl pekat dengan konsentrasi 37% dan BJ 1,1878 yang mempunyai normalitas 12,04 (hasil perhitungan nomor 1). Maka HCl pekat tersebut yang dibutuhkan dapat dihitung dengan rumus :

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

$$1000 \times 0,1 = V_2 \times 12,04$$

$$V_2 = \frac{1000 \times 0,1}{12,04} = 8,3 \text{ mL}$$

Jadi HCl pekat yang dibutuhkan adalah 8,3 mL

4. Untuk membuat larutan dengan bahan yang digunakan dalam bentuk padatan, maka banyaknya bahan yang dibutuhkan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\text{masa yang terkandung (mg)}}{BE_{\text{bahan}}} = N \times V$$

Contoh :

Untuk membuat larutan  $\text{AgNO}_3$  0,1 N sebanyak 500 mL, maka  $\text{AgNO}_3$  padatan yang dibutuhkan dapat dihitung sebagai berikut :

$$\frac{\text{masa AgNO}_3}{BE_{\text{AgNO}_3}} = V \times N$$

$$\frac{\text{masa AgNO}_3}{BM_{\text{AgNO}_3}} = 500 \times 0,1$$

$$\frac{\text{masa AgNO}_3}{180} = 500 \times 0,1$$

$$\begin{aligned} \text{mg AgNO}_3 &= 500 \times 0,1 \times 180 \\ &= 9,000 \text{ mg} \\ &= 9 \text{ gram} \end{aligned}$$

Jadi  $\text{AgNO}_3$  yang dibutuhkan sebanyak 9 gram

5. Untuk membuat larutan NaCl 10% sebanyak 500 mL, maka bahan padatan NaCl yang dibutuhkan adalah 50 gram NaCl dilarutkan sampai dengan 500 mL.
  
6. Untuk membuat larutan NaCl 100 ppm maka dilarutkan sebanyak 100 mg kedalam 1 Liter larutan.

Cara menghitung :

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= 100 \text{ gram}/10^6 \text{ gram} \\ &= 100 \text{ gram}/10^3 \text{ kg} \\ &= 100.000 \text{ mg} /10^3 \text{ kg} \\ &= 100 \text{ mg}/ 1 \text{ kg} \\ &\sim 100 \text{ mg}/ 1 \text{ Liter} \end{aligned}$$

## BAB VI

### TITRASI ASAM BASA

#### 6.1. PRINSIP TITRASI ASAM BASA

Titration asam basa melibatkan reaksi antara asam dengan basa, sehingga akan terjadi perubahan pH larutan yang dititrasi. Secara percobaan, perubahan pH dapat diikuti dengan mengukur pH larutan yang dititrasi dengan elektrode pada pH meter.

Reaksi antara asam dan basa, dapat berupa asam kuat atau lemah dengan basa kuat atau lemah, meliputi berikut ini ;

**Tabel 6.1. Harga pH titik ekuivalen titrasi asam basa**

Jenis Asam	Jenis Basa	pH titik ekuivalen ( TE )
Asam kuat Contoh : HCl	Basa kuat Contoh : NaOH	= 7 (netral)
Asam kuat Contoh : HCl	Basa lemah Contoh : $\text{NH}_4\text{OH}$	< 7 (asam)
Asam lemah Contoh : $\text{CH}_3\text{COOH}$	Basa kuat Contoh : NaOH	> 7 (basa)
Asam lemah Contoh : $\text{CH}_3\text{COOH}$	Basa lemah Contoh : $\text{NH}_4\text{OH}$	Tergantung pd harga $K_a$ asam-lemah dan $K_b$ basa lemahnya. Bila $K_a > K_b$ maka pH TE < 7, bila $K_a < K_b$ maka pH TE > 7, bila $K_a = K_b$ maka pH TE = 7

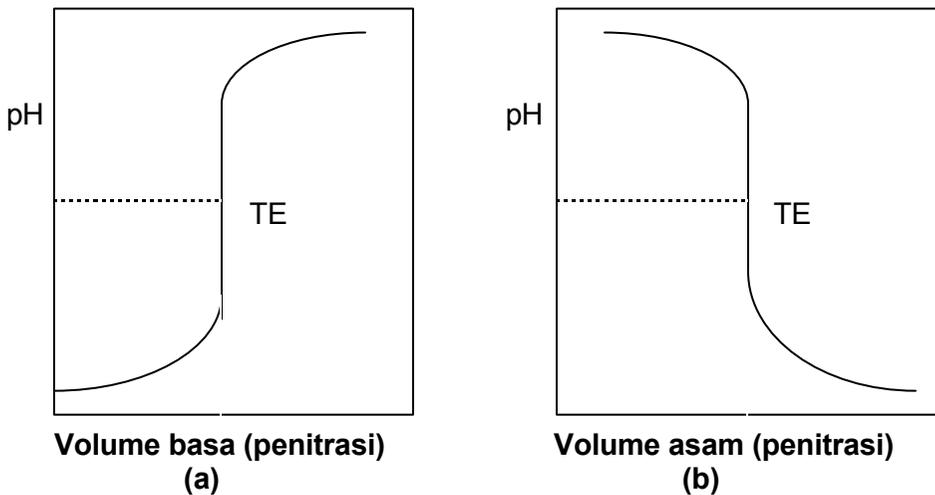
Dari pH titik ekuivalen tersebut dapat dipilih indikator untuk titrasi asam basa yang mempunyai harga kisaran pH tertentu.

#### 6.2. KURVA TITRASI ASAM BASA

Pada titrasi asam dengan basa, maka kurva titrasinya merupakan hubungan antara volume basa sebagai penitrasi (sumbu X) dengan pH (sumbu Y) seperti pada Gambar 6.1a, dengan

bertambahnya basa sebagai penitrasi maka pH larutan yang dititrasi akan meningkat.

Sedangkan pada titrasi basa dengan asam, maka kurva titrasinya merupakan hubungan antara volume asam sebagai penitrasi (sumbu X) dengan pH (sumbu Y) seperti pada Gambar 6.1b, dengan bertambahnya asam sebagai penitrasi maka pH larutan yang dititrasi akan menurun.



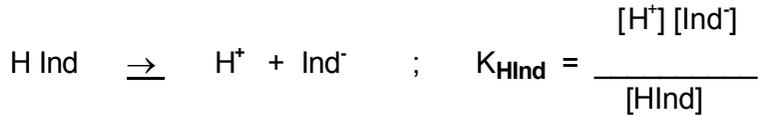
**Gambar 6.1. Kurva titrasi asam kuat dengan basa kuat (a) dan kurva titrasi basa kuat dengan asam kuat (b)**

### 6.3. INDIKATOR ASAM BASA

Indikator asam basa merupakan asam organik lemah dan basa organik lemah yang mempunyai dua warna dalam pH larutan yang berbeda. Pada titrasi asam dengan basa, maka indikator yang digunakan adalah asam kedua yang merupakan asam yang lebih lemah dan konsentrasi indikator berada pada tingkat kecil.

Pada titrasi asam dengan basa, indikator (asam lemah) akan bereaksi dengan basa sebagai penitrasi setelah semua asam dititrasi (bereaksi) dengan basa sebagai penitrasi.

Sebagai contoh indikator asam (lemah), HInd, karena sebagai asam lemah maka reaksi ionisasinya adalah sebagai berikut :



Indikator asam basa sebagai HInd mempunyai warna tertentu dan akan berubah bentuk menjadi Ind<sup>-</sup> setelah bereaksi dengan basa sebagai penitiasi yang juga akan berubah warna.

Beberapa indikator asam basa disajikan pada Tabel 6.1, pada tabel tersebut setiap indikator mempunyai harga kisaran pH dan perubahan warna dalam bentuk asam (HInd) dan basa (Ind<sup>-</sup>).

**Tabel 6.1. Kisaran harga pH indikator asam basa dan perubahan warnanya (Fritz dan Schenk, 1979).**

Indikator	pH 0 - 2	pH 2 - 4	pH 4 - 6	pH 6 - 8	pH 8 - 10	pH 10-12	pH 12-14
Crystal violet kuning		Biru					
Cresol red	me- rah	Kuning					
Thymol blue	me- rah	ku- ning					
Bromophenol blue	kuning		biru				
Methyl orange		me- rah	ku- ning				
Methyl red		merah		kuning			
Bromothymol blue			kuning		biru		
Cresol yellow				ku- ning	me- rah		
Phenolphthalein				tdkber warna		merah	
Thymolphthalein					tdkber warna	biru	
Alizarin yellow R					kuning		merah

Jadi indikator yang dipilih untuk titrasi asam basa, adalah indikator yang mempunyai kisaran harga pH yang berada pada sekitar harga pH titik ekuivalen.

#### 6.4. BEBERAPA PROSEDUR TITRASI ASAM BASA

##### a. STANDARDISASI LARUTAN HCl DENGAN LARUTAN STANDARD Natrium tetraborat atau Boraks ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) 0,1000 N.

Tujuan :

Menstandarisasi larutan HCl (yang sudah disiapkan) dengan larutan standar Natrium tetraborat atau Boraks 0,1000 N.

Prinsip :

Larutan HCl sebagai larutan asam dapat distandarisasi dengan larutan Boraks yang merupakan garam berbasas dua ( $\text{BE} = \frac{1}{2} \text{Mr}$ ).

Cara Kerja :

- Siapkan larutan standar Boraks 0,1000 N dengan cara melarutkan 10,645 gram Boraks dengan aquades di dalam labu ukur 1000 mL.
- Siapkan larutan HCl 0,1N dengan cara melarutkan 8-9 mL HCl pekat dengan aquades di dalam labu ukur 1000 mL.
- Dipipet 25,00 mL larutan Boraks dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 2-3 tetes indikator metil merah.
- Titrasi dengan larutan HCl tersebut (yang sudah diisi ke dalam buret) sampai titik akhir (terjadi perubahan warna).
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung normalitas larutan HCl dengan persamaan :

$$N_{\text{HCl}} = \frac{V_{\text{Boraks}} \times N_{\text{Boraks}}}{V_{\text{HCl}}}$$

b. STANDARDISASI LARUTAN NaOH DENGAN LARUTAN HCl.

Tujuan :

Menstandarisasi larutan NaOH dengan larutan HCl yang telah distandarisasi.

Prinsip :

Larutan HCl yang telah distandarisasi misalnya dengan Boraks dapat digunakan untuk menstandarisasi larutan NaOH.



Cara Kerja :

- Siapkan larutan NaOH 0,1 N dengan cara 50 gram NaOH ditambah aquades 50 mL didalam beaker glass, biarkan beberapa lama sampai jernih. Setelah jernih ambil 6,5 mL dan encerkan dengan aquades sampai 1000 ml dalam labu ukur.
- Ambil 25,00 mL larutan NaOH diatas dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 2-3 tetes indikator metil orange.
- Titrasi dengan larutan HCl yang telah distandarisasi dengan larutan Boraks, sampai titik akhir titrasi (terjadi perubahan warna).
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung normalitas NaOH dengan persamaan :

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}}}{V_{\text{NaOH}}}$$

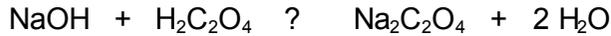
c. STANDARDISASI LARUTAN NaOH DENGAN LARUTAN ASAM OKSALAT

Tujuan :

Menstandarisasi larutan NaOH dengan larutan standar asam oksalat.

Prinsip :

Larutan NaOH dapat distandardisasi dengan larutan standar asam oksalat dengan BE =  $\frac{1}{2}$  Mr.



Cara kerja :

- Siapkan larutan NaOH 0,1 N dengan cara seperti pada standarisasi NaOH dengan HCl.
- Siapkan larutan standar asam oksalat 0,1000 N dengan cara melarutkan sekitar 12-13 gram asam oksalat ( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dengan aquades sampai 1000 mL dalam labu ukur.
- Diambil 25,00 mL larutan asam oksalat 0,1000 N dengan pipet volume, tuangkan kedalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 2-3 tetes indikator fenolftalin (pp).
- Titrasi dengan larutan NaOH yang sudah disiapkan sampai titik akhir titrasi (terjadi perubahan warna).
- Percobaan dilakukan 3 kali
- Hitung normalitas NaOH dengan persamaan :

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{N_{\text{As.oksalat}} \times N_{\text{As.oksalat}}}{V_{\text{NaOH}}}$$

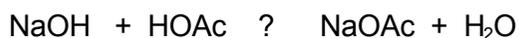
#### d. PENENTUAN KADAR ASAM ASETAT DALAM CUKA MAKAN

Tujuan :

Menentukan kadar asam asetat dalam cuka makan dengan cara menstandarisasi larutan cuka dengan larutan standar NaOH.

Prinsip :

Asam asetat sebagai larutan berasam satu dapat distandardisasi dengan larutan NaOH (BE asam asetat = Mr asam asetat)



Cara Kerja :

- Ambil 10,00 mL cuka makan dengan pipet volume, tuangkan ke dalam labu ukur 250 mL dan encerkan dengan aquades sampai tanda batas.
- Ambil 25,00 mL dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 2-3 tetes indikator fenolftalin (pp).
- Titrasi dengan larutan NaOH yang telah distandardisasi dengan HCl atau asam oksalat sampai titik akhir titrasi (terjadi perubahan warna).
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung kadar (%) asam asetat dalam cuka makan dengan persamaan :

$$\text{Kadar asam asetat ( \% )} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BE As.asetat} \times 100\%}{10,00 / 250,00 \times 25,00 \times \text{BJ cuka} \times 1000}$$

Catatan :

BJ cuka = berat / volume

#### e. PENENTUAN KADAR $\text{Na}_2\text{CO}_3$ DALAM SODA

Tujuan :

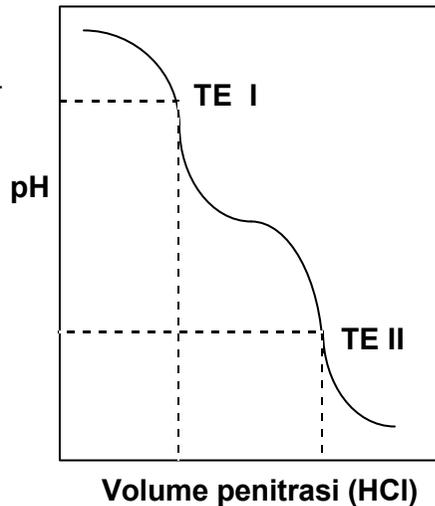
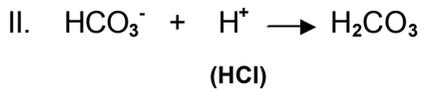
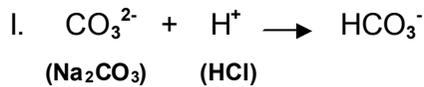
Menentukan kadar  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dalam soda dengan cara menstandarisasi larutan soda dengan larutan standar HCl.

Prinsip :

$\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebagai garam yang berbasa dua (dimana BE =  $\frac{1}{2}$  Mr) dapat distandarisasi dengan larutan standar HCl.

Karena pada titrasi ini terdapat dua titik ekuivalen (TE) maka untuk TE I digunakan indikator fenolftalin (pp), sedangkan untuk TE II digunakan indikator methyl orange (MO).

Reaksinya :



Gambar 6.2. Kurva titrasi  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dengan HCl

Cara Kerja :

- Larutkan 10,00 gram sampel soda dengan akuades di dalam labu ukur 250 mL.
- Diambil 25,00 mL larutan sampel tersebut dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 2-3 tetes indikator pp untuk TE I.
- Titrasi dengan larutan standar HCl sampai terjadi perubahan warna.
- Setelah terjadi perubahan warna tambahkan 2-3 tetes indikator MO sampai terjadi perubahan warna (untuk memperjelas TE II larutan dididihkan pada saat mendekati atau sebelum TE II dicapai, dan setelah dididihkan, larutan didinginkan kembali kemudian titrasi dilanjutkan sampai terjadi perubahan warna).
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung kadar  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (%) dalam soda dengan persamaan berikut :

$$\text{Kadar } \text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ (\%)} = \frac{V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} \times \text{BE } \text{Na}_2\text{CO}_3 \times 100\%}{25,00 / 250,00 \times 10 \times 1000}$$

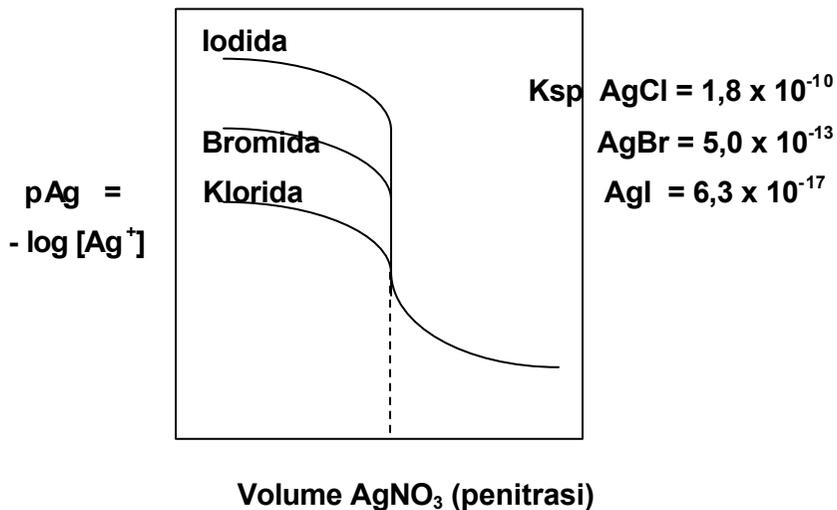
## BAB VII

### ARGENTOMETRI

Salah satu jenis titrasi pengendapan adalah titrasi Argentometri. Argentometri merupakan titrasi yang melibatkan reaksi antara ion halida ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ) atau anion lainnya ( $\text{CN}^-$ ,  $\text{CNS}^-$ ) dengan ion  $\text{Ag}^+$  (Argentum) dari perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) dan membentuk endapan perak halida ( $\text{AgX}$ ).



Konstanta kesetimbangan reaksi pengendapan untuk reaksi tersebut adalah ;  $K_{sp} \text{AgX} = [\text{Ag}^+][\text{X}^-]$



**Gambar 7.1. Kurva titrasi Argentometri**

**METODE MOHR :**

**Prinsip :**

$\text{AgNO}_3$  akan bereaksi dengan  $\text{NaCl}$  membentuk endapan  $\text{AgCl}$  yang berwarna putih. Bila semua  $\text{Cl}^-$  sudah habis bereaksi dengan  $\text{Ag}^+$  dari  $\text{AgNO}_3$ , maka kelebihan sedikit  $\text{Ag}^+$  akan bereaksi



- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung normalitas AgNO<sub>3</sub> dengan persamaan :

$$N_{\text{AgNO}_3} = \frac{V_{\text{NaCl}} \times N_{\text{NaCl}}}{V_{\text{AgNO}_3}}$$

## 2. PENENTUAN KADAR NaCl DALAM GARAM DAPUR

Tujuan :

Menetapkan kadar NaCl dalam garam dapur dengan cara menstandarisasi larutan garam dapur dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub> menggunakan metode Mohr (Garam dapur telah dikeringkan di dalam oven selama 1 jam dengan suhu 110<sup>0</sup>C)

Cara Kerja :

- Larutkan 1,00 gram garam dapur dengan aquades di dalam labu ukur 250 mL.
- Ambil 25,00 mL larutan garam dapur tersebut, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 1,0 mL larutan K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 2% sebagai indikator.
- Titrasi dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub> sampai terbentuk warna merah bata.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung kadar NaCl dalam garam dapur.

$$\text{Kadar NaCl (\%)} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \times N_{\text{AgNO}_3} \times \text{BE NaCl} \times \text{FP} \times 100\%}{\text{Masa sampel (mg)}}$$

FP = faktor pengenceran, dalam prosedur ini 250/25

## 3. PENENTUAN KADAR KLORIDA DALAM AIR LAUT

Tujuan :

Menentukan kadar ion klorida dalam air laut dengan cara menstandarisasi larutan air laut dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub>.

Cara Kerja :

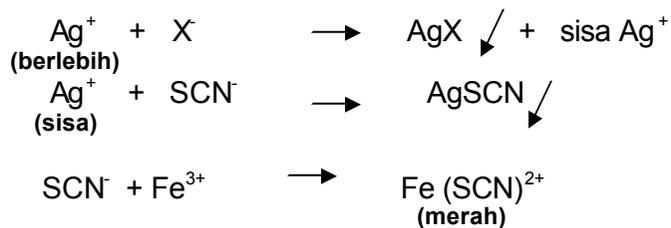
- Larutkan 5,00 mL sampel air laut dengan aquades ± 25 mL di dalam erlenmeyer 250 mL
- Tambahkan 1,0 mL larutan K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 2% sebagai indikator
- Titrasi dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub> sampai pertama kali terbentuk warna merah bata.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung molaritas (M) ion khlorida dalam air laut.

$$M_{Cl^-} = \frac{V_{AgNO_3} \times M_{AgNO_3}}{V_{air\ laut}}$$

## METODE VOLHARD

Prinsip :

Pada metode ini, sejumlah volume larutan standar AgNO<sub>3</sub> ditambahkan secara berlebih ke dalam larutan yang mengandung ion halida (X). Sisa larutan standar AgNO<sub>3</sub> yang tidak bereaksi dengan Cl<sup>-</sup> dititrasi dengan larutan standar tiosianat ( KSCN atau NH<sub>4</sub>SCN ) menggunakan indikator besi (III) (Fe<sup>3+</sup>). Reaksinya sebagai berikut ;



### 1. STANDARDISASI LARUTAN AMONIUM TIOSIANAT (NH<sub>4</sub>SCN) DENGAN LARUTAN STANDAR AgNO<sub>3</sub>

Tujuan :

Menstandarisasi larutan AgNO<sub>3</sub> dengan larutan standar NH<sub>4</sub>SCN menggunakan metode Volhard.

Cara kerja :

- Siapkan larutan  $\text{AgNO}_3$  dengan cara melarutkan 9,00 gram  $\text{AgNO}_3$  kedalam 1000 mL.
- Siapkan larutan  $\text{NH}_4\text{SCN}$  0,1 N dengan cara melarutkan 7,60 gram  $\text{NH}_4\text{SCN}$ .
- Ambil 25,00 mL larutan standar  $\text{AgNO}_3$  0,1000 N dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan 5 mL larutan  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 N sebagai indikator
- Titrasi dengan larutan  $\text{NH}_4\text{SCN}$  (yang sudah disiapkan) sampai pertama kali terbentuk warna merah kecoklatan.
- Percobaan dilakukan 3 kali
- Hitung normalitas (N)  $\text{NH}_4\text{SCN}$  dengan cara :

$$N_{\text{NH}_4\text{SCN}} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \times N_{\text{AgNO}_3}}{V_{\text{NH}_4\text{SCN}}}$$

## 2. PENENTUAN KADAR $\text{NaCl}$ DALAM GARAM DAPUR

Tujuan :

Menetapkan kadar  $\text{NaCl}$  dalam garam dapur dengan cara menstandarisasi larutan garam dapur menggunakan Argentometri metode Volhard.

Cara Kerja :

- Larutkan 1,00 gram sampel garam dapur (telah dikeringkan dalam oven selama 1 jam, suhu  $110^\circ\text{C}$ ) dengan aquades di dalam labu ukur 250 mL.
- Ambil 25,00 mL larutan tersebut dengan pipet volume tuangkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml.
- Tambahkan 1 mL asam nitrat 4 M dan 5 mL larutan  $\text{Fe}(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  1N.
- Tambahkan larutan standar  $\text{AgNO}_3$  (dalam keadaan berlebih tetapi harus diketahui volumenya dengan pasti) ke dalam larutan yang ada dalam erlenmeyer.

- Tambahkan 15 mL nitro benzena, kemudian labu erlenmeyer ditutup dan dikocok secara merata sehingga semua endapan AgCl dilapisi oleh nitro benzena.
- Sisa AgNO<sub>3</sub> yang bereaksi dengan ion klorida (Cl<sup>-</sup>) dititrasi dengan larutan standar NH<sub>4</sub>SCN menggunakan indikator larutan Fe(NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> 1 N sebanyak 5 mL. Titik akhir titrasi dicapai pada saat pertama kali terbentuk warna merah coklat.
- Percobaan dilakukan 3 kali
- Hitung kadar (%) NaCl dalam garam dapur dengan persamaan :

$$\frac{\{ (V_{\text{AgNO}_3} \times N_{\text{AgNO}_3}) - (V_{\text{NH}_4\text{SCN}} \times N_{\text{NH}_4\text{SCN}}) \} \times BE_{\text{NaCl}} \times 100\%}{25 / 250 \times 1,00 \times 1000}$$

### 3. PENENTUAN KONSENTRASI KLORIDA DALAM AIR LAUT

Tujuan :

Penentuan konsentrasi klorida (Cl<sup>-</sup>) dalam air laut dengan titrasi Argentometri metode Volhard.

Cara kerja :

- Ambil 5,00 mL sampel air laut dengan pipet volume, tuangkan kedalam erlenmeyer 250 ml.
- Tambahkan 1 mL larutan HNO<sub>3</sub> 4M dan 5 mL larutan FeNH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 1N.
- Tambahkan 30-40 larutan standar AgNO<sub>3</sub> (berlebih tetapi harus diketahui volumenya dengan pasti) ke dalam larutan di atas.
- Tambahkan 15 mL nitrobenzena, kemudian labu erlenmeyer ditutup dan dikocok secara merata sehingga semua endapan AgCl dilapisi oleh nitro- benzena.

- Sisa  $\text{AgNO}_3$  yang tak bereaksi dengan ion klorida ( $\text{Cl}^-$ ) dititrasi dengan larutan standar  $\text{NH}_4\text{SCN}$  menggunakan indikator  $\text{Fe}(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  1N sebanyak 5 mL.  
Titik akhir titrasi dicapai pada saat pertama kali terbentuk warna merah coklat.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung molaritas (M) ion klorida dalam air laut.

$$M_{\text{klorida}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \times M_{\text{AgNO}_3}) - (V_{\text{NH}_4\text{SCN}} \times M_{\text{NH}_4\text{SCN}})}{V_{\text{air laut}} \text{ (mL)}}$$

## METODE FAJANS

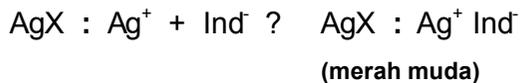
Prinsip :

Pada titrasi Argentometri dengan metode Fajans ada dua tahap untuk menerangkan titik akhir titrasi dengan indikator absorpsi (fluorescein).

Selama titrasi berlangsung (sebelum TE) ion halida ( $\text{X}^-$ ) dalam keadaan berlebih dan diabsorpsi pada permukaan endapan  $\text{AgX}$  sebagai permukaan primer.



Setelah titik ekuivalen tercapai dan pada saat pertama ada kelebihan  $\text{AgNO}_3$  yang ditambahkan  $\text{Ag}^+$  akan berada pada permukaan primer yang bermuatan positif menggantikan kedudukan ion halida ( $\text{X}^-$ ). Bila hal ini terjadi maka ion indikator ( $\text{Ind}^-$ ) yang bermuatan negatif akan diabsorpsi oleh  $\text{Ag}^+$  (atau oleh permukaan absorpsi).



Jadi titik akhir titrasi tercapai bila warna merah telah terbentuk.

## 1. STANDARDISASI LARUTAN $\text{AgNO}_3$ DENGAN LARUTAN STANDAR $\text{NaCl}$ .

Tujuan :

Menstandarisasi larutan  $\text{AgNO}_3$  dengan larutan standar  $\text{NaCl}$  secara Argentometri metode Fajans.

Cara Kerja :

- Siapkan larutan standar  $\text{NaCl}$  0,1N dengan cara melarutkan 5,8 gram  $\text{NaCl}$  (yang telah dikeringkan dengan oven selama 1 jam dengan suhu  $110^\circ\text{C}$ ) ke dalam 1000 mL aquades didalam labu ukur.
- Ambil 25,00 mL larutan  $\text{NaCl}$  tersebut dengan pipet volume, tuangkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL.
- Tambahkan 0,4 mL indikator diklorofluoroscein dan 0,1 gram dekstrin.
- Titrasi dengan larutan  $\text{AgNO}_3$  0,1N yang telah disiapkan, sampai pertama kali terbentuk warna merah muda pada permukaan endapan  $\text{AgCl}$  yang terbentuk
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung normalitas larutan  $\text{AgNO}_3$ .

$$N_{\text{AgNO}_3} = \frac{V_{\text{NaCl}} \times N_{\text{NaCl}}}{V_{\text{AgNO}_3}}$$

## 2. PENENTUAN KADAR $\text{NaCl}$ DALAM GARAM DAPUR

Tujuan :

Menentukan kadar  $\text{NaCl}$  dalam garam dapur dengan cara menstandarisasi larutan garam dapur dengan larutan standar  $\text{AgNO}_3$  secara Argentometri metode Fajans.

Cara kerja :

- Dilarutkan 1,00 gram garam dapur (yang telah dikeringkan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 110<sup>0</sup>C) ke dalam aquades di dalam labu ukur 250 mL.
- Diambil 25,00 mL larutan tersebut dengan pipet volume, dituangkan kedalam labu erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 0,4 mL larutan diklorofluorescein dan 0,1 gram dekstrin.
- Titrasi dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub> sampai pertama kali terbentuk warna merah muda pada permukaan endapan AgCl, berarti titik akhir titrasi tercapai.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung kadar (%) NaCl dalam garam dapur.

$$\text{Kadar NaCl (\%)} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \times N_{\text{AgNO}_3} \times \text{BE NaCl} \times 100\%}{25 / 250 \times 1,00 \times 1000}$$

### 3. PENENTUAN KONSENTRASI ION KLORIDA (Cl<sup>-</sup>) DALAM AIR LAUT

Tujuan :

Menentukan konsentrasi (Molaritas) ion klorida (Cl<sup>-</sup>) dalam air laut dengan cara menstandarisasi sampel air laut dengan larutan standar AgNO<sub>3</sub> secara Argentometri metode Fajans.

Cara Kerja :

- Ambil 5,00 mL sampel air laut dengan pipet volume, tuangkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL, tambah dengan 25 mL aquades.
- Asamkan larutan tsb sampai pHnya menjadi ± 4, dengan larutan asam asetat ( asam asetat : H<sub>2</sub>O = 1 : 3 ), karena air laut mengandung karbonat
- Tambahkan 0,4 ml larutan diklorofluorescein dan 0,1 gram dekstrin.

- Titrasi dengan larutan standar  $\text{AgNO}_3$  sampai pertama kali terbentuk warna merah muda pada lapisan endapan putih  $\text{AgCl}$  yang telah terbentuk.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung molaritas ion  $\text{Cl}^-$  dalam air laut.

$$M_{\text{Cl}^-} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \times M_{\text{AgNO}_3}}{V_{\text{air laut}}}$$

#### 4. PENENTUAN KADAR SULFAT

Tujuan :

Menentukan kadar sulfat secara titrasi pengendapan metode Fajans (indikator absorpsi).

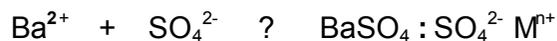
Prinsip :

Titrasi dilakukan pada pH 3,5 di dalam campuran air : alkohol = 1 : 1. Sulfat diendapkan sebagai  $\text{BaSO}_4$  dengan penitrasi  $\text{BaCl}_2$  menggunakan indikator Alizarin Red.

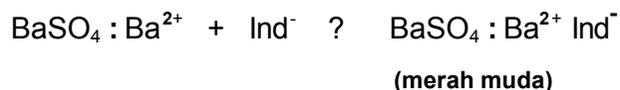
Indikator berwarna kuning di dalam larutan tetapi akan membentuk warna merah muda dengan kelebihan ion barium (II).

Mekanisme reaksi untuk titik akhir titrasi penentuan sulfat ini adalah sebagai berikut :

Selama titrasi (sebelum TE).



Sesudah TE :



Cara kerja :

- Ambil 10,00 mL larutan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,1M dengan pipet volume, tuangkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL.
- Tambah dengan aquades 25 mL dan metanol 25 mL.

- Tambah 2 tetes indikator alizarin red s dan larutan HCl encer (1:10) tetes demi tetes sampai larutan berwarna kuning.
- Titrasi secara cepat dengan larutan  $\text{BaCl}_2$  0,05 M sampai mendekati titik ekuivalen (sekitar 90%). Tambahkan 3 tetes lagi indikator.
- Titrasi dilanjutkan sampai terbentuk warna merah muda yang hilang kembali (tidak permanen). Titik akhir titrasi tercapai jika telah terbentuk warna merah muda yang permanen.
- Percobaan dilakukan 3 kali
- Hitung molaritas (M) ion sulfat yang ada dalam sampel.

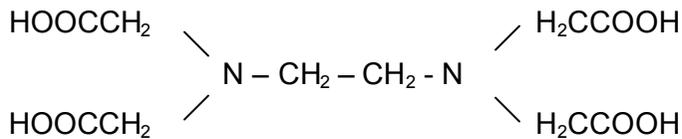
$$M_{\text{SO}_4^{2-}} = \frac{V_{\text{BaSO}_4} \times M_{\text{BaSO}_4}}{V_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}}$$

## BAB VIII

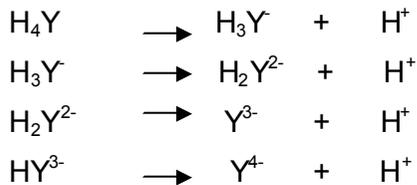
### TITRASI KOMPLEKSOMETRI

Banyak ion logam dapat ditentukan dengan titrasi menggunakan suatu pereaksi (sebagai titran) yang dapat membentuk kompleks dengan logam tersebut.

Salah satu senyawa kompleks yang biasa digunakan sebagai penitrasi dan larutan standar adalah **ethylene diamine tetra acetic acid** (EDTA).



EDTA merupakan asam lemah dengan empat proton. Bentuk asam dari EDTA dituliskan sebagai  $\text{H}_4\text{Y}$  dan reaksi netralisasinya adalah sebagai berikut :



Sebagai penitrasi/pengomplek logam, biasanya yang digunakan yaitu garam  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ ), karena EDTA dalam bentuk  $\text{H}_4\text{Y}$  dan  $\text{NaH}_3\text{Y}$  tidak larut dalam air.

EDTA dapat mengomplekkan hampir semua ion logam dengan perbandingan mol 1 : 1 berapapun bilangan oksidasi logam tersebut.

Kestabilan senyawa kompleks dengan EDTA, berbeda antara satu logam dengan logam yang lain. Reaksi pembentukan kompleks logam (M) dengan EDTA (Y) adalah :



Konstanta pembentukan/kestabilan senyawa kompleks dinyatakan sebagai berikut ini :

$$K_{MY} = \frac{[MY]}{[M][Y]}$$

Besarnya harga konstante pembentukan kompleks menyatakan tingkat kestabilan suatu senyawa kompleks. Makin besar harga konstante pembentukan senyawa kompleks, maka senyawa kompleks tersebut makin stabil dan sebaliknya makin kecil harga konstante kestabilan senyawa kompleks, maka senyawa kompleks tersebut makin tidak (kurang) stabil.

**Tabel 8.1. Harga konstante kestabilan kompleks logam dengan EDTA ( $K_{MY}$ ) (Fritz dan Schenk, 1979).**

Ion logam	log $K_{MY}$	Ion logam	log $K_{MY}$
Fe <sup>3+</sup>	25,1	Co <sup>2+</sup>	16,3
Th <sup>4+</sup>	23,2	Al <sup>3+</sup>	16,1
Cr <sup>3+</sup>	23,0	Ce <sup>3+</sup>	16,0
Bi <sup>3+</sup>	22,8	La <sup>3+</sup>	15,4
Cu <sup>2+</sup>	18,8	Mn <sup>2+</sup>	14,0
Ni <sup>2+</sup>	18,6	Ca <sup>2+</sup>	10,7
Pb <sup>2+</sup>	18,0	Mg <sup>2+</sup>	8,7
Cd <sup>2+</sup>	16,5	Sr <sup>2+</sup>	8,6
Zn <sup>2+</sup>	16,5	Ba <sup>2+</sup>	7,8

Karena selama titrasi terjadi reaksi pelepasan ion H maka larutan yang akan dititrasi perlu ditambah larutan bufer.

Untuk menentukan titik akhir titrasi ini digunakan indikator, diantaranya Calmagite, Arsenazo, Eriochrome Black T (EBT). Sebagai contoh titrasi antara Mg<sup>2+</sup> dengan EDTA sebagai penitrasi, menggunakan indikator calmagite.

Reaksi antara ion  $Mg^{2+}$  dengan EDTA tanpa adanya penambahan indikator adalah :



Jika sebelum titrasi ditambahkan indikator maka indikator akan membentuk kompleks dengan  $Mg^{2+}$  (berwarna merah) kemudian  $Mg^{2+}$  pada kompleks akan bereaksi dengan EDTA yang ditambahkan. Jika semua  $Mg^{2+}$  sudah bereaksi dengan EDTA maka warna merah akan hilang selanjutnya kelebihan sedikit EDTA akan menyebabkan terjadinya titik akhir titrasi yaitu terbentuknya warna biru.



#### 1. STANDARDISASI LARUTAN EDTA DENGAN LARUTAN $CaCl_2$ .

Tujuan :

Menstandarisasi larutan EDTA dengan larutan  $CaCl_2$  secara kompleksometri menggunakan indikator EBT.

Cara Kerja :

- Siapkan larutan standar  $CaCl_2$  0,1M dengan cara melarutkan 0,25 gram  $CaCO_3$  dengan 25 mL aquades di dalam beaker glass 250 mL, tambahkan 1 mL HCl pekat melalui dinding gelas piala dan tutup dengan kaca arloji, maka kaca arloji dicuci dengan aquades, cucian masukkan kedalam beaker glass, kemudian tuangkan secara kuantitatif kedalam labu ukur 250 mL dan encerkan dengan aquades sampai tanda batas.
- Siapkan larutan EDTA 0,01 dengan cara melarutkan 3,8 gram  $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$  (BM=372) dengan aquades dalam labu ukur 1000 ml.

- Ambil 25,00 mL larutan standar  $\text{CaCl}_2$  diatas, tuangkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml, tambah dengan 1,0 mL larutan bufer pH = 10 dan 2-3 tetes indikator EBT maka larutan akan berwarna merah.
- Titrasi dengan larutan EDTA yang telah disiapkan sampai terjadi perubahan warna dari merah ke biru.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung molaritas larutan EDTA

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{BM CaCO}_3 \times V_{\text{EDTA}}}$$

## 2. PENENTUAN TOTAL KESADAHAN DALAM AIR LAUT

Tujuan :

Menentukan konsentrasi total kesadahan dalam air laut secara kompleksometri dengan mentitrasi larutan air laut dengan larutan standar EDTA.

Cara kerja :

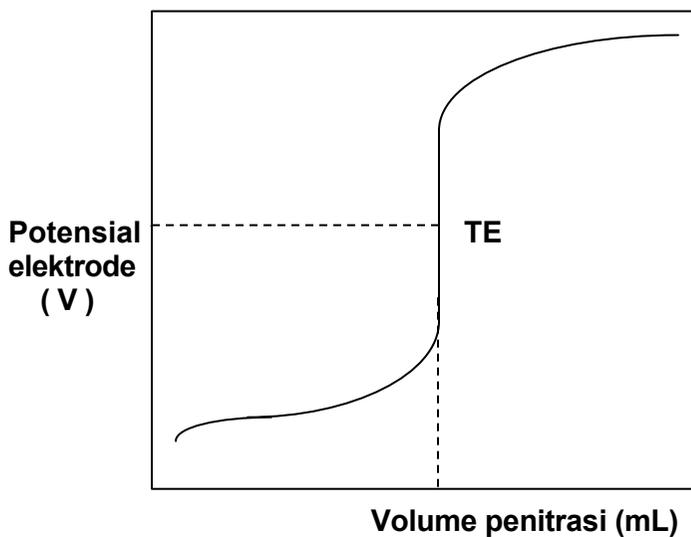
- Ambil 2,00 mL sampel air laut, tuangkan kedalam labu erlenmeyer 250 mL, tambah dengan 25 mL aquades.
- Tambah dengan 1,0 mL larutan bufer pH 10 dan 23 tetes indikator EBT maka larutan akan berwarna merah.
- Titrasi dengan larutan standar EDTA sampai terjadi perubahan warna dari merah ke biru.
- Percobaan diulang 3 kali
- Hitung total kesadahan dalam air laut

$$\text{Kesadahan total (ppm CaCO}_3) = \frac{V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}} \times 1000 \times \text{BM CaCO}_3}{\text{Volume sampel air (ml)}}$$

## BAB IX

### TITRASI OKSIDASI REDUKSI

Titration oksidasi reduksi (redoks) merupakan salah satu jenis titration dimana titration berlangsung antara suatu oksidator pada buret sebagai penitrasi dan reduktor pada erlenmeyer atau sebaliknya. Pada reaksi oksidasi reduksi akan terjadi aliran elektron dari suatu reduktor ke suatu oksidator.



Gambar 9.1. Kurva titration oksidasi reduksi

Sebagai contoh pada titration besi (II) dengan cerium (IV) maka besi (II) akan memberikan elektron ke cerium (IV), sehingga titration redoks dapat diikuti secara potensiometri. Jadi kurva titration redoks merupakan hubungan antara volume penitrasi sebagai sumbu X terhadap harga potensial sebagai sumbu Y.

Indikator titration redoks merupakan senyawa berwarna yang akan berubah warna jika teroksidasi atau tereduksi. Indikator akan bereaksi secara redoks dengan penitrasi setelah semua larutan yang dititrasi habis bereaksi dengan penitrasi, karena indikator

**Tabel 9.1. Beberapa indikator titrasi oksidasi reduksi.**

<b>Indikator</b>	<b>Warna bentuk tereduksi</b>	<b>Warna bentuk teroksidasi</b>	<b>E° (V)</b>
Tris(5-nitro-1,10-penanthroline) iron(II) sulfate, <i>disebut</i> nitro ferroin	Merah	Biru	1,25
Tris(1,10-penanthroline) iron(II) sulfate, <i>disebut</i> ferroin	Merah	Biru	1,06
Tris(2,2-bipyridine) iron(II) sulphate	Merah	Biru	0,97
Tris(4,7-dimethyl-1,10-penanthroline) iron(II) sulfate	Merah	Biru	0,88
Diphenylaminesulfonic acid	Tak berwarna/hijau	Ungu	0,84
Diphenylamine	Tak berwarna	Ungu	0,76
Methylen blue	Biru	Tak berwarna	0,53
1,10-penanthroline vanadium	Biru	Hijau	0,15

ditambahkan dalam jumlah kecil. Pemilihan indikator ttrasi redoks yaitu indikator yang mempunyai harga kisaran potensial yang berada disekitar harga potensial titik ekuivalen titrasi. Indikator harus bereaksi secara cepat dengan penitrasi. Bila indikator bereaksi lambat maka titik akhir titrasi akan datang terlambat, sehingga akan lebih banyak volume penitrasi yang diperlukan dari yang seharusnya.

### **PENENTUAN BESI DALAM SAMPEL BIJIH BESI SECARA TITRASI OKSIDASI DENGAN BIKHROMAT**

Prinsip :

Besi di dalam sampel bijih besi dapat dianalisa dengan cara melarutkan sampel bijih besi kedalam HCl untuk membentuk besi (III).





B. MELARUTKAN SAMPEL BIJIH BESI DAN MEREDUKSI BESI (III).

- Menimbang dengan teliti sekitar 0,5 gram sampel bijih besi didalam beaker glass 500 mL.
- Tambahkan 10 mL larutan HCl 12 M dan tutup dengan kaca arloji
- Panaskan diatas hot plate dibawah titik didih sampai sampel larut (sekitar 20-50 menit) yaitu larutan sampai berubah menjadi kuning, ini menunjukkan terbentuknya besi (III)].
- Larutan diuapkan sampai sekitar 5 mL dan larutkan dengan aquades sampai 15 mL.
- Larutan dipanaskan sampai mendidih
- Tambahkan larutan  $\text{SnCl}_2$  0,5 M tetes demi tetes sampai warna kuning berubah menjadi warna hijau terang (kadang-kadang) tidak berwarna.

**Ingat** : penambahan  $\text{SnCl}_2$  jangan terlalu berlebih.

- Larutan dipanaskan lagi
- Dinginkan sampai suhu kamar
- Tambahkan 10 mL aquades dan 10 mL larutan  $\text{HgCl}_2$  0,25M disertai dengan pengadukan. Semua sisa  $\text{SnCl}_2$  akan teroksidasi menjadi Sn (IV).
- Biarkan sekitar 3 menit, endapan putih ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) akan terbentuk
- Bila terbentuk endapan berwarna abu-abu atau hitam. Itu berarti terbentuk Hg logam, larutan dibuang (preparasi diulang)
- Bila larutan tetap berwarna putih maka titrasi dengan larutan standar  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  dengan cara dibawah.
- Percobaan dilakukan 3 kali.

### C. TITRASI LARUTAN SAMPEL DENGAN LARUTAN STANDAR $K_2Cr_2O_7$

- Larutan tersebut diatas encerkan dengan aquades sampai 50 ml dalam labu ukur.
- Ambil 10,00 mL larutan tersebut dengan pipet volume, tuangkan ke dalam erlenmeyer 250 mL.
- Segera tambahkan 100 mL aquades, 5 mL  $H_2SO_4$  (1:5), 3 mL  $H_3PO_4$  85% dan 5 tetes indikator difenil amin.
- Larutan dititrasikan dengan larutan standar  $K_2Cr_2O_7$  0,1000 N yang telah disiapkan.
- Percobaan dilakukan 3 kali
- Hitung kadar besi (%) yang ada dalam sampel dengan persamaan :

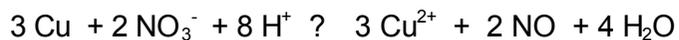
$$\text{Kadar Fe(\%)} = \frac{V_{K_2Cr_2O_7} \times N_{K_2Cr_2O_7} \times BE_{Fe} \times FP \times 100\%}{\text{berat sampel (mg)}}$$

FP = faktor pengenceran, dalam hal ini 50/10

### **PENENTUAN KADAR TEMBAGA (Cu) DALAM SAMPEL BIJIH TEMBAGA SECARA IODOMETRI**

Prinsip :

Suatu cara untuk menentukan Cu dalam sampel bijih tembaga dilakukan dengan cara melarutkan sampel dengan asam nitrat.



Nitrat yang ada dihilangkan dengan asam sulfat, dinetralkan kembali dengan penambahan amonia, dan diasamkan kembali dengan asam fosfat.

Cu (II) yang terbentuk direaksikan secara kuantitatif (berlebih) dengan ion iodida (KI).



Iodin ( $\text{I}_2$ ) yang terbentuk dititrasi dengan larutan standar  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dengan indikator amilum.



Endapan  $\text{CuI}$  yang terbentuk dapat mengikat  $\frac{1}{2}$  yang akan terlepas pada saat titik akhir titrasi. Untuk itu kalium thiosianat perlu ditambahkan untuk melepaskan  $\text{I}_2$  yang diikat oleh  $\text{CuI}$ .



Natrium thiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) harus distandarisasi terlebih dahulu dengan larutan standar kalium iodat ( $\text{KIO}_3$ ). Kalium iodida (KI) ditambahkan kedalam  $\text{KIO}_3$  dan  $\text{I}_2$  yang dibebaskan dititrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .



Cara Kerja :

#### A. STANDARISASI LARUTAN $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ DENGAN LARUTAN $\text{KIO}_3$

- Ditimbang dengan teliti sekitar 0,3 gram  $\text{KIO}_3$  dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL dalam labu ukur. Larutan tersebut adalah  $\text{KIO}_3$  0,1000 N.
- Ditimbang sekitar 12,5 gram  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan larutkan dengan aquades yang telah dididihkan sampai 500 ml didalam labu ukur.
- Ambil 20,00 mL larutan  $\text{KIO}_3$  0,1000 N dengan pipet volume, tuangkan kedalam labu erlenmeyer 250 mL. Tambahkan 1 gram KI, larutan akan berwarna coklat.

- Titrasi larutan  $\text{KIO}_3$  tersebut dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sampai mendekati titik ekuivalen (sampai larutan berwarna coklat muda atau kuning).
- Tambahkan 2 mL larutan amilum 0,8%, larutan akan berwarna biru.
- Titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang.
- Normalitas larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dapat dihitung.

$$N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = \frac{V_{\text{KIO}_3} \times N_{\text{KIO}_3}}{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}}$$

#### B. PELARUTAN SAMPEL

- Ditimbang dengan teliti 0,3000 gram sampel bijih tembaga di dalam gelas kimia 250 mL.
- Tambahkan 5 mL larutan  $\text{HNO}_3$  4 M.
- Larutan dipanaskan dengan suhu rendah sampai sampel melarut.
- Larutan diuapkan sampai berwarna putih
- Biarkan agar dingin
- Tambahkan 20 mL aquades dengan hati-hati
- Larutan dididihkan sekitar 1-2 menit dan dinginkan kembali.
- Tambahkan larutan  $\text{NH}_3$  (1:1) tetes demi tetes sampai warna biru gelap terbentuk.
- Tambahkan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6 N tetes demi tetes sampai warna biru hampir hilang.
- Tambahkan 2 mL  $\text{H}_3\text{PO}_4$  85%
- Dinginkan larutan tersebut pada suhu kamar
- Larutan dapat dititrasi dengan larutan standar  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dengan cara berikut :

C. TITRASI LARUTAN SAMPEL DENGAN LARUTAN  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

- Tambahkan 10 mL larutan KI 40% kedalam larutan sampel diatas, larutan akan berwarna coklat.
- Titrasi dengan larutan standar  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sampai berwarna kuning atau coklat muda.
- Tambah 2 mL larutan amilum, larutan akan berwarna biru.
- Titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang
- Hitung kadar Cu dalam sampel.

$$\text{Kadar Cu (\%)} = \frac{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times \text{BE Cu} \times 100\%}{\text{berat sampel (mg)}}$$

## **BAB X**

### **GRAVIMETRI**

Gravimetri adalah metode analisis kuantitatif unsur atau senyawa berdasarkan bobotnya yang diawali dengan pengendapan dan diikuti dengan pemisahan dan pemanasan endapan dan diakhiri dengan penimbangan.

Untuk memperoleh keberhasilan pada analisis secara gravimetri, maka harus memperhatikan tiga hal berikut ;

1. Unsur atau senyawa yang ditentukan harus terendapkan secara sempurna.
2. Bentuk endapan yang ditimbang harus diketahui dengan pasti rumus molekulnya.
3. Endapan yang diperoleh harus murni dan mudah ditimbang.

Dalam analisis gravimetri meliputi beberapa tahap sebagai berikut ;

- a). Pelarutan sampel (untuk sampel padat).
- b). Pembentukan endapan dengan menambahkan pereaksi pengendap secara berlebih agar semua unsur/senyawa diendapkan oleh pereaksi. Pengendapan dilakukan pada suhu tertentu dan pH tertentu yang merupakan kondisi optimum reaksi pengendapan. Tahap ini merupakan tahap paling penting.
- c). Penyaringan endapan.
- d). Pencucian endapan, dengan cara menyiram endapan di dalam penyaring dengan larutan tertentu.
- e). Pengeringan endapan sampai mencapai berat konstan.
- f). Penimbangan endapan.
- g). Perhitungan.

$$\text{Kadar Unsur (\%)} = \frac{\text{Berat endapan (gram)} \times \text{F.G.} \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}} \\ \text{atau senyawa}$$

$$\text{Faktor Gravimetri} = \text{F.G.} = \frac{\text{Masa atom/molekul relatif (Ar/Mr) unsur/senyawa yang ditentukan}}{\text{Masa molekul relatif (Mr) endapan yang ditimbang}}$$

Tabel 10.1. Beberapa contoh faktor gravimetri.

Unsur/senyawa yang ditentukan	Bentuk endapan yang ditimbang	Faktor Gravimetri
K	KClO <sub>4</sub>	$\frac{\text{BA K}}{\text{BM KClO}_4}$
K <sub>2</sub> O	KClO <sub>4</sub>	$\frac{\text{BA K}_2\text{O}}{2 \times \text{BM KClO}_4}$
S	BaSO <sub>4</sub>	$\frac{\text{BA S}}{\text{BM BaSO}_4}$
SO <sub>4</sub>	BaSO <sub>4</sub>	$\frac{\text{BM SO}_4}{\text{BM BaSO}_4}$
Fe	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	$\frac{2 \times \text{BA Fe}}{\text{BM Fe}_2\text{O}_3}$
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	$\frac{2 \times \text{BM Fe}_3\text{O}_4}{3 \times \text{BM Fe}_2\text{O}_3}$
Mg	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	$\frac{2 \times \text{BA Mg}}{\text{BM Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7}$
KAlSi <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	SiO <sub>2</sub>	$\frac{\text{BM KAlSi}_3\text{O}_8}{3 \times \text{BM SiO}_2}$

## 10.1. PENENTUAN KLORIDA

Prinsip :

Ion klorida dalam larutan diendapkan dari larutan asam sebagai perak klorida (AgCl).



Endapan yang terbentuk mula – mula berbentuk koloid tetapi kemudian akan menggumpal membentuk agregat. Endapan yang terbentuk mudah tersebut dicuci dan disaring. Sebagai pencuci digunakan larutan asam nitrat (HNO<sub>3</sub>) encer. Air tidak dapat digunakan sebagai pencuci.

Perak klorida yang terbentuk disaring melalui *sintered-glass crucible*, bukan dengan kertas saring karena AgCl mudah direduksi menjadi Ag bebas oleh karbon dalam kertas saring selama pembakaran kertas saring.

Tujuan :

Menetapkan kadar klorida dalam suatu sampel dengan cara mengendapkan ion klorida yang ada dalam sampel menggunakan perak nitrat (AgNO<sub>3</sub>).

Cara kerja :

- Dapatkan sampel yang mengandung ion klorida yang larut dan keringkan dalam oven sekitar 1 jam dengan suhu 110<sup>0</sup>C.
- Dinginkan dalam desikator
- Timbang sekitar 0,4 – 0,7 gram sampel tersebut di dalam gelas kimia 400 mL.
- Tambahkan 150 mL aquades bebas klorida dan 0,5 mL (10 tetes) asam nitrat (HNO<sub>3</sub>) pekat.
- Aduk sampai merata dengan batang pengaduk dan tinggalkan batang pengaduk pada beaker glass.
- Anggap sampel tersebut adalah NaCl murni dan hitung milimol AgNO<sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk mengendapkan.

**Contoh :**

$410 \text{ mg sampel} = 410/58,5 = 7 \text{ mmol NaCl}$

$7 \text{ mmol NaCl} = 7 \text{ mmol AgNO}_3$

Jika tersedia larutan  $\text{AgNO}_3$  0,5 M, maka larutan  $\text{AgNO}_3$  0,5 M

yang diperlukan  $7/0,5 = 14 \text{ ml}$

- Tambahkan larutan  $\text{AgNO}_3$  tersebut secara perlahan-lahan sambil diaduk dan lebihkan 10% penambahan larutan  $\text{AgNO}_3$ .
- Panaskan gelas kimia yang berisi larutan, sampai hampir mendidih sambil diaduk terus menerus. Hindarkan beaker dari sinar matahari langsung.
- Tambahkan satu dua tetes larutan  $\text{AgNO}_3$  untuk mengetahui apakah semua khlorida dalam sampel telah diendapkan atau belum.

Bila dengan penambahan larutan menjadi keruh, tambahkan lagi  $\text{AgNO}_3$  dan panaskan kembali. Dan perlu diperiksa kembali dengan penambahan satu-dua tetes larutan  $\text{AgNO}_3$ .

Dinginkan larutan dan tutup dengan kaca arloji sekitar satu jam.

**Penyaringan dan Penimbangan**

- Tempatkan sintered – glass crucible (yang telah ditimbang) pada perlengkapan penghisap.
- Tuangkan larutan sampel yang telah diendapkan ion kloridanya ke *crucible*.
- Cuci endapan dengan larutan  $\text{HNO}_3$  encer (0,6 mL  $\text{HNO}_3$  pekat dalam 200 mL), juga sisa yang ada dalam beaker glass beberapa kali.
- Keringkan endapan didalam oven selama 2 jam dengan suhu  $110^\circ\text{C}$ .

- Dinginkan dalam desikator
- Timbang endapan yang telah dingin
- Hitung kadar khlorida dalam sampel menggunakan BA Cl = 35,45 dan Mr AgCl = 143,32.

$$\text{Kadar Cl (\%)} = \frac{\text{Berat endapan AgCl (gram)} \times \text{Ar Cl} / \text{Mr AgCl} \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

## 10.2. PENENTUAN ALUMUNIUM

Prinsip :

Alumunium bereaksi dengan pereaksi pengendap organik, yaitu 5-hydroxy-quinoline untuk membentuk kelat tak larut, alumunium oxinat pada pH sekitar 4,5 – 9,5.



Pengendapan dapat terbentuk secara sempurna jika pH larutan tidak dibawah 4,5.

Satu keuntungan dari penggunaan pengendap organik adalah pada pengeringan dapat digunakan suhu rendah.

Aseton perlu ditambahkan untuk menghindari adanya *coprecipitation*.

Tujuan :

Untuk menentukan kadar alumunium dalam suatu sampel dengan cara mengendapkan alumunium dalam sampel dengan pereaksi

Cara Kerja :

- Dapatkan sampel alum,  $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , tetapi jangan dikeringkan. Timbang sekitar 0,3 – 0,4 gram sampel alum dalam beaker glass 250 mL.
- Tambahkan 50 mL aquades, 60 mL aseton, 4 mL 8-hydroxyquinoline 5% dan 40 mL amonium asetat 2M kedalam sampel.

Panaskan/uapkan aseton yang ada dalam sampel diatas hotplate atau water bath pada suhu sekitar  $70^\circ\text{C}$  selama 2-3 jam. Endapan akan tampak setelah 15 menit (suhu harus dijaga tetap sekitar  $70^\circ\text{C}$  selama pemanasan).

Setelah 2-3 jam larutan didinginkan (tahap ini harus dilakukan pada waktu yang sama).

#### **Penyaringan dan Penimbangan**

- Tempat crucible (yang telah ditimbang dan dibersihkan) pada perlengkapan penghisap.
- Tuangkan larutan dan endapan yang berbentuk kedalam crucible dan cuci beberapa kali beaker glass dengan aquades.
- Keringkan endapan bersama crucible didalam oven selama 2,5 jam dengan suhu  $135^\circ\text{C}$ .
- Dinginkan 0,5 jam dan keringkan lagi 0,5 jam sampai tercapai berat konstan.
- Hitung kadar Al dalam sampel sebagai Al atau  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

$$\text{Kadar Al (\%)} = \frac{\text{Berat endapan Al}[\text{C}_9\text{H}_6(\text{O-})\text{N:}] \text{ (gram)} \times \frac{\text{Ar Al}}{\text{Mr Al}[\text{C}_9\text{H}_6(\text{O-})\text{N:}]} \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

### 10.3. PENENTUAN SULFAT

Prinsip :

Sulfat dapat ditentukan dengan cara mengendapkannya dengan barium klorida ( $\text{BaCl}_2$ ) untuk membentuk endapan barium sulfat ( $\text{BaSO}_4$ ).

Partikel endapan  $\text{BaSO}_4$  terlalu kecil untuk disaring sehingga perlu didigest untuk membentuk kristal yang lebih besar. Proses ini menghasilkan kristal yang sukar larut.



Sumber kesalahan berasal dari *coprecipitation* dari beberapa kation seperti kalium dan besi (II).

Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah tersebut dapat diatasi dengan cara menambahkan larutan sampel yang panas kedalam larutan  $\text{BaCl}_2$  panas. Hal ini akan mengurangi adanya *coprecipitation*.

Tujuan :

Menentukan kadar sulfat dalam suatu sampel dengan cara mengendapkan sulfat tersebut dengan pereaksi pengendap  $\text{BaCl}_2$ .

Cara kerja :

- Keringkan sampel yang mengandung sulfat didalam oven selama 1 jam dengan suhu  $110^\circ\text{C}$ .
- Keringkan juga porselin crucible didalam oven sampai mencapai berat konstan.
- Timbang sekitar 0,3 – 0,5 gram sampel yang telah dingin didalam beaker glass 600 mL.
- Larutkan sampel dengan 150 mL aquades dan tambah 2 mL HCl pekat.

- Panaskan mendekati titik didih.
- Anggap bahwa sampel adalah  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  murni dan hitung milimol  $\text{BaCl}_2$  yang diperlukan untuk mengendapkan semua sulfat tersebut.

Contoh :

$$426 \text{ gram sampel} = 426/142 = 3 \text{ mmol } \text{Na}_2\text{SO}_4$$

$$3 \text{ mmol } \text{Na}_2\text{SO}_4 = 3 \text{ mmol } \text{BaCl}_2$$

$$\text{Jika tersedia larutan } \text{BaCl}_2 \text{ } 0,2\text{M, maka } \text{BaCl}_2 \text{ } 0,2\text{M} \\ \text{yang diperlukan} = 3/0,2 = 15 \text{ mL.}$$

- Tambahkan 50 ml kedalam volume tertentu dari larutan  $\text{BaCl}_2$  dan panaskan hampir mendidih.
- Sambil diaduk terus, tambahkan larutan sampel panas perlahan-lahan. Biarkan endapan terbentuk sempurna.
- Tambahkan beberapa tetes  $\text{BaCl}_2$  untuk melengkapi endapan yang terbentuk
- Setelah pengendapan lengkap, tutup beaker dengan gelas/kaca arloji. Diges endapan yang terbentuk dengan suhu dibawah titik didih.
- Setelah dingin, endapan disaring dengan kertas bebas abu (Whatmann 40).
- Cuci beberapa kali dengan aquades hangat.
- Lipat kertas saring dan taruh didalam crucible yang telah ditimbang
- Panaskan dengan burner tetapi harus cukup udara selama pemanasan sampai kertas saring telah hangat.
- Keringkan dalam tanur sekitar 1 jam atau sampai mencapai berat konstan
- Percobaan dilakukan 3 kali.
- Hitung kadar sulfat ( $\text{SO}_4$ ) yang ada dalam sampel

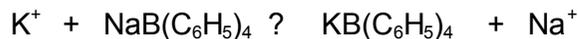
$$\text{Kadar SO}_4 \text{ ( \% )} = \frac{\text{Berat endapan BaSO}_4 \times \text{Mr SO}_4 / \text{Mr BaSO}_4 \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

#### 10.4. PENENTUAN KALIUM

Prinsip :

Kalium (K) dapat ditentukan secara gravimetri dengan cara mengendapkannya menggunakan natrium tetra fenil boron, (NaB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>) sebagai pereaksi pengendap.

Endapan yang terbentuk berupa kalium tetra fenil boron, KB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>, tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik seperti aseton.



Endapan dapat terbentuk dalam suasana yang sangat dingin dan sangat asam.

Tujuan :

Penentuan kadar K dalam air laut secara gravimetri dengan pereaksi pengendap natrium tetra fenil boron NaB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>.

Cara Kerja :

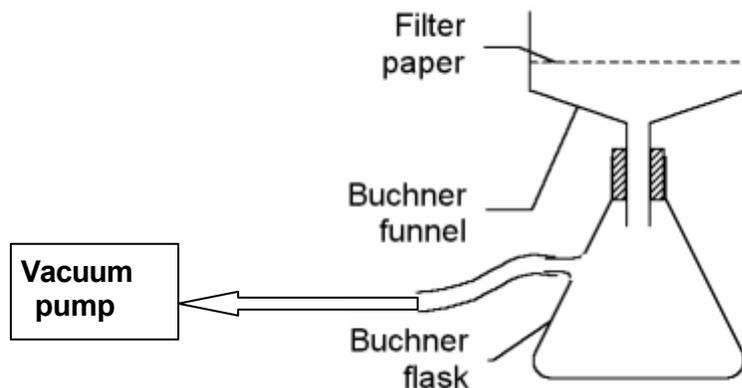
- Pipet 25,00 mL sampel air laut kedalam labu erlenmeyer 100 mL.
- Tambahkan 3,0 mL HCl pekat
- Ditaruh didalam ice-water bath selama 10 menit.
- Sekitar 10 mL larutan NaB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub> 1% dingin ditambahkan kedalam larutan diatas.
- Kocok sehingga merata sambil menutup erlenmeyer.
- Taruh kembali dalam ice-water bath beberapa menit.
- Endapan yang terbentuk disaring dengan sintered-glass crucible porosity no.4 (yang telah ditimbang). Sisa endapan

dan larutan yang ada pada erlenmeyer dicuci beberapa kali dengan air dingin dan dituangkan melalui crucible.

- Crucible yang berisi endapan dikeringkan dalam oven dengan suhu  $120^{\circ}\text{C}$  sampai mencapai berat konstan.
- Endapan yang terbentuk dapat dihitung
- Percobaan ini dilakukan 3 kali
- Hitung kadar kalium (K) dalam sampel tersebut.

Faktor konversi : 1 gram endapan = 0,1091 gram K.

$$\text{Kadar K (\%)} = \frac{\text{Berat endapan} \times \text{Ar K} / \text{Mr KB(C}_6\text{H}_5)_4 \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}}$$



Gambar 10.1. Sistem penyaringan endapan yang dibantu dengan pompa vakum.

## **BAB XI**

### **ANALISIS MIKROBIOLOGI**

Ada beberapa teknik dasar di dalam analisa mikrobiologi yang harus diketahui, meliputi : teknik transfer aseptis, Agar Slants (Agar miring), Turbiditas media broth (kekeruhan kaldu), Teknik Dilusi (pengenceran), Teknik Pour-Plate (lempeng tuang), Teknik Spread Plate (lempeng sebar), Teknik Streak Plate (lempeng gores). Selanjutnya yang akan dibahas hanya teknik transfer aseptis.

Teknik transfer aseptis adalah suatu metode atau teknik di dalam memindahkan atau mentransfer kultur bakteri dari satu tempat ke tempat lain secara aseptis agar tidak terjadi kontaminasi oleh mikroba lain ke dalam kultur. Teknik transfer aseptis ini sangat esensial dan kunci keberhasilan prosedur mikrobial yang harus diketahui oleh seorang yang hendak melakukan analisis mikrobiologi.

Beberapa aturan yang harus diketahui dan dipenuhi di dalam teknik transfer aseptis ini adalah sebagai berikut :

#### **Sebelum Pelaksanaan :**

- Singkirkan semua barang yang tidak diperlukan dari meja dan ruang kerja
- Kenakan pakaian atau jas laboratorium yang bersih dan higienis sebelum masuk ke dalam laboratorium
- Dianjurkan untuk mengenakan masker yang bersih dan higienis
- Kenakan penutup rambut yang bersih dan higienis
- Jangan sekali-kali meletakkan tabung dan peralatan laboratorium lainnya di luar laboratorium

#### **Sebelum dan Setelah Pelaksanaan :**

- Cuci tangan anda dengan bersih dan gunakan antiseptis

- Sanitasi dan desinfeksi ruang kerja (laboratorium dan sekitarnya) dengan desinfektan yang memadai, termasuk Laminar Air Flow dan Inkubator
- Sterilisasi semua alat dan bahan sebelum digunakan

**Ketika Pelaksanaan Kultur :**

- Jangan berbicara
- Bekerjalah di dekat api (pembakar bunsen) dan di dalam Laminar Air Flow
- Bukalah tabung atau cawan di atas api dan jauhkan dari hidung dan mulut anda
- Usahakan jangan meletakkan tutup (kapas penutup) tabung reaksi di atas lantai/alas meja atau laminar
- Miringkan tutup cawan petri yang akan dibuka sebagai penghalang antara kultur dengan mulut dan hidung anda
- Jangan buka tutup cawan petri terlalu lebar dan terlalu lama
- Bekerjalah dengan cepat

**Setelah Pelaksanaan :**

- Segera tutup semua tabung atau cawan yang masih terbuka
- Singkirkan segera semua peralatan atau bahan sisa yang sudah tidak digunakan lagi
- Bersihkan dan keringkan segera tumpahan-tumpahan media yang ada
- Sanitasi dan desinfeksi ulang ruang kerja (laboratorium anda)
- Lepas pakaian kerja dan jas laboratorium anda sebelum meninggalkan ruang kerja anda

Di dalam teknik transfer aseptis ada beberapa teknik yang perlu difahami, yaitu :

**1. *Inoculating* dengan jarum ose**

- a) Bakar jarum ose dari bagian pangkal dalam terus hingga ke bagian lup (ujung) sampai berpijar merah.

- b) Biarkan selama beberapa detik sampai pijar menghilang, kemudian segera ambil tabung reaksi yang berisi kultur bakteri, buka penutupnya dengan ketiga jari tengah, manis dan kelingking sedangkan jari telunjuk dan ibu jari memegang jarum ose.
- c) Bakar bibir tabung reaksi dengan cara memutar tabung sehingga semua bagian bibir tabung terkena api.
- d) Segera masukkan jarum ose ke dalam tabung reaksi, lalu segera keluarkan. Usahakan ketika memasukkan jarum ose jangan sampai menyentuh dinding tabung dan lakukan di dekat pembakar bunsen.
- e) Bakar kembali bibir tabung reaksi dan segera tutup. Ingat, jarum ose jangan dibakar kembali karena akan membunuh bakteri yang akan diinokulasikan.
- f) Ambil tabung reaksi lainnya yang akan diinokulasi, buka tutupnya dengan cara yang sama dengan cara (b) dan bakar bibirnya dengan cara yang sama dengan cara c
- g) Segera masukkan jarum ose ke dalam tabung tadi sebagaimana cara (d).
- h) Bakar bibir tabung reaksi dan tutup sebagaimana cara c.
- i) Bakar kembali jarum ose sebagaimana cara (a).
- j) Lakukan kembali dengan cara yang sama apabila diperlukan dilusi atau pengenceran.

## **2. Pipetting**

- a) Ambil pipet yang telah steril, buka pembungkusnya dan pasang katup karetnya.
- b) Bakar ujungnya dibakar atas bunsen selama beberapa detik. Jangan terlalu lama karena dapat merusak ujung pipet.
- c) Ambil tabung reaksi yang berisi kultur bakteri, buka penutupnya dengan kedua jari manis dan kelingking sedangkan jari telunjuk, jari tengah dan ibu jari memegang pipet.
- e) Segera masukkan pipet ke dalam tabung reaksi, tekan katup karet

penghisap tombol lalu segera keluarkan. Usahakan ketika memasukkan pipet jangan sampai menyentuh dinding tabung dan lakukan di dekat pembakar bunsen.

f) Bakar kembali bibir tabung reaksi dan segera tutup.

g) Ambil tabung reaksi lainnya yang akan diinokulasi, buka tutupnya dengan cara yang sama dengan cara (b) dan bakar bibirnya dengan cara yang sama dengan cara c.

h) Segera masukkan pipet ke dalam tabung tadi, kemudian keluarkan cairan yang telah diinokulasi dari pipet dengan menekan tombol [E].

i) Bakar bibir tabung reaksi dan tutup sebagaimana cara c.

j) Pindahkan pipet dan ganti dengan pipet baru apabila akan melakukan *pipetting* kembali.

k) Lakukan kembali dengan cara yang sama apabila diperlukan dilusi atau pengenceran.

### **c) Alcohol Flaming**

*Biasanya digunakan untuk meletakkan kertas cakram atau instrumen lain ke dalam cawan petri yang berisi media.*

a) Ambil forcep, celupkan ujungnya ke dalam alkohol, lalu segera bakar ujungnya di atas bunsen selama beberapa detik secara mendatar. Ingat, jangan miring

b) Ambil kertas cakram steril atau instrumen lainnya dengan forcep tadi.

c) Ambil tabung reaksi yang berisi zat antimikrobia, celupkan kertas cakram tadi ke dalam cairan di dalam tabung reaksi.

d) Ambil cawan petri yang telah berisi biakan bakteri di dalam agar, buka penutupnya dengan cara memiringkan beberapa derajat hingga hanya pada satu sisi bagian saja yang terbuka. Ingat jangan terlalu lebar membukanya atau me mbuka seluruh tutupnya dari cawan.

f) Segera masukkan kertas cakram steril atau instrumen lainnya

dengan forsep secara hati-hati agar tidak merusak permukaan agar.  
Lakukan di dekat pembakar bunsen.

g) Segera tutup dan bakar kembali bibir cawan.

h) Lakukan kembali dengan cara yang sama apabila diperlukan.

## **BAB XII**

### **ANALISIS PROKSIMAT**

Protein, karbohidrat, dan air merupakan kandungan utama dalam bahan pangan. Protein dibutuhkan terutama untuk pertumbuhan dan memperbaiki jaringan tubuh yang rusak. Karbohidrat dan lemak merupakan sumber energi dalam aktivitas tubuh manusia, sedangkan garam-garam mineral dan vitamin juga merupakan faktor penting dalam kelangsungan hidup. Lemak yang dioksidasi secara sempurna dalam tubuh menghasilkan 9,3 kalori/g lemak, sedangkan protein dan karbohidrat masing-masing menghasilkan 4,1 dan 4,2 kalori/g.

Minyak dan lemak terdiri atas trigliserida campuran, yang merupakan ester dari gliserol dan asam lemak rantai panjang. Minyak dan lemak dapat diperoleh dari hewan maupun tumbuhan. Minyak nabati terdapat dalam buah-buahan, kacang-kacangan, biji-bijian, akar tanaman, dan sayuran. Trigliserida dapat berwujud padat atau cair, bergantung pada komposisi asam lemak yang menyusunnya. Sebagian besar minyak nabati berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh, sedangkan lemak hewani pada umumnya berbentuk padat pada suhu kamar karena banyak mengandung asam lemak jenuh.

Kacang-kacangan (Leguminoceae) merupakan bahan pangan yang kaya akan protein dan lemak. Agar asam-asam lemak dalam kacang-kacangan dapat ditentukan, terlebih dahulu dilakukan ekstraksi minyak dan lemak antara lain ekstraksi dengan pelarut (solvent extraction) menggunakan heksan dan seperangkat soklet. Selanjutnya dilakukan esterifikasi untuk mengubah asam-asam lemak trigliserida menjadi bentuk ester. Perubahan bentuk ini dilakukan untuk mengubah bahan yang nonvolatil menjadi volatil.

Untuk menentukan jenis asam lemaknya dapat digunakan kromatografi gas. Pemisahan akan terjadi untuk setiap komponen asam lemak yang terdapat pada kacang-kacangan mengikuti ukuran panjang rantai asam lemak, dari yang terkecil sampai yang terbesar yang dibawa oleh fase gerak yang digunakan (H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>).

### **BAHAN DAN ALAT**

Bahan baku yang digunakan adalah kacang tanah, kacang hijau, kedelai, kacang tunggak, dan kacang merah. Bahan kimia dan pereaksi yang digunakan adalah asam sulfat 1,25%, natrium hidroksida 3,25%, heksan, asam sulfat pekat, asam borat 4%, indikator conway, asam klorida 0,1 N, natrium hidroksida dalam metanol, boron triflorida 20%, natrium klorida jenuh dan campuran selen.

Alat yang digunakan dalam analisis ini adalah soklet, tanur, oven, labu destruksi, seperangkat alat destilasi, penangas listrik, rotavapor, desikator, kertas saring, dan alat gelas lain serta kromatografi gas merek Hitachi-263.50 dengan detektor FID.

### **Metode Analisis**

Pada tahap persiapan contoh, contoh dihaluskan menjadi serbuk halus agar homogen.

Analisis contoh mencakup analisis proksimat dan analisis asam lemak. Analisis proksimat meliputi kadar air, kadar abu, lemak, protein, dan serat kasar. Kadar air pada contoh ditetapkan dengan menggunakan oven pada suhu 105<sup>o</sup>C sampai tercapai bobot tetap. Kadar abu dianalisis dengan cara pengabuan kering dalam tanur, pada pemanasan suhu 500-600<sup>o</sup>C selama 6 jam. Penetapan kandungan lemak dilakukan dengan metode soklet dan larutan heksan sebagai pelarut. Protein ditetapkan dengan metode mikro Kjeldhal dan larutan asam klorida sebagai penitar, sedangkan penetapan serat kasar dengan cara hidrolisis contoh dengan larutan asam dan basa encer.

## ANALISIS PROKSIMAT DAN ASAM LEMAK PADA BEBERAPA KOMODITAS KACANG-KACANGAN

Analisis asam lemak bertujuan untuk mengetahui kandungan asam lemak dalam bahan yang beberapa di antaranya bermanfaat bagi tubuh karena mengandung omega 3, 6, dan 9. Analisis asam lemak dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap persiapan dan analisis. Tahap persiapan meliputi hidrolisis dan esterifikasi menggunakan pereaksi natrium hidroksida dalam metanol dan katalis boron triflorida sehingga dihasilkan ester asam lemak dalam pelarut heksan. Selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan kromatografi gas yang telah diatur kondisinya.

### **Cara Kerja**

#### **Penentuan Kadar Air**

Cawan porselin dibersihkan dan dipanaskan dalam oven, lalu ditimbang sebagai bobot kosong. Contoh yang telah dihomogenkan ditimbang sebanyak 3 g dalam cawan dinyatakan sebagai bobot awal, kemudian cawan tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3-5 jam. Setelah proses pengeringan, cawan dikeluarkan dari oven dan dimasukkan ke dalam desikator, dan setelah dingin ditimbang dan dikeringkan kembali dalam oven sampai diperoleh bobot tetap sebagai bobot akhir.

$$\text{Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot cawan kosong  
b = bobot cawan dan contoh sebelum pengabuan  
c = bobot cawan dan contoh setelah dioven

#### **Kadar Abu**

Cawan yang telah dibersihkan dipanaskan dalam tanur pada suhu 100°C selama 2 jam lalu ditimbang sebagai bobot kosong. Contoh yang telah diuapkan ditimbang teliti  $\pm 1$  g dalam cawan dan

dinyatakan sebagai bobot awal, kemudian cawan tersebut dimasukkan ke dalam tanur suhu 600°C selama 5 jam. Setelah pemanasan cawan dimasukkan ke dalam desikator, dan setelah dingin ditimbang dan dipanaskan beberapa kali sampai diperoleh bobot tetap sebagai bobot akhir.

$$\text{Kadar abu} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot cawan kosong

b = bobot cawan dan contoh

c = bobot cawan dan contoh setelah pengabuan

### **Kadar Protein**

Sampel ditimbang secara teliti sebanyak 200 mg, lalu dimasukkan ke dalam labu Kjeldhal. Selanjutnya ditambahkan selen dan 10 ml asam sulfat pekat dan didestruksi pada pemanas selama 2-3 jam atau sampai larutan menjadi jernih. Setelah proses destruksi lalu dipindahkan ke dalam labu destilasi kemudian diperiksa kandungan nitrogennya dengan menggunakan alat kjeltek.

$$\text{Kadar protein} = \frac{b \times 6,25 \times 14}{a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot contoh

b = volume HCl yang digunakan

6,25 = faktor konversi dari nitrogen ke protein

14 = Ar nitrogen

### **Kadar Lemak**

Sampel ditimbang 3 g lalu dimasukkan ke thimble. Labu lemak yang telah bersih dimasukkan ke dalam oven, lalu ditambahkan batu didih dan ditimbang sebagai bobot kosong.

Thimble dimasukkan ke dalam soklet, kemudian labu lemak dihubungkan dengan soklet dan ditambahkan pelarut heksan 150 ml melewati soklet. Labu lemak dan soklet dihubungkan dengan

penangas dan diekstrak selama 6 jam. Setelah ekstraksi selesai, labu lemak dievaporasi untuk menghilangkan pelarut. Selanjutnya labu lemak dimasukkan ke dalam oven 1 suhu 105<sup>o</sup>C selama 1 jam. Setelah dingin ditimbang sebagai bobot akhir (bobot labu dan lemak).

$$\text{Kadar lemak} = \frac{c - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot contoh

b = bobot labu lemak dan labu didih

c = bobot labu lemak, batu didih dan lemak

### **Serat Kasar**

Contoh yang telah digunakan pada penetapan lemak ditimbang dengan teliti  $\pm$  500 mg lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 100 ml asam sulfat 1,25% dan dipanaskan sampai mendidih. Setelah 1 jam ditambahkan 100 ml natrium hidroksida 3,25%, dipanaskan kembali sampai mendidih selama 1 jam, kemudian didinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah diketahui bobotnya. Endapan dicuci dengan asam sulfat encer dan alkohol, lalu kertas saring dan endapan dikeringkan dalam oven dan ditimbang.

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{b - c}{a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot contoh

b = bobot endapan

c = bobot abu

Pada Table 12.1 disajikan contoh hasil analisis kandungan beberapa senyawa dalam kacang-kacangan.

**Tabel 12.1. Hasil analisis proksimat pada sampel kacang-kacangan (%)**

Jenis	Protein	Lemak	Kadar Air	Kadar abu	Serat kasar
Kedelai	36,83	17,95	7,55	7,55	2,63
Kacang hijau	23,11	1,74	11,05	11,05	3,12
Kacang tanah	23,97	45,15	4,57	4,57	2,35
Kacang tunggak	25,53	1,67	11,64	11,64	2,76
Kacang merah	23,33	1,87	12,10	12,10	3,02

### **Asam Lemak**

Sampel (minyak) ditimbang 0,2 g dalam tabung reaksi tertutup, kemudian ditambahkan 2 ml natrium hidroksida dalam metanol, dipanaskan pada suhu 80°C selama 20 menit, kemudian diangkat dan dibiarkan dingin. Selanjutnya ditambahkan 2 ml larutan boron trifluorida 20% dan dipanaskan kembali selama 20 menit, kemudian diangkat, dibiarkan dingin dan ditambahkan 2 ml natrium klorida jenuh serta 2 ml larutan heksan. Setelah itu campuran dikocok sampai merata, lalu lapisan heksannya diambil dan dimasukkan ke tabung uji (evendop).

Kondisi alat kromatografi gas yang digunakan untuk analisis asam lemak adalah:

Jenis alat (GC) : Hitachi 263-50	Suhu awal : 150°C
Detektor : Detektor ionisasi nyala	Suhu akhir : 180°C
Jenis kolom: DEGS	Suhu injektor : 200°C
Laju alir nitrogen : 1 kgf/cm <sup>2</sup>	Suhu detektor : 250°C
Laju alir hidrogen: 0,5 kgf/cm <sup>2</sup>	Volume injek : 2 µl

Hasil preparasi kemudian diinjeksikan ke alat kromatografi gas ketika suhu menunjukkan 150°C. Tombol start pada rekorder dan alat ditekan, dan hasilnya akan keluar berupa kromatogram. Selanjutnya dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif.

Berdasarkan kromatogram yang diperoleh, kemudian dilakukan pencocokan waktu retensi yang sama atau mendekati waktu retensi standar asam lemak. Kadar asam lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar asam lemak (\%)} = \frac{L_c \times C_s \times V}{L_s \times b} \times 100 \%$$

Keterangan :  $L_c$  = luas area contoh

$L_s$  = luas area standar

$C_s$  = konsentrasi standar

$V$  = volume akhir

$b$  = bobot contoh

Tabel 11. 2. Hasil analisis asam lemak pada beberapa contoh kacang-kacangan

Jenis kacang	Kadar Asam lemak ( % )				
	Laurat	Meristat	Palmitat	Stearat	Oleat
Kedelai	1,84	3,49	6,28	8,11	10,60
Kacang hijau	0,12	0,23	13,34	0,63	83,89
Kacang tanah	0,75	0,84	25,39	0,88	60,31
Kacang tunggak	ttd	0,30	13,39	0,23	51,28
Kacang merah	0,25	0,66	23,64	0,95	68,19
	0,22	1,08	13,70	1,86	20,42

## **BAB XIII**

### **ANALISIS SECARA ELEKTROKIMIA**

Pengujian/prosedur analisis secara elektrokimia yang diperlukan untuk menganalisis mutu dari berbagai bahan/produk pangan, tanaman, sampel air, cairan. Pengujian elektrokimia ini meliputi pH, potential, konduktivitas, oksigen terlarut (DO), dan salinitas.

#### 13.1. Menyiapkan standar

- a. Bahan-bahan untuk standar diidentifikasi sesuai dengan metode standar dan persyaratan keamanan.
- b. Bahan kimia standar ditimbang, dilarutkan, dan ditera volumenya sesuai dengan prosedur pembuatan standar yang ditetapkan.
- c. Sifat-sifat standar dicatat, dibandingkannya dengan spesifikasi dan perbedaan yang ada dicatat dan dilaporkan

#### 13.2. Menguji sampel

- a. Sampel ditimbang atau diukur sesuai dengan jenis pengujian
- b. Larutan pengkalibrasi dipilih dan disiapkan
- c. Peralatan dinyalakan, dikalibrasi dan dioperasikan sesuai dengan instruksi kerja alat
- d. Larutan sampel diukur sesuai dengan instruksi kerja alat
- e. Peralatan dimatikan sesuai dengan instruksi kerja alat

Persiapan dari contoh meliputi proses seperti : penggilingan, penghalusan, penyiapan pelarutan cakram/*disc* pengabuan, pereflukan dan pengekstrasian, penyaringan, penguapan, flokulasi, pengendapan dan sentrifugasi/pemusingan.

Instrumen atau alat pengukur yang digunakan untuk menganalisis sebagaimana dibawah ini :

- a. pH meter
- b. Potentiometer
- c. Konduktivimeter
- d. DO-meter
- e. Salinometer

### **13.3. Kebijakan/Prosedur yang Tersedia**

Prosedur ini meliputi :

- a. Manual peralatan
- b. Prosedur menyalakan, mengoperasikan dan mematikan peralatan
- c. Jadwal kalibrasi dan pemeliharaan peralatan

Standar yang relevan meliputi bagian dari legalisasi kesehatan dan keselamatan pekerja, prosedur dan peraturan keselamatan perusahaan,

### **13.4. Pengetahuan dan Keterampilan Penunjang**

- a. Pembuatan larutan standar
- b. Pembuatan dan penyiapan sample uji
- c. Prinsip kerja dari peralatan/instrumen yang digunakan

Kemampuan untuk menggunakan metode instrumental untuk uji bahan-bahan, menginterpretasikan dan menggunakan data dengan benar, dan melaporkan data pada format yang sesuai.

- a. Menyalakan, *men-set-up* dan mematikan peralatan
- b. Memeriksa status kalibrasi peralatan dan melakukan kalibrasi setiap akan menggunakan peralatan elektrokimia
- c. Mempersiapkan dan menguji contoh menggunakan prosedur yang sesuai untuk contoh bahan alam
- d. Mengoptimasikan dan menggunakan peralatan elektrokimia sesuai dengan standar perusahaan
- e. Menghitung hasil dalam satuan yang sesuai
- f. Menggunakan pengetahuan teoritis untuk menginterpretasikan data dan menggambarkan kesimpulan yang relevan

- g. Mengidentifikasi adanya hasil yang keluar dari spesifikasi normal
- h. Menelusuri dan menemukan sumber penyebab
- i. Mengkomunikasikan masalah-masalah ke supervisor atau pelayanan teknis di luar
- j. Mencatat dan mengkomunikasikan hasil sesuai dengan prosedur
- k. Menjaga keamanan, integritas, kemampuan telusur dan identitas contoh, subcontoh dan dokumentasi

## **BAB XIV**

### **UJI ORGANOLEPTIK**

Uji organoleptik adalah kegiatan yang dilakukan untuk mengetahui rasa dan bahu (kadang-kadang termasuk penampakan) dari suatu produk makanan, minuman, obat dan produk lain.

Dalam melakukan pengujian tersebut para peneliti menggunakan manusia sebagai obyek yang biasa dinamakan dengan panelis.

#### **14.1. Persiapan untuk melaksanakan uji organoleptik, meliputi :**

- a. Prosedur dan metode pengujian telah ditentukan
- b. Kriteria pengujian telah ditetapkan
- c. Form isian respon telah disiapkan
- d. Instruksi telah dimengerti untuk menjamin pengujian dilakukan sesuai dengan spesifikasi bahan
- e. Sampel yang akan uji telah diketahui
- f. Persyaratan dan kaidah psikologis dalam pengujian telah dipahami

#### **14.2. Melaksanakan uji organoleptik**

- a. Prosedur pengujian dilaksanakan sesuai dengan instruksi
- b. Sampel dianalisa sesuai dengan rencana prosedur dan kriteria yang telah ditetapkan

#### **14.3. Mencatat dan melaporkan hasil**

- a. Hasil/respon dilaporkan pada form isian yang tersedia dengan tepat
- b. Lembar data responden/panelis diserahkan kepada petugas yang sesuai

#### **14.4. Kebijakan/Prosedur yang Berkaitan**

- a. Pekerjaan dilaksanakan sesuai dengan kebijakan dan prosedur perusahaan/instansi berdasarkan informasi yang dibutuhkan mencakup informasi spesifikasi produk maupun penerimaan konsumen.
- b. Tujuan pengujian organoleptik serta informasi yang akan diambil dari pengujian organoleptik telah ditetapkan berdasarkan kebutuhan perusahaan/instansi.
- c. Informasi tata cara kerja meliputi SOP pengujian, spesifikasi, kriteria analisis organoleptik dan pelaporan.
- d. Analisis organoleptik dilakukan secara individu atau panel dan diaplikasi pada material/*ingredient* dan/atau produk akhir.

#### **14.5.. Peralatan dan Fasilitas yang Diperlukan**

- a. Laboratorium organoleptik dengan fasilitasnya (ruang penyajian, persiapan sampel dan pengujian).
- b. Kriteria/parameter organoleptik (penampakan, flavor, aroma dan tekstur).
- c. Form isian/kuesioner.
- d. Alat-alat tulis.

#### **14.6. Prosedur Penilaian**

Unit ini harus dinilai melalui :

- a. Keterampilan dalam memberi penilaian terhadap sampel uji
- b. Kesesuaian dalam pemberian respon sesuai dengan instruksi yang diberikan
- c. Ketepatan pemberian respon
- d. Kemampuan penunjang, berupa jawaban terhadap pertanyaan-pertanyaan lisan dan tertulis yang standar
- e. Kemampuan untuk menilai sampel
- f. Kemampuan untuk mengikuti prosedur pengujian sesuai instruksi

g. Kemampuan untuk menyelesaikan seluruh rangkaian prosedur pengujian

h. Kemampuan untuk mengisi data respon dalam form isian

#### **14.7. Pengetahuan dan Keterampilan Penunjang**

Pelaksana uji harus menunjukkan bukti pengetahuan dan keterampilan yang dibutuhkan, yaitu :

a. Pengetahuan prinsip uji organoleptik meliputi pengertian bagaimana mekanisme proses penginderaan selama proses pencicipan dan penciuman seperti rasa asam, manis, asin dan pahit, bagaimana perbedaan tersebut dapat terdeteksi. Juga meliputi proses deteksi *mouthfeel* dan penampakan.

b. Pengetahuan sistem dan prosedur uji organoleptik, yang meliputi pengertian penggunaan sampel *reference*, peran individu dalam analisis organoleptik dan bagaimana sistem validasi dalam menganalisa hasil.

c. Pengetahuan kriteria spesifik yang digunakan untuk mengevaluasi bahan/produk dan jenis deskripsi terkait.

d. Pengetahuan tentang efek personel yang bertugas terhadap kemampuan menganalisis. Meliputi kepekaan stimulus dan kondisi yang dapat mempengaruhi kejenuhan indra seseorang.

e. Pengetahuan kondisi pengujian yang tepat untuk melaksanakan pengujian organoleptik.

f. Pengetahuan tentang komponen sampel produk/bahan yang berkontribusi terhadap flavor, aroma, penampakan dan tekstur.

g. Pengetahuan tentang hal-hal yang menyebabkan terjadinya keragaman hasil.

h. Pengetahuan tentang prosedur dan tanggung jawab untuk melakukan *recording* dan pelaporan informasi uji organoleptik.

i. Pengetahuan uji ambang rasa, meliputi empat (4) rasa dasar, yaitu : **rasa asam, manis, asin dan pahit**

## BAB XV

### SPEKTROFOTOMETRI UV-TAMPAK

#### 15.1 RADIASI ELEKTROMAGNETIK

##### 15.1.1 Cahaya

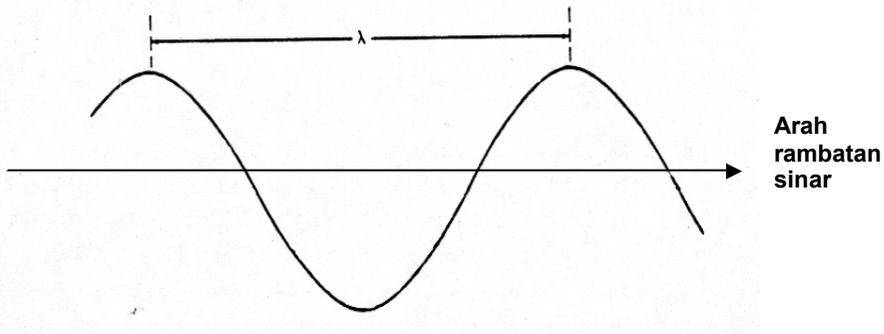
Cahaya adalah radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang. Seperti semua gelombang, kecepatan cahaya, panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai :

$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :  $C$  = kecepatan cahaya (  $3 \times 10^8$  m/s)

$V$  = frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

$\lambda$  = panjang gelombang dalam meter



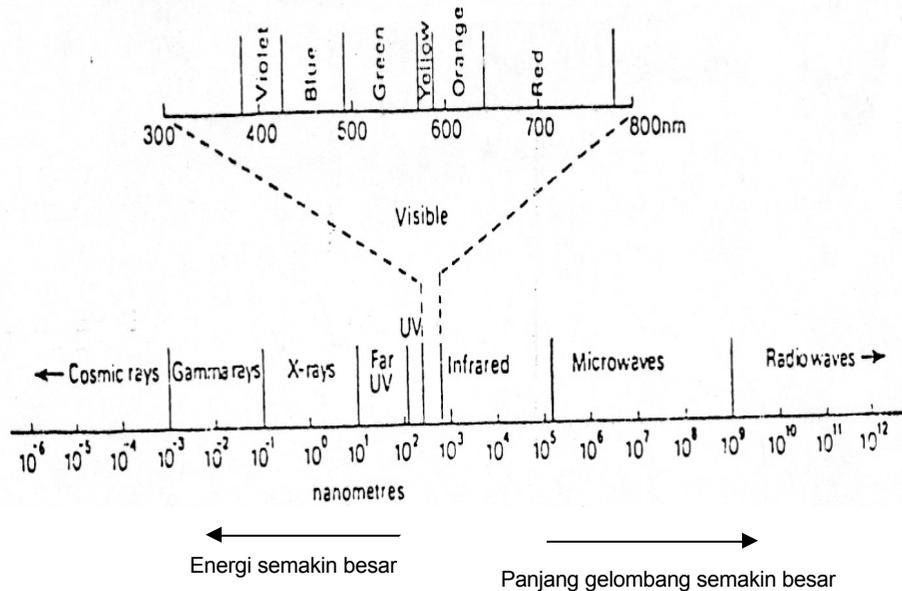
Gambar 15.1. Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang  $\lambda$

Cahaya/sinar tampak terdiri dari suatu bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitif. Radiasi dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna yang berbeda, sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar putih. Sinar putih memiliki panjang gelombang mencakup 400-760 nm ( nm). Perkiraan panjang gelombang dari berbagai warna adalah sebagai berikut :

Ultraviolet	< 400 nm
Violet	400-450 nm
Biru	450-500 nm
Hijau	500-570 nm
Kuning	570-590 nm
Oranye	590-620 nm
Merah	620-760 nm
Infra merah	>760 nm

Keterangan : 1 nano meter (nm) =  $10^{-9}$  meter (m)

Spektrometri molekular (baik kualitatif dan kuantitatif) bisa dilaksanakan di daerah sinar tampak, sama halnya seperti di daerah yang sinar ultraviolet dan daerah sinar inframerah.



Gambar 15.2. Spektrum gelombang elektromagnetik lengkap

### 15.1.2 Warna

Persepsi visual tentang warna dibangkitkan dari penyerapan selektif panjang gelombang tertentu pada peristiwa penyinaran

obyek berwarna. Sisa panjang gelombang dapat diteruskan (oleh obyek transparan) atau dipantulkan (oleh obyek yang buram) dan dilihat oleh mata sebagai warna dari pancaran atau pantulan cahaya. Oleh karena itu obyek biru tampak berwarna biru sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari cahaya dari daerah oranye-merah. Sedangkan obyek yang merah tampak merah sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari daerah ultraviolet-biru.

Bagaimanapun, di dalam spektrometri molekul tidak berkaitan dengan warna dari suatu senyawa, yaitu warna yang dipancarkan dan dipantulkan, namun berkaitan dengan warna yang telah dipindahkan dari spektrum, seperti panjang gelombang yang telah diserap oleh unsur di dalam larutan.

### 15.1.3 Energi gelombang

Energi gelombang seperti bunyi dan air ditentukan oleh amplitudo dari getaran (misal tinggi gelombang air) tetapi dalam radiasi elektromagnetik energi ditentukan oleh frekuensi  $\nu$ , dan *quantized*, terjadi hanya pada tingkatan tertentu :

$$E = h \nu$$

dimana :  $h$  = konstanta Planck,  $6,63 \times 10^{-34}$  J.s

## 15.2 ABSORPSI RADIASI OLEH MOLEKUL

Pada daerah sinar ultraviolet dan sinar tampak, energi diperoleh dari transisi elektronik. Energi yang diserap oleh molekul digunakan untuk menaikkan energi elektron dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi.

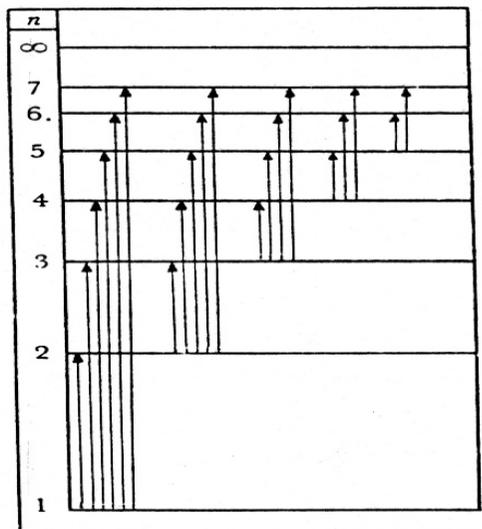
Transisi elektron secara umum terjadi antara orbital ikatan (*bonding*) atau *lone-pair* dengan orbital anti ikatan (*anti-bonding*) tak terisi. Penyerapan dari panjang gelombang tersebut kemudian menjadi ukuran dari pemisahan tingkat energi dari orbital-orbital terkait.

Tabel 15.1. Panjang gelombang berbagai warna cahaya

? (nm)	Warna yang teradsorbsi	Warna tertransmisi *) (komplemen)
400-435	Violet	Hijau-kuning
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-hijau	Oranye
490-500	Hijau-biru	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Hijau-kuning	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-650	Oranye	Biru-hijau
650-760	Merah	Hijau-biru

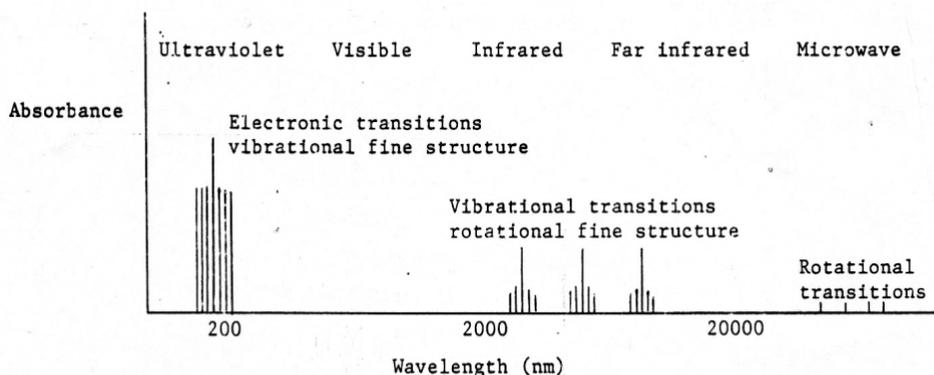
\*) sama dengan warna larutannya

Eksitasi dari elektron diikuti oleh perubahan vibrasi dan rotasi nomor kuantum sedemikian hingga yang terjadi adalah suatu penyerapan menjadi suatu puncak yang lebar, yang berisi vibrasi dan rotasi.



Gambar 15.3. Transisi elektron molekul dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi.

Dalam kaitan dengan interaksi dari solut dengan molekul bahan pelarut ini pada umumnya dikaburkan, dan diamati sebagai kurva yang bagus. Dalam fase uap, dalam bahan pelarut non-polar, dan dengan puncak tertentu misalnya benzene dengan pita 260 nm, vibrasi struktur halus terkadang teramati.



**Gambar 15.4. Vibrasi dan rotasi molekul**

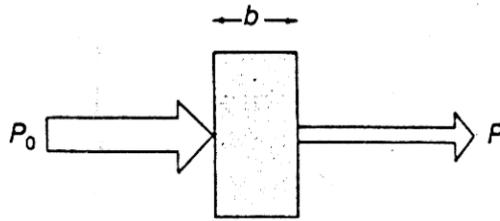
Pada daerah sinar inframerah (2.500 -1.5000 nm atau 2,5-15  $\mu\text{m}$ ) energi diserap oleh vibrasi atau rotasi pada bagian tertentu dari molekul.

### 15.3. TEORI SPEKTROMETRI ABSORPSI MOLEKUL

#### 15.3.1 Hukum Fotometri (Lambert-Beer)

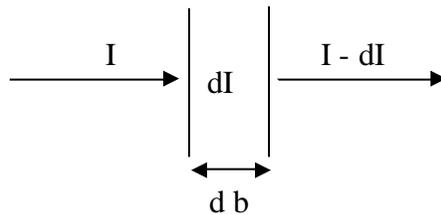
Metode analisa kuantitatif didasarkan pada absorpsi radiasi oleh suatu unsur yang mengabsorpsi dan melibatkan pengukuran intensitas cahaya atau kekuatan radiasi. Kita sekarang mempertimbangkan faktor yang mempengaruhi kekuatan radiasi dari cahaya yang dipancarkan melalui media absorpsi.

Anggap ketebalan sel absorpsi  $b$  dan konsentrasi  $c$ . Suatu berkas cahaya dari radiasi monokromatik (yaitu panjang gelombang yang tunggal) dari kekuatan radiant  $I_0$  dalam larutan, dan suatu berkas cahaya yang muncul dari kekuatan radiasi  $I$  dipancarkan oleh larutan.



**Gambar 15.5. Absorpsi oleh larutan pada konsentrasi c**

Kenaikan berurutan pada jumlah molekul absorbing yang identik di alur berkas cahaya dari radiasi monokromatic menyerap pecahan energi radiasi yang sama.



**Gambar 15.6. Penurunan intensitas radiasi dengan bertambahnya ketebalan larutan**

Jika penambahan ketebalan dari alur adalah  $db$  dan penurunan kekuatan radiasi yang melewati ketebalan adalah  $dI$  maka :

$$dI \propto I db$$

$$\text{yaitu } dI = -kI db$$

Integrasi dari total ketebalan  $b$

$$\int \frac{dI}{I} = \int -k db$$

$$\text{yaitu } \ln I = -kb + w$$

$$\text{sekarang jika : } b = 0, I = I_0$$

$$\therefore w = \ln I_0$$

$$\therefore \ln I = -kb + \ln I_0$$

$$\text{yaitu } \ln \frac{I}{I_0} = -kb$$

Hukum ini dikenal sebagai Hukum Lambert dan menghubungkan ketebalan dari sel sampel (kuvet) pada perbandingan kekuatan radiasi berkas cahaya yang masuk dan berkas cahaya yang keluar, dan menyatakan :

**“Ketika radiasi monokromatik lewat melalui suatu medium yang transparan yang berisi suatu unsur absorbing, tingkat penurunan kekuatan radiasi dengan ketebalan dari medium adalah setara dengan kekuatan radian dari suatu radiasi “**

Dengan alasan yang sama, untuk perubahan penambahan konsentrasi dari unsur absorbing, dc ,

$$\ln \frac{I}{I_0} = -k'c$$

Hukum ini disebut Hukum Lambert-Beer, dan berlaku untuk unsur yang menyerap cahaya dengan menghubungkan konsentrasi dari jenis absorbing pada perbandingan kekuatan radiant berkas cahaya yang masuk dan yang keluar :

**“Ketika radiasi monokromatik lewat melalui suatu medium yang transparan yang berisi suatu unsur absorbing, tingkat penurunan kekuatan radian dengan konsentrasi jenis unsur absorbing adalah sebanding dengan kekuatan radian dari suatu radiasi “**

Hukum Lambert dan Hukum Lambert-Beer biasanya dikombinasikan dalam suatu hubungan tunggal sebagai dasar untuk semua penentuan kuantitatif.

$$\ln \frac{I}{I_0} = -K b c \quad (\text{dimana } K \text{ adalah kombinasi } k \text{ dan } k')$$

$$\log_{10} \frac{I}{I_0} = -\frac{1}{2,303} K b c$$

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = a b c$$

Ini disebut Hukum Lambert-Beer. Hukum ini hanya berlaku untuk

radiasi monokromatik.

Karena jumlah kekuatan radiant  $I_0$  dan  $I$  merupakan sebuah perbandingan, ada beberapa unit yang mungkin digunakan. Jika ketebalan, yang disebut panjang sampel dalam bentuk centimeter dan konsentrasi,  $c$  dalam gram unsur absorbing per satu liter larutan, kemudian konstanta  $a$  disebut absorptivitas (kadang disebut koefisien ekstensi)

Biasanya,  $c$  ditetapkan dalam konsentrasi molar, dengan  $b$  dalam sentimeter. Dalam hal ini Hukum Lambert-Beer ditulis sebagai

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = ? b c$$

dimana  $?$  disebut absorptivitas molar (atau disebut koefisien ekstensi molar). Absorptivitas molar memiliki satuan  $L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Jumlah  $\log(I_0/I)$  didefinisikan sebagai absorbansi dan diberi simbol  $A$ , sehingga Hukum Lambert-Beer umumnya ditulis sebagai :

$$A = ? b c$$

Spektrofotometer modern dikalibrasi secara langsung dalam satuan absorbansi. Dalam beberapa buku lama  $\log I_0/I$  disebut densitas optik dan  $I$  digunakan sebagai ganti simbol  $P$ )

Perbandingan  $I/I_0$  disebut transmitans ( $T$ ) dan beberapa instrumen disajikan dalam % transmitans,  $(I/I_0) \times 100$ . Sehingga hubungan absorbansi dan transmitans dapat ditulis sebagai :

$$A = - \log T$$

Dengan menggunakan beberapa instrumen, hasil pengukuran tercatat sebagai transmitans dan absorbansi dihitung dengan menggunakan rumus tersebut.

Dari pembahasan di atas dapat dikatakan bahwa konsentrasi dari suatu unsur berwarna harus sebanding dengan intensitas warna larutan. Ini adalah dasar pengukuran yang menggunakan pembandingan visual di mana intensitas warna dari suatu larutan dari suatu unsur yang konsentrasinya tidak diketahui dibandingkan

dengan intensitas warna dari sejumlah larutan yang diketahui konsentrasinya.

### 15.3.2 Variasi Absorpsiivitas dengan panjang gelombang

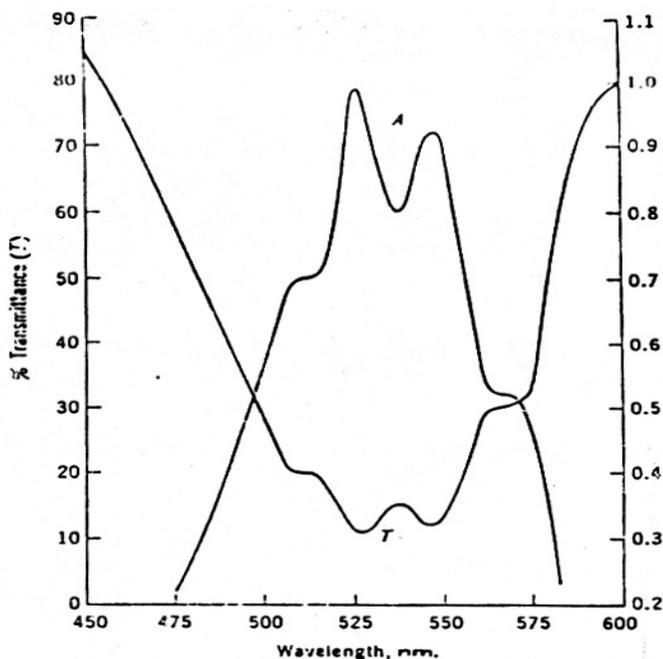
Absorpsivitas ( $a$ ) atau absorpsivitas molar (?) adalah konstan (tetap) untuk suatu unsur atau senyawa pada panjang gelombang tertentu. Ini merupakan ukuran seberapa kuat suatu unsur menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu.

Karena suatu unsur akan menyerap cahaya lebih kuat pada panjang gelombang tertentu daripada yang lainnya, dikatakan absorpsivitas bervariasi sesuai dengan panjang gelombang.

Absorpsivitas akan maksimum pada panjang gelombang absorbansi maksimum (transmitansi minimum)

### 15.3.3 Spektrum absorpsi

Spektrometri molekular dapat digunakan dalam penentuan kualitatif untuk memberikan informasi struktural, seperti adanya



**Gambar 15.7.**  
Spektrum dari larutan kalium permanganat yang mengandung 20 ppm Mn

gugus fungsional dalam suatu unsur tertentu. Informasi ini dapat diperoleh dengan mengukur besarnya radiasi yang diserap oleh suatu unsur pada panjang gelombang tertentu.

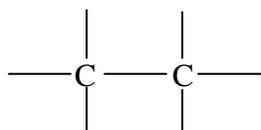
Hasil pengukuran berupa grafik (diagram) antara absorbansi (atau transmitans) versus panjang gelombang inilah yang disebut spektrum absorpsi. Untuk analisis kuantitatif, panjang gelombang yang paling sesuai akan menunjukkan absorbansi maksimum (transmitans minimum) dari suatu larutan.

### 15.3.4 Teori dasar absorbansi UV dan sinar tampak.

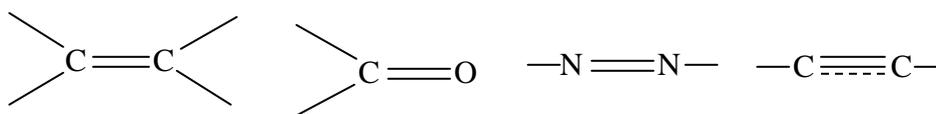
Absorpsi radiasi oleh suatu sampel organik di daerah ultraviolet dan sinar tampak, akan bersamaan dengan perubahan keadaan elektronik dalam molekul yaitu energi disediakan untuk mempromosikan energi dari keadaan dasar ke orbital energi yang lebih tinggi (keadaan tereksitasi) yang dikenal sebagai orbital anti-bonding.

Ada 3 jenis orbital keadaan dasar yang mungkin terlibat :

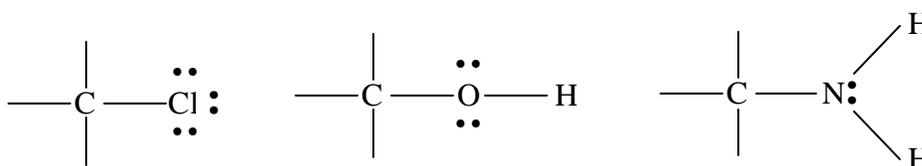
a. Orbital molekular ikatan s



b. Orbital molekular ikatan p



c. Orbital atomik non-bonding n



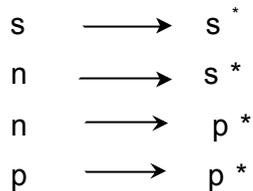
Dua jenis orbital anti-bonding yang terlibat dalam transisi adalah :

(1) orbital  $s^*$  (sigma star)

(2) orbital  $p^*$  (pi star)

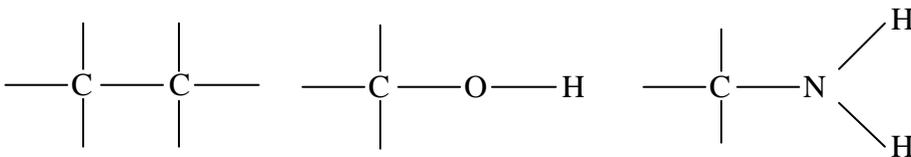
**Catatan** : Tidak ada orbital anti bonding  $n^*$  karena elektron-elektron ini tidak membentuk ikatan.

Transisi yang terjadi dalam absorpsi sinar UV dan sinar tampak adalah :

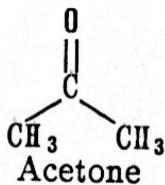


transisi  $s \longrightarrow s^*$  dan  $n \longrightarrow s^*$  memerlukan energi yang besar dan oleh karena itu terjadi pada UV jauh atau lemah pada daerah 180-240 nm.

Sebagai konsekuensi kelompok-kelompok jenuh seperti :



tidak akan terjadi absorpsi yang kuat pada daerah UV – tampak.



$\lambda_{\text{Max}}$

290 nm



Benzene

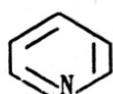


254 nm

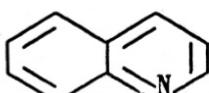
Transisi  $n \rightarrow p^*$  dan  $p \rightarrow p^*$  terjadi dalam molekul tak jenuh dan memerlukan energi lebih sedikit dari pada transisi ke orbital antibonding  $s^*$

### 15.3.5 Struktur senyawa dan spektrum

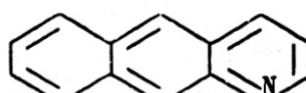
Transisi ke  $p^*$  bila terjadi pada gugus terisolasi akan menghasilkan absorpsi lemah pada frekuensi rendah, meskipun pada kelompok-kelompok ikatan meningkatkan intensitas dan panjang gelombang, sehingga senyawa dengan ikatan-ikatan yang intensif akan terlihat sebagai senyawa mempunyai warna cukup kuat.



max. 250 nm  
a = 10,000



290 nm  
a = 21,000



360 nm  
a = 35,000

Dua jenis gugus yang mempengaruhi spektrum absorpsi suatu senyawa :

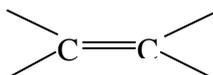
#### a) Kromofor

Kromofor adalah suatu gugus fungsi, tidak terhubung dengan gugus lain, yang menampakkan spektrum absorpsi karakteristik pada daerah sinar UV-sinar tampak.

Ada 3 jenis Kromofor sederhana

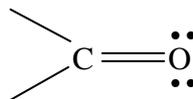
- Ikatan ganda antara dua atom yang tidak memiliki pasangan elektron bebas

contoh :



- Ikatan ganda antara dua atom yang memiliki pasangan elektron bebas

contoh :



- Cincin Benzena

Jika beberapa Kromofor berhubungan maka absorpsi menjadi lebih kuat dan berpindah ke panjang gelombang yang lebih panjang.

### b) Auksokrom

Auksokrom tidak menyerap pada panjang gelombang 200-800nm, namun mempengaruhi spektrum *chromophore* dimana *auxochrome* tersebut terikat



Auksokrom dapat mempengaruhi sebagai berikut :

- Menggeser ke panjang gelombang lebih panjang (red shift) disebut efek batokromik

- Menggeser ke panjang gelombang lebih pendek (blue shift) disebut efek hipsokromik

$a_{\max}$  meningkat ( peningkatan intensitas) disebut hiperkromik

$a_{\max}$  menurun (penurunan intensitas) disebut hipokromik

## 15.4 ANALISIS KUNTITATIF

### 15.4.1 Penerapan Hukum Beer

Hukum Beer merupakan prinsip dasar semua spektrometri molekular kuantitatif Dari persamaan gabungan Hukum Lambert-Beer :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

dapat terlihat bahwa jika kita melakukan pengukuran suatu unsur yang sama pada panjang gelombang yang sama dalam kuvet sampel yang sama pula, maka akan tampak hubungan linear antara absorbansi A dan konsentrasi c, selama absorpsivitas molar  $\epsilon$  dan tebal kuvet b konstan. Karena nilai b adalah tetap, maka ini adalah penerapan Hukum Beer.

Oleh karenanya, jika suatu larutan dengan konsentrasi  $C_1$

menghasilkan absorbansi  $A_1$  maka larutan unsur yang sama dengan konsentrasi  $C_2$  (diukur pada kondisi yang sama) akan menghasilkan absorbansi  $A_2$  sehingga :

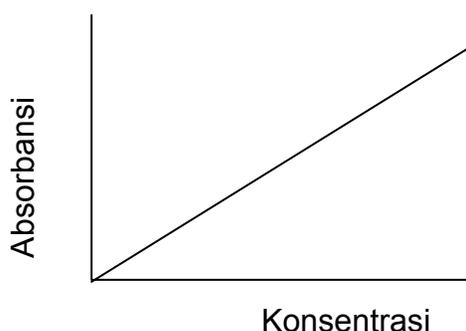
$$\frac{A_1}{C_1} = \frac{A_2}{C_2}$$

Konsentrasi dari larutan yang belum diketahui kemudian dapat dihitung dengan mengukur absorbansi dari larutan yang diketahui konsentrasinya dan larutan yang belum diketahui konsentrasinya pada kondisi yang sama.

Konsentrasi yang belum diketahui dapat ditentukan dengan persamaan :

$$C_2 = \frac{A_2}{A_1} C_1$$

Perhitungan dengan metode sederhana ini tidak mempertimbangkan ketidakpastian percobaan yang terlibat dalam persiapan larutan dan dalam pengukuran absorbansi. Oleh karena itu dalam praktek sangat dianjurkan untuk menyiapkan beberapa larutan dengan konsentrasi yang berbeda biasanya disebut larutan standar, kemudian diukur absorbansinya. Hasil pengukuran dibuat grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Selanjutnya konsentrasi larutan yang belum diketahui dapat ditentukan dari grafik tersebut.



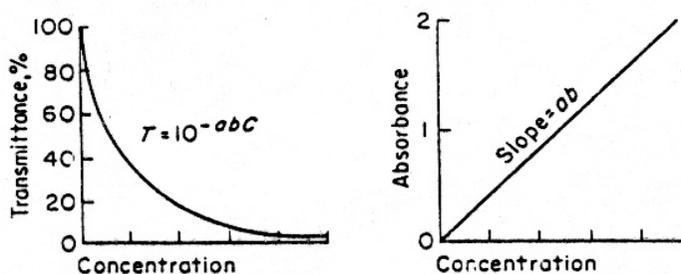
**Gambar 15.8.** Kurva kalibrasi.

Dengan menggunakan grafik kalibrasi yang diperoleh dari beberapa standar dibanding dengan menggunakan satu standar , ketidakpastian analisa dapat dikurangi dan karenanya ketelitian akan sangat meningkat.

Perlu dicatat bahwa garis lurus pada grafik kalibrasi tidak akan diperoleh dengan cara mem-plot transmitans vs konsentrasi. Karena absorbansi dan transmitans dihubungkan oleh persamaan :

$$A = - \log T$$

maka tidak ada hubungan linear antara transmitans dan konsentrasi.



Gambar 15.9. Hubungan antara konsentrasi dengan transmitansi dan absorbansi

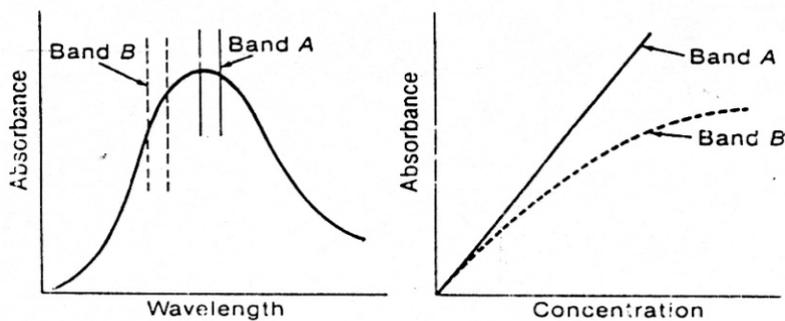
Oleh karena itu jika hasil pengukuran berupa transmitans, maka harus diubah ke bentuk absorbansi agar dapat membuat kurva kalibrasi.

#### 15.4.2 Pemilihan panjang gelombang untuk Analisa Kuantitatif

Dalam spektrometri molekular kuantitatif, pengukuran absorbansi atau transmitans dibuat berdasarkan satu seri (rangkai)an larutan pada panjang gelombang yang telah ditetapkan. Panjang gelombang paling yang sesuai ditentukan dengan membuat spektrum absorpsi dimana panjang gelombang yang paling sesuai adalah yang menghasilkan absorbansi maksimum. Selanjutnya panjang gelombang ini digunakan untuk pengukuran kuantitatif.

Dengan menggunakan panjang gelombang dari absorbansi

yang maksimum, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk hanya akan menyebabkan kesalahan yang kecil dalam pengukuran tersebut. Jika panjang gelombang dipilih dari daerah spektrum di mana ada suatu perubahan yang besar absorbansi dalam daerah (range) panjang gelombang yang sempit, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk akan menyebabkan kesalahan yang besar dalam pengukuran absorbansi tersebut.



**Gambar 15.10. Spektrum absorpsi dan kurva standar**

Pengaruh radiasi polikromatik pada hubungan hukum Beer. Pita A menunjukkan penyimpangan (deviasi) yang kecil selama tidak terjadi perubahan besar pada ? sepanjang pita tersebut. Pita B menunjukkan penyimpangan yang jelas karena ? mengalami perubahan yang berarti pada daerah tersebut.

### 15.4.3 Penyimpangan Hukum Beer

Jika dalam analisis suatu unsur tidak memenuhi Hukum Beer, maka absorbansi tidak setara dengan konsentrasi.

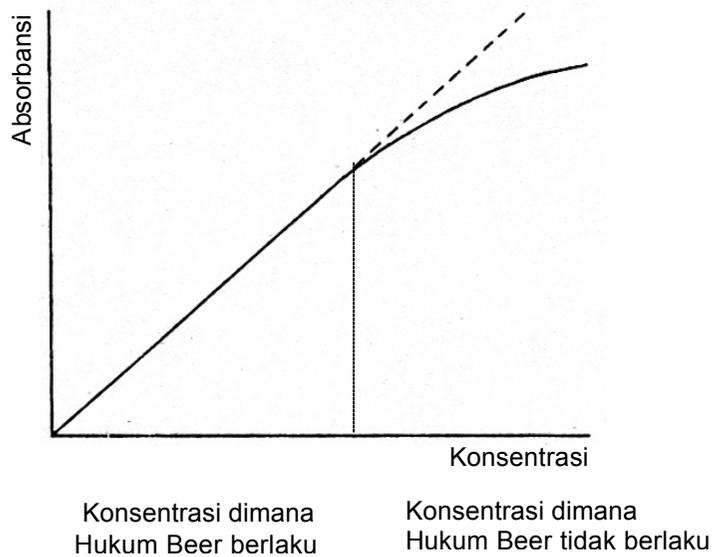
Yaitu :

$$\frac{A_1}{C_1} \neq \frac{A_2}{C_2}$$

Untuk mengetahui apakah suatu unsur memenuhi Hukum Beer atau tidak maka perlu ditentukan grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi.

Hukum Beer hanya dapat dipenuhi jika dalam range (cakupan) konsentrasi hasil kalibrasi berupa garis lurus, jadi kita hanya bekerja pada *linear range*.

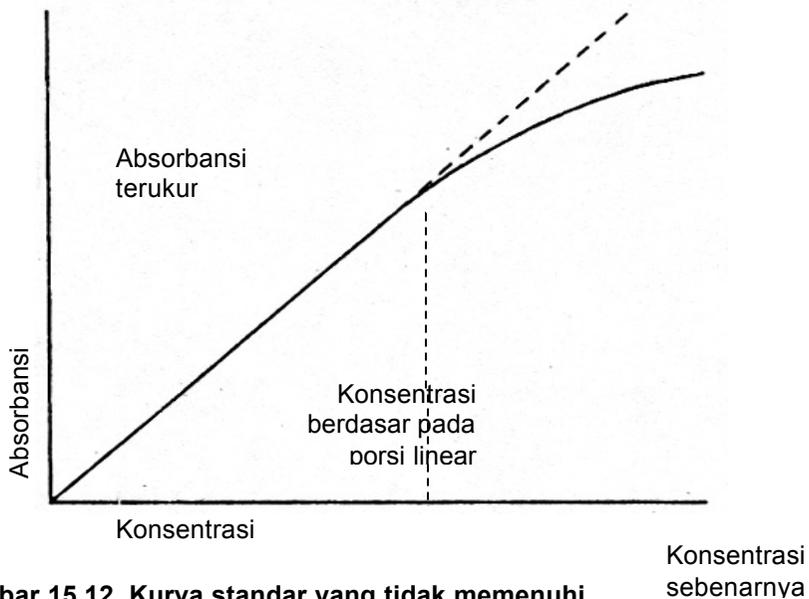
Seringkali sampel yang dianalisa akan memiliki absorbansi yang lebih tinggi dari pada larutan standar. Jika kita berasumsi bahwa kalibrasi tetap linier pada konsentrasi yang lebih tinggi



**Gambar 15.11. Kurva standar yang memenuhi hukum Lambert Beer**

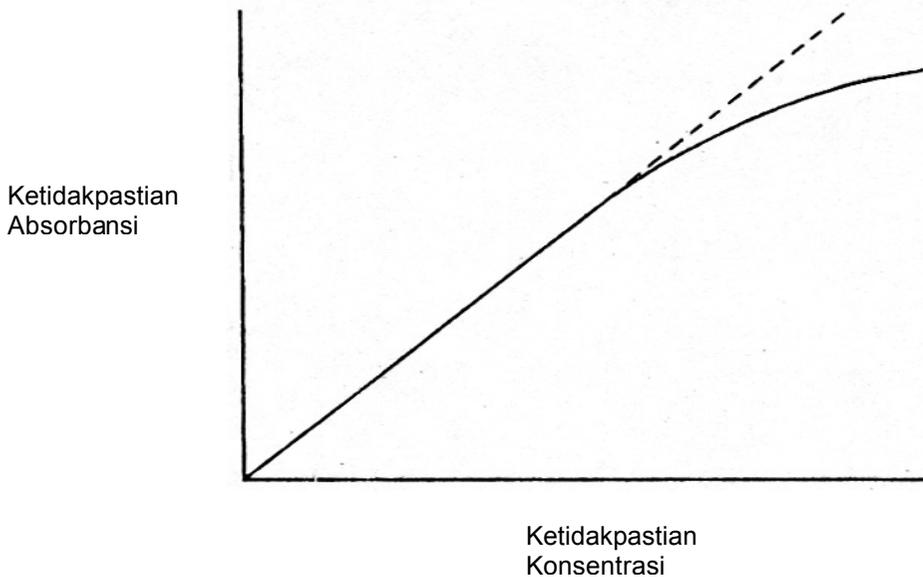
dengan cara yang ramalan kalibrasi yang linier [itu]. Hal ini tidak boleh dilakukan karena bagaimanapun, ketika kita tidak bisa mengetahui apakah hukum Beer masih terpenuhi pada konsentrasi yang lebih tinggi. Jika Hukum Beer tidaklah terpenuhi pada konsentrasi yang lebih tinggi, hasil dari pengukuran akan merupakan suatu kesalahan besar (ketelitian sangat kecil)

Sekalipun standar lebih lanjut disiapkan dan kurva dicoba ke data, ketepatan dari hasil akan sangat lemah dalam kaitan dengan ketidak-pastian di (dalam) membaca konsentrasi dari kurva.



**Gambar 15.12. Kurva standar yang tidak memenuhi Hukum Lambert Beer**

Oleh karena itu, larutan yang memiliki absorbansi lebih tinggi dari larutan standar harus diencerkan sampai memenuhi konsentrasi larutan standar yang telah ada.

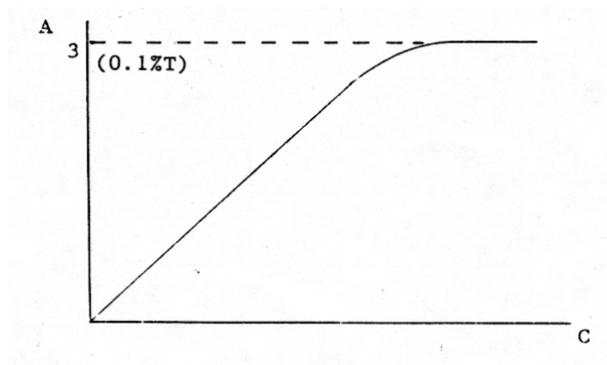


**Gambar 15.13. Kurva hubungan konsentrasi terhadap absorbansi yang masih memenuhi hukum Lambert-Beer.**

#### 15.4.4 Radiasi “stray”

Fungsi dari monokromator adalah untuk menghasilkan pita kecil panjang gelombang yang kemudian masuk ke dalam kuvet sampel. Bagaimanapun, dalam praktek *range* panjang gelombang ini dipengaruhi dengan sejumlah kecil radiasi dari panjang gelombang yang lain, karena ketidak sempurnaan monokromator. Sebagai tambahan, sebagian dari radiasi yang mencapai detektor mungkin berarasal dari sumber selain dari monokromator.

Radiasi “stray” yang tersesat ini ( disebut cahaya yang tersesat spektrometri sinar tampak) menyebabkan penyimpangan dari Hukum Lambert-Beer dan membatasi besarnya pengukuran absorbansi dan transmitans.



**Gambar 15.14. Batas absorbansi yang bisa diukur spektrofotometer**

Sebagai contoh, jika 0,1% dari radiasi yang masuk ke detektor adalah radiasi yang tersesat, maka instrumen tidak akan pernah mengukur kurang dari 0.1% transmitans. Dengan kata lain, absorbansi maksimum dapat terukur oleh instrumen adalah 3 satuan absorbansi, walaupun konsentrasi larutan sampel sangat tinggi.

#### 15.4.5. Konversi Non-absorbing Analit menjadi Absorbing Derivative

Hanya ada beberapa unsur yang memiliki absorptivitas cukup besar untuk dapat ditentukan secara langsung dengan spektrometri

molekular. Sedangkan unsur yang lain dapat dikonversi ke derivative-nya yang memiliki absorptivitas jauh lebih tinggi.

Perubahan keadaan oksidasi, atau pembentukan suatu kompleks, dapat merubah unsur analit non-absorbing menjadi derivatif absorbing. Sebagai contoh,  $Mn^{2+}$  yang berwarna merah muda (sangat) pucat dapat dioksidasi dengan menggunakan periodat atau persulfat menjadi  $MnO_4^-$  yang dapat ditentukan dengan spektrofotometri sinar tampak. Ion  $Fe^{2+}$  akan membentuk senyawa kompleks oranye-merah dengan 1,10-fenantrolin, sementara  $Fe^{3+}$  dan  $Co^{2+}$  keduanya dapat membentuk senyawa kompleks dengan  $SCN^-$

Reaksi umum :



Larutan analit (baik standar atau yang belum diketahui) direaksikan dengan reagen yang sesuai. Absorbansi dari absorbing derivative inilah yang diukur absorbansinya, bukan larutan analit asal.

Metode ini memerlukan tiga persyaratan agar diperoleh hasil yang akurat dan teliti:

- (a) Reaksi harus kuantitatif (yakni memiliki konstanta keseimbangan yang besar) sehingga seluruh analit dapat diubah menjadi *absorbing derivative*
- (b) Reagen yang digunakan harus tidak menyerap pada panjang gelombang dimana *derivative* yang dihasilkan menyerap.
- (c) *Absorbing derivative* yang dihasilkan harus memenuhi Hukum Beer

#### 15.4.6 Kesalahan dalam Analisis Spektrometri Kuantitatif

Ada tiga sumber kesalahan dalam pengukuran dengan spektrofotometer :

- (a) pengaturan ke absorbansi nol (100% T)
- (b) pengaturan ke absorbansi  $\infty$  (0% T)
- (c) pembacaan nilai absorbansi atau transmitans

Anggap sampel dengan konsentrasi C memiliki transmitans T

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$\log_{10} T = -abc$$

$$\ln T = -2,303 abc$$

$$C = \frac{1}{2,303ab} \ln T$$

Diferensiasi  $\frac{dC}{dT} = -\frac{1}{2,303ab} \frac{1}{T}$

$$dC = -\frac{0,4343}{abT} dT$$

Jika T meningkat , dC akan turun yakni untuk mendapatkan pengukuran C yang paling akurat, maka T harus = 1, tetapi jika T = 1, maka A = 0 berarti tidak ada sampel

Lebih jauh, jika nilai T besar ( mendekati 1 ), C harus kecil dan kesalahan relatif C,  $\frac{dC}{C}$  adalah besar

Oleh karena itu, akan sangat membantu dengan memperhitungkan kesalahan relatif dari pada kesalahan mutlak, dC

$$dC = \frac{0,4343}{abT} dT$$

$$\frac{dC}{C} = -\frac{0,4343}{abCT} dT$$

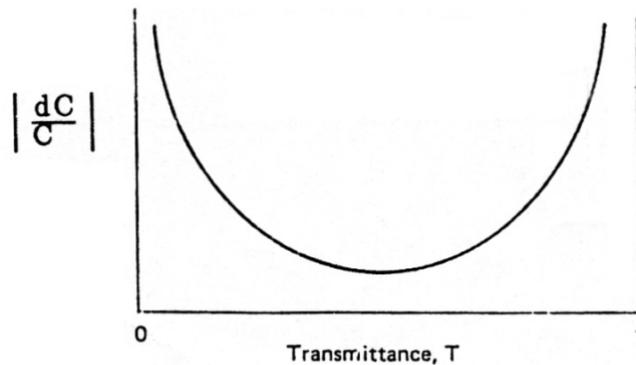
$$\frac{dC}{C} = -\frac{dT}{T \ln T}$$

maka bila  $T \rightarrow 0$ ,  $\frac{dC}{C} \rightarrow -\infty$

bila :  $T = 1$ ,  $\ln T = 0$ , &  $\frac{dC}{C} \rightarrow \infty$

Catatan : Persamaan  $\frac{dT}{T \ln T}$  selalu negatif karena T selalu kurang dari 1 sehingga  $\ln T$  selalu negatif

Oleh karena itu beberapa titik antara  $T = 0$  dan  $T = 1$ ,  $\left| \frac{dC}{C} \right|$  harus mencapai minimum.



**Gambar 15.15. Kesalahan pembacaan spektrofotometer pada berbagai harga transmitansi**

Kesalahan minimum dalam pengukuran absorbansi akan terjadi

pada nilai T dimana  $\left| \frac{dC}{C} \right|$  minimum

Yaitu dimana  $\frac{d\left(\frac{dC}{C}\right)}{dT} = 0$

$$\frac{dC}{C} = \frac{dT}{T \ln T}$$

Diferensiasi

$$\frac{d\left(\frac{dC}{C}\right)}{dT} = dT \left[ -\frac{1}{(T \ln T)^2} \left( T \cdot \frac{1}{T} + \ln T \right) \right]$$

$$= -\frac{dT}{(T \ln T)^2} (1 + \ln T)$$

sekarang  $\frac{d\left(\frac{dC}{C}\right)}{dT} = 0$  bila  $1 + \ln T = 0$

yaitu bila  $\ln T = -1$

$$\log T = -\frac{1}{2,303} = -0,4343$$

$$T = 0,368$$

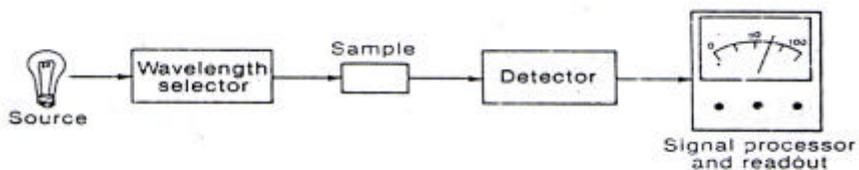
Oleh karena itu kesalahan minimum terjadi pada 36,8% T (Absorbansi = 0,434)

Catatan : Dalam perhitungan ini, dianggap tidak ada kesalahan pada pengaturan 0% T dan 100% T, tetapi dalam praktek kedua pengaturan tersebut juga merupakan subyek kesalahan.

## 15.5. INSTRUMEN YANG DIGUNAKAN PADA SPEKTROFOTOMETER UV-TAMPAK

### 15.5.1 Persyaratan Umum

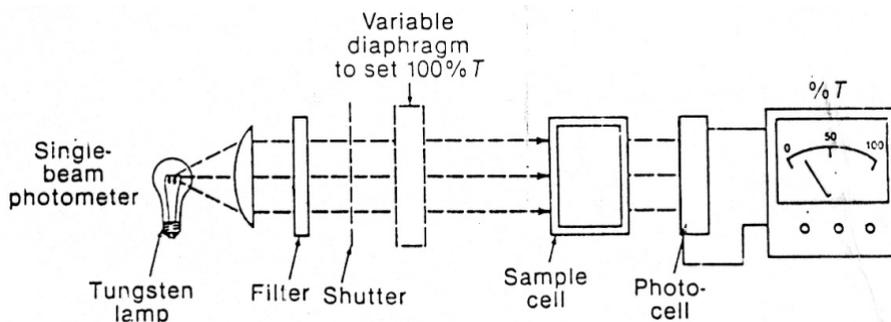
Persyaratan umum dalam pengukuran absorpsi oleh suatu larutan ditunjukkan oleh Gambar 15.16



Gambar 15.16. Skema bagian-bagian dalam spektrofotometer

Dalam visual colorimetri, umumnya digunakan cahaya putih tiruan atau alami sebagai sumber cahaya, dan penentuan dilakukan

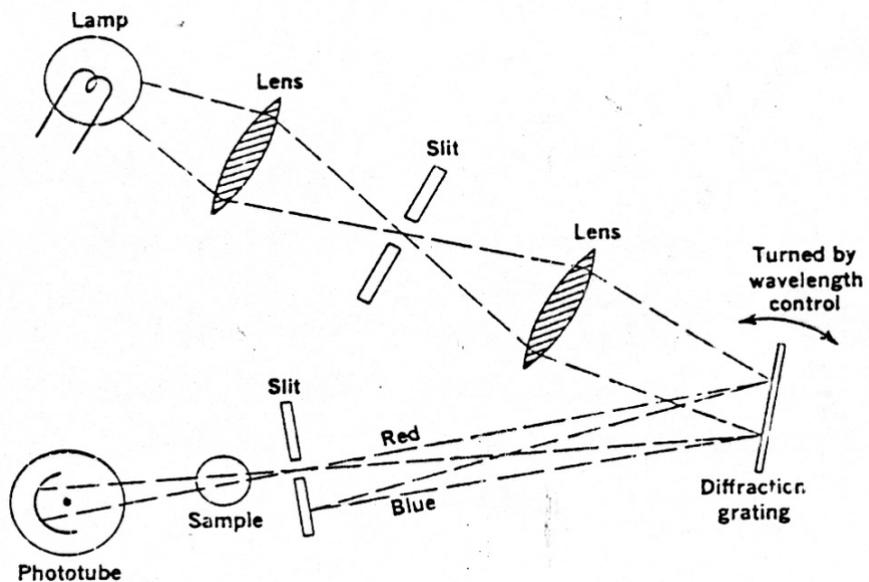
dengan menggunakan pengamatan mata dengan instrumen yang sederhana disebut *visual comparator*, atau dengan menggunakan suatu rangkaian larutan acuan yang diketahui konsentrasinya. Ketika mata digantikan oleh *photoelectric* ( dengan begitu mengeliminasi kesalahan dalam kaitannya dengan karakteristik pengamat) dan ada alat pembaca hasil maka instrumen ini disebut *colorimeter*. Suatu *colorimeter* biasanya bekerja pada range (cakupan) panjang gelombang yang terbatas dari cahaya yang diperoleh melewati cahaya putih melalui saringan yang berwarna, yang memancarkan range panjang gelombang yang kecil ( sekitar 50nm). Instrumen seperti ini disebut juga *filter photometer*.



**Gambar 15.17. Skema bagian-bagian dalam spektrofotometer**

Spektrofotometer cahaya menggunakan kisaran (range) panjang gelombang yang lebih kecil (10 nm atau kurang). Tentu saja akan membutuhkan instrumen yang lebih rumit dan tentunya lebih mahal. Juga tersedia instrumen yang dapat bekerja pada daerah sinar ultraviolet dan dan infra merah.

Keuntungan utama dari metode ini adalah adanya alat sederhana untuk menentukan unsur dengan konsentrasi yang sangat rendah. Secara umum batas atas dari metode ini adalah penentuan dari adanya unsur kurang dari 1 atau 2 persen. Bagaimanapun, batas yang lebih rendah adalah mikrogram per liter



Gambar 15.18 Bagian-bagian dalam alat Spectronic 20

untuk banyak unsur. Keuntungan yang lain dari metode ini adalah adalah sangat mudah diotomatiskan sedemikianhingga sampel dalam jumlah besar dapat diproses secara otomatis dalam waktu singkat.

### 15.5.2 Prosedur Umum Penggunaan Spektrofotometer UV dan Sinar Tampak.

- (i) Sampel dilarutkan dalam pelarut
- (ii) Sampel dimasukkan dalam kuvet
- (iii) Dalam keadaan tertutup, atur  $T = 0\%$  (dalam beberapa instrumen, ini disebut  $0\%T$ . Dark current control)
- (iv) Dalam keadaan terbuka, atur  $T = 100\%$  ( $A=0$ ). Gunakan cell penuh dengan pelarut murni
- (v) Masukkan sampel dan ukur  $\%T$  (atau  $A$ )

### Pengaruh *cell window* pada nilai $A$

Pada *cell windows* yang mengkilap, kira-kira 2% dari radiasi yang masuk akan hilang oleh pantulan dan pembiasan pada setiap

permukaan, maka *kuvet* kosong akan mengurangi  $P_0$  dari 100% mendekati 94%. Oleh karena itu untuk mengganti kehilangan tersebut perlu mengatur 100% T ( $A=0$ ) dengan menggunakan *cell* yang sama dipenuhi pelarut murni.

Fitur Instrumen single beam

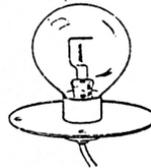
- biaya rendah
- tujuan dasar untuk mengukur A, %T atau C pada panjang gelombang terpisah
- 100% T (0A) harus diatur pada setiap panjang gelombang
- Tidak dapat digunakan untuk meneliti spektra

Fitur Instrumen double beam

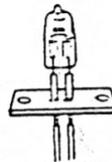
- Digunakan untuk meneliti spektra pada panjang gelombang lebih tinggi (190-800nm)
- Dapat menghasilkan spektra A vs  $\lambda$ , %T vs  $\lambda$ , atau spektra derivatif 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>.
- Dapat digunakan untuk pengukuran A atau %T saja pada panjang gelombang tertentu.

### 15.5.3 Sumber Radiasi

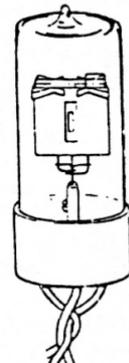
(a) Lampu Tungsten  
stabil, murah, 350-1000nm



(b) Lampu halogen tungsten  
(quartz-iodine lamp) sama dengan lampu tungsten tetapi memiliki output lebih baik pada daerah 300-400nm



(c) Lampu Deuterium Arc  
mahal, masa kerja singkat, 190-400nm



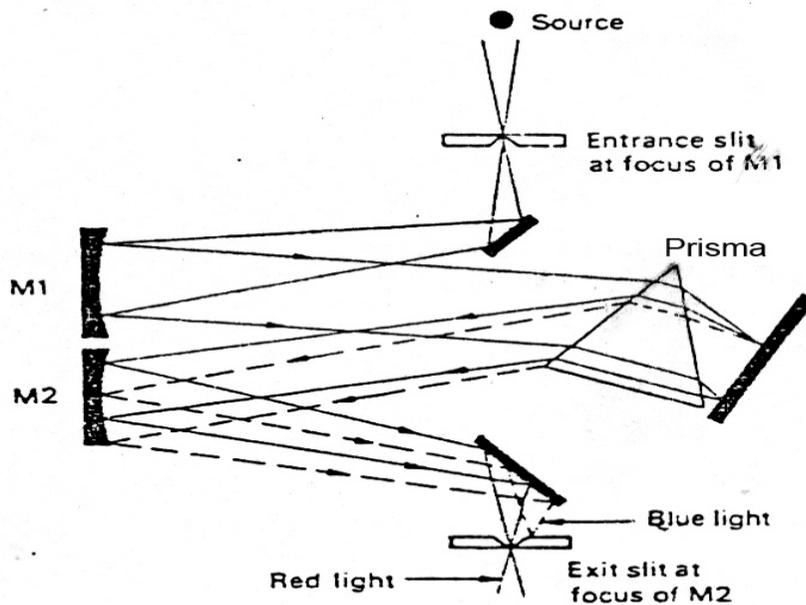
#### 15.5.4. Sistem Dispersi

(a) Filter

Hanya digunakan pada colourimeter murah pita ~ 25-50 nm tidak umum digunakan dalam instrumen modern

(b) Prisma

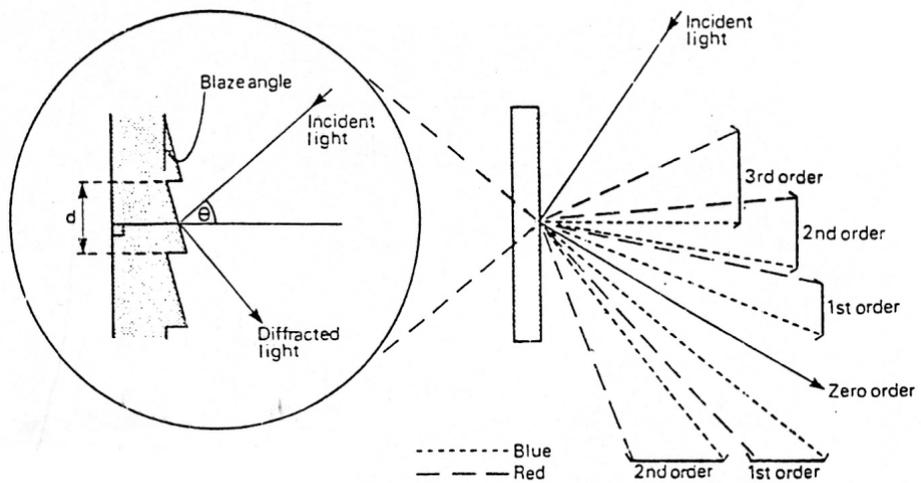
prisma kwarsa memiliki karakteristik dispersi lemah pada daerah sinar tampak (380-780 nm) dispersi bervariasi sesuai panjang gelombang lebih mahal daripada grating



Gambar 15.19. Sistem dispersi pada monokromator dengan prisma

(c) Diffractions Gratings

Dispersi kontan dengan panjang gelombang yang lebih besar daripada yang biasa digunakan.



**Gambar 15.20. Sistem dispersi pada monokromator dengan grating**

### 15.5.5 Kuvet

(a) Gelas

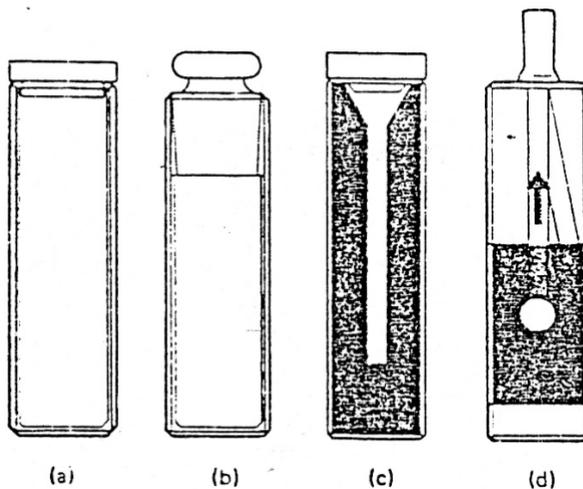
Umum digunakan (pada 340-1000 nm). Biasanya memiliki panjang 1 cm (atau 0,1, 0,2, 0,5, 2 atau 4 cm)

(b) Kwarsa

mahal, range (190-1000nm)

(c) Cell otomatis (flow through cells)

(d) Matched cells



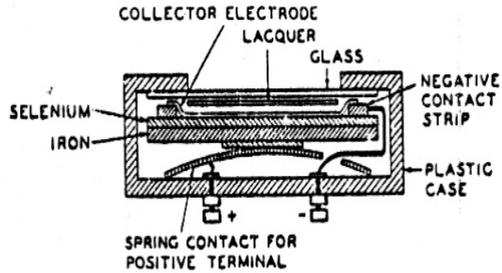
Typical Sample Cells.

- (a) Rectangular Cell with Lid.
- (b) Rectangular Cell with Stopper.
- (c) Black-walled Microcell.
- (d) Flow Cell.

- (e) Polystyrene range ( 340-1000nm)  
throw away type
- (f) Micro cells

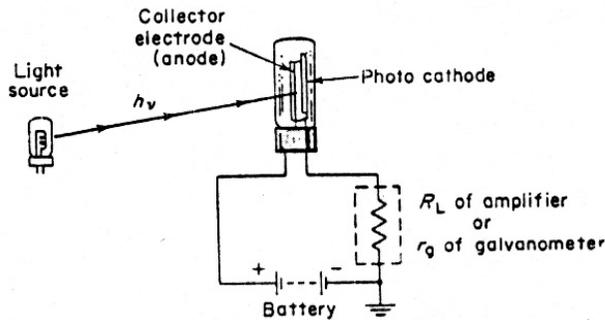
**15.5.6 Detektor**

- (a) Barrier layer cell  
(photo cell atau photo voltaic cell)



- (b) Photo tube

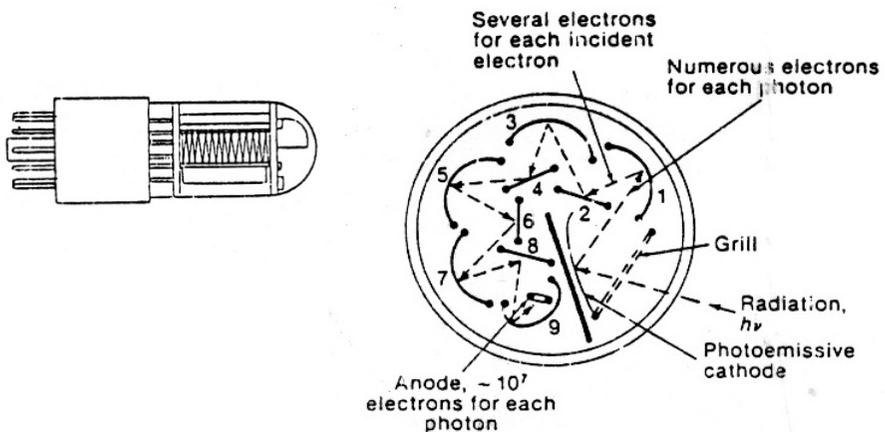
lebih sensitif daripada photo cell, memerlukan power suplai yang stabil dan amplifier



- (c) Photo multipliers

Sangat sensitif, respons cepat

digunakan pada instrumen double beam penguatan internal



### 15.5.7 Sistem pembaca

(a) Null balance

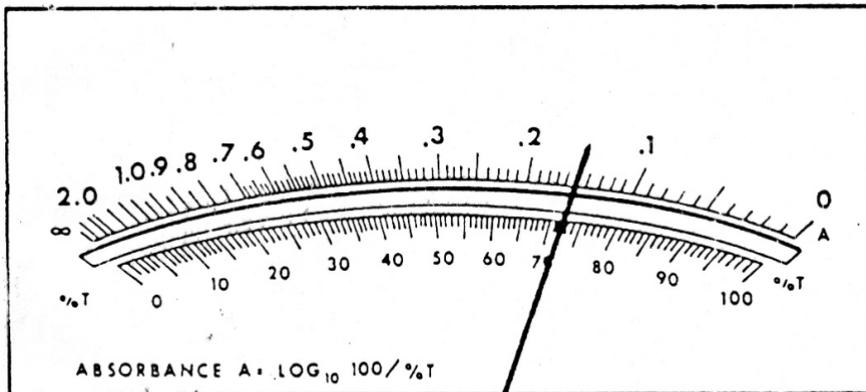
menggunakan prinsip *null balance potentiometer*, tidak nyaman, banyak diganti dengan pembacaan langsung dan pembacaan digital

(b) Direct readers

%T, A atau C dibaca langsung dari skala

(c) Pembacaan digital

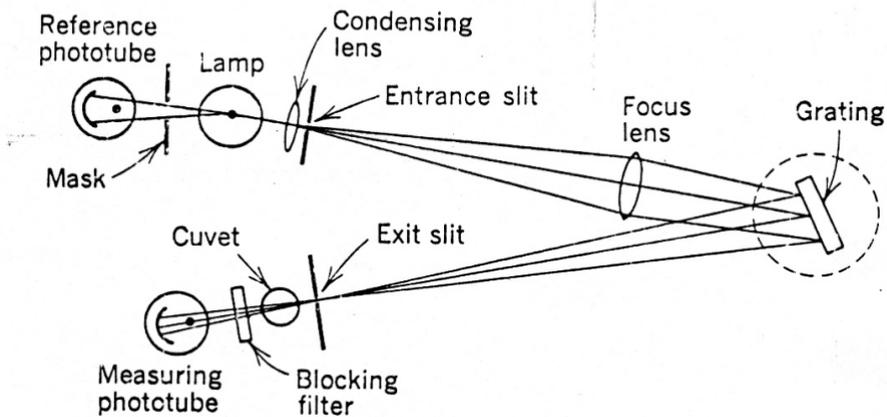
mengubah sinyal analog ke digital dan menampilkan peraga angka *Light emitting diode* (LED) sebagai A, %T atau C



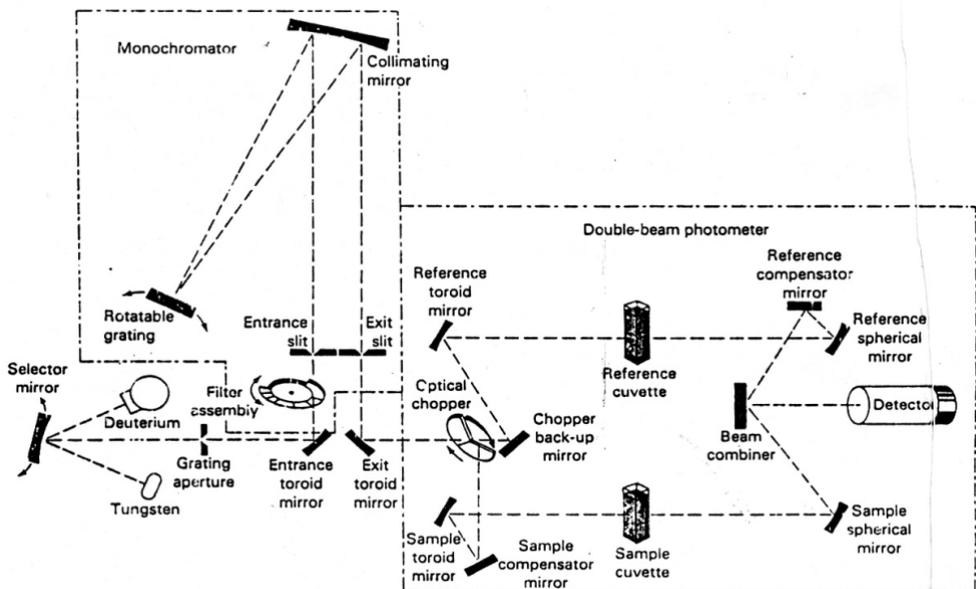
Gambar 15.21. Pembaca transmittansi dan absorbansi pada spektrofotometer

Dengan pembacaan meter seperti Gambar 15.21, akan lebih mudah dibaca skala transmittansi-nya, kemudian menentukan absorbansi dengan  $A = -\log T$ .

Skema dasar instrumen *single beam* dan *double beam* seperti disajikan pada Gambar 15.22 dan 15.23.



Gambar 15.22. Diagram optik Bausch & Lomb Spectronic-20

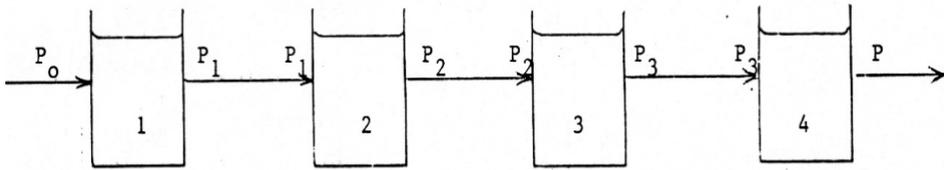


Gambar 15.23. Spektrofotometer *double beam* untuk UV-tampak

## 15.6 ANALISIS MULTIKOMPONEN

### 15.6.1 Prinsip dasar

Prinsip dasar analisa multikomponen dengan spektrometri molekular adalah total absorbansi dari larutan adalah jumlah absorbansi dari tiap-tiap komponen.



$$\frac{P_0}{P_1} \times \frac{P_1}{P_2} \times \frac{P_2}{P_3} \times \frac{P_3}{P_4} = \frac{P_0}{P}$$

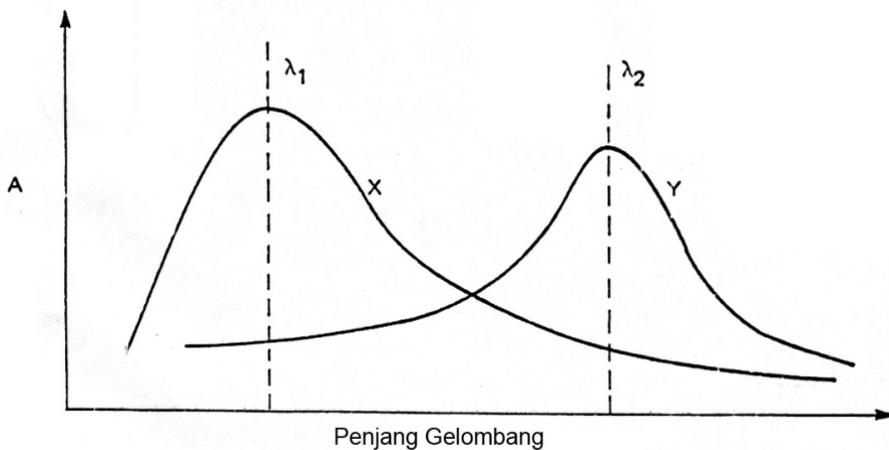
ambil log

$$\log \frac{P_0}{P_1} + \log \frac{P_1}{P_2} + \log \frac{P_2}{P_3} + \log \frac{P_3}{P_4} = \log \frac{P_0}{P}$$

$$A_1 + A_2 + A_3 + A_4 = A$$

Ini berlaku jika komponen-komponen tidak saling berinteraksi

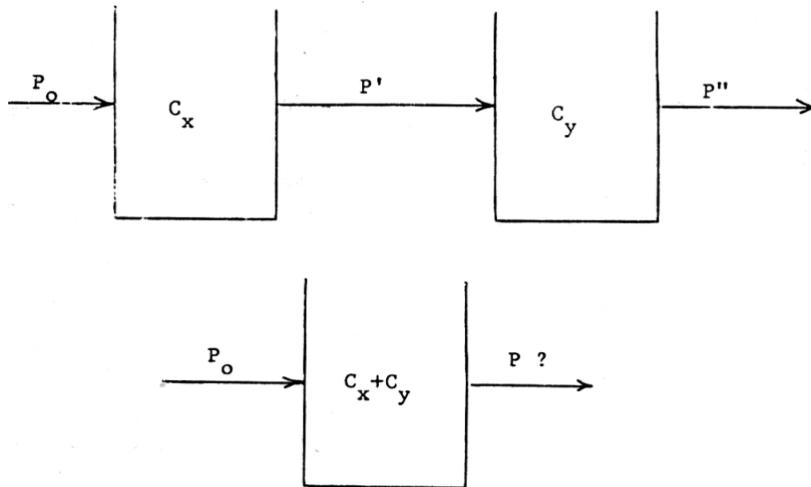
Anggap suatu larutan terdiri dari komponen X dan Y. Maka hasil absorpsi akan tampak seperti dibawah ini.



Gambar 15.23. Spektrum dua senyawa

### 15.6.2 Persyaratan

- (a) Spektrum absorpsi tiap komponen harus benar-benar berbeda
- (b) Komponen-komponen tidak saling berinteraksi



Jika  $P = P''$ , dapat diasumsikan tidak ada interaksi

Jika  $A_{\text{mix}} = A_x = A_y$ , maka tidak ada interaksi

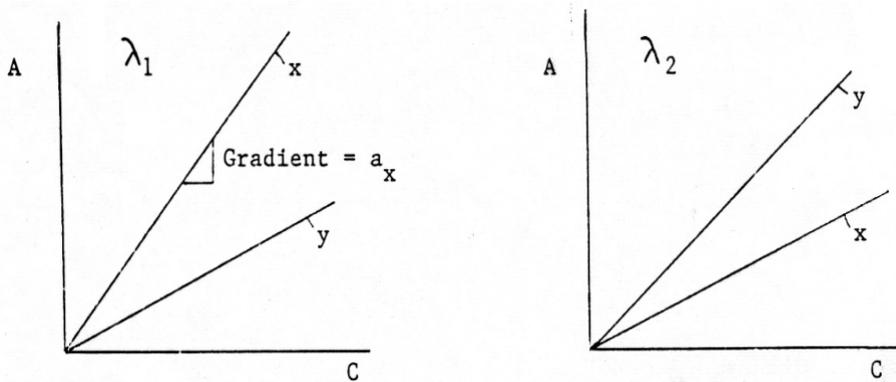
Perlu diadakan tes tambahan sebelum analisis ini dilakukan jika konsentrasi komponen meningkat, kemungkinan terjadinya interaksi semakin besar, khususnya dalam Infra merah

### 15.6.3 Prinsip Analisis Multikomponen

Pada  $\lambda_1$ ,  $A_1 = a_{x1}C_x + a_{y1}C_y$  pada  $\lambda_2$ ,  $A_2 = a_{x2}C_x + a_{y2}C_y$

$A_1$  adalah absorbansi pada  $\lambda_1$

$a_{x1}$  adalah absorptivitas  $x$  pada  $\lambda_1$



Umumnya analisa multikomponen berkaitan dengan hanya 2 komponen dalam spektrometri Uv dan tampak, tetapi mungkin lebih. Jika  $a_{x1}$ ,  $a_{y1}$ ,  $a_{x2}$ ,  $a_{y2}$  diketahui, maka dengan pengukuran  $A_1$  dan  $A_2$  dapat dihitung  $C_1$  dan  $C_2$

### 15.6.4 Penentuan Absorpsivitas

#### Metode I

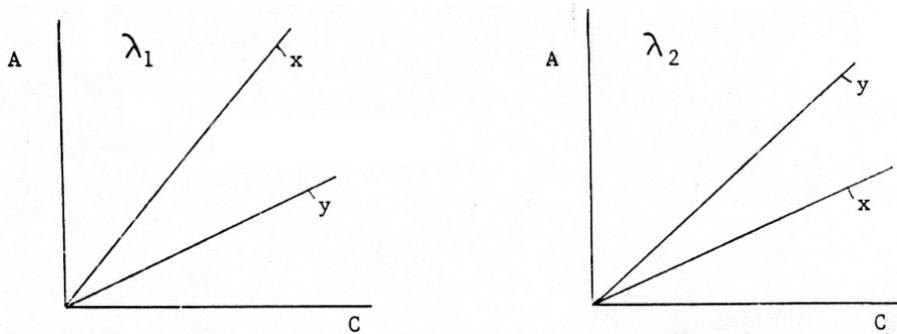
Metode klasik – buat range dari tiap-tiap larutan murni x dan y.

Diukur nilai A

Gradien dari masing-masing Hukum Beer adalah absorptivitas ( $a$ ) dari tiap komponen pada panjang gelombang tersebut jika menggunakan cell 1 cm

#### Metode II

2 campuran – Buat 2 campuran dengan konsentrasi diketahui,  $C_x$ ,  $C_y$  dan  $C_{x1}$ ,  $C_{y1}$ . Ukur A tiap campuran pada tiap panjang gelombang  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$



Pada  $\lambda_1$   $A_1 = a_{x1}C_x + a_{y1}C_y$

pada  $\lambda_2$   $A_2 = a_{x2}C_x + a_{y2}C_y$

$A_{11} = a_{x1}C_{x1} + a_{y1}C_{y1}$

$A_{21} = a_{x2}C_{x1} + a_{y2}C_{y1}$

$a_{x1}$ ,  $a_{y1}$ ,  $a_{x2}$ , dan  $a_{y2}$  dapat dihitung dari pasangan persamaan simultan. Secara matematis metode ini benar, tetapi hanya berlaku untuk 2 larutan, oleh karena itu ketepatannya rendah.

## **PRAKTIKUM 1 : SPEKTROFOTOMETRI UV – TAMPAK**

### **Pendahuluan**

Tujuan dari praktikum ini adalah sebagai berikut:

- i. Mengetahui lebih jauh tentang komponen spektrofotometer UV-tampak.
- ii. Bisa menggunakan spektrofotometer UV – sinar tampak untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

Instrumen–instrumen yang digunakan adalah :

- a. Bausch and Lomb Spectronic 20
- b. Hitachi U– 2000
- c. Shimadzu UV – 240
- d. Unicam SP500

Jenis spektrofotometer yang digunakan menyesuaikan

### **Tugas 1: Pengaruh Variasi lebar celah**

Tugas ini akan dilakukan menggunakan Instrumen Unicam SP500

#### **a. Spektrum Sinar tampak**

Pastikan bahwa shutter tertutup rapat. Buka penutup tempat sampel, lepas tempatnya dan letakkan kertas putih di dalam tempat sampel sehingga berkas cahaya dengan mudah terlihat. Atur panjang gelombang pada 300 nm dan lebar celah 0,5 mm. Ganti panjang gelombang dan amati perubahan warna pada setiap perubahan 50 nm dari 300 nm ke 750 nm

#### **b. Pengaturan $P_0$**

Pembaca dapat diatur tepat pada 100%T dengan salah satu cara berikut :

- (i) Meningkatkan lebar celah; hal ini akan membuat cahaya lebih banyak mencapai detektor tetapi juga akan menaikkan lebar pita maka resolusi akan lemah

- (ii) Memperkuat sinyal detector secara elektrik ; hal ini akan membuat detektor untuk mengeluarkan lebih banyak sinyal per sejumlah cahaya tetapi juga akan memperkuat level noise yang akan menyebabkan tidak presisi

**Kedua prosedur di atas akan dipelajari dalam latihan ini.**

Atur panjang gelombang pada 440 nm dan atur lebar celah 0,1 mm dan catat warna dari berkas cahaya. Tingkatkan lebar celah secara berangsur-angsur dan catat dengan hati-hati perubahan pada intensitas atau warna dari berkas cahaya selama lebar celah meningkat menjadi 2,0 mm. Ulangi prosedur ini pada panjang gelombang 520 nm dan 620 nm.

Diskusikan dengan asisten lab mengenai pengaruh lebar celah pada level  $I_0$  dan lebar pita pada instrument.

Dengan instrument pada kondisi direct read out mode, atur lebar celah pada 0,1mm dan panjang gelombang 400 nm. Set 0%T dengan menggunakan ZERO control, dengan keadaan shutter tertutup dan kemudian buka *shutter* dan set 100%T menggunakan DIRECT READOUT 100%T control.

Kurangi lebar celah ke 0,09 mm dan catat yang terjadi pada skala pembaca.

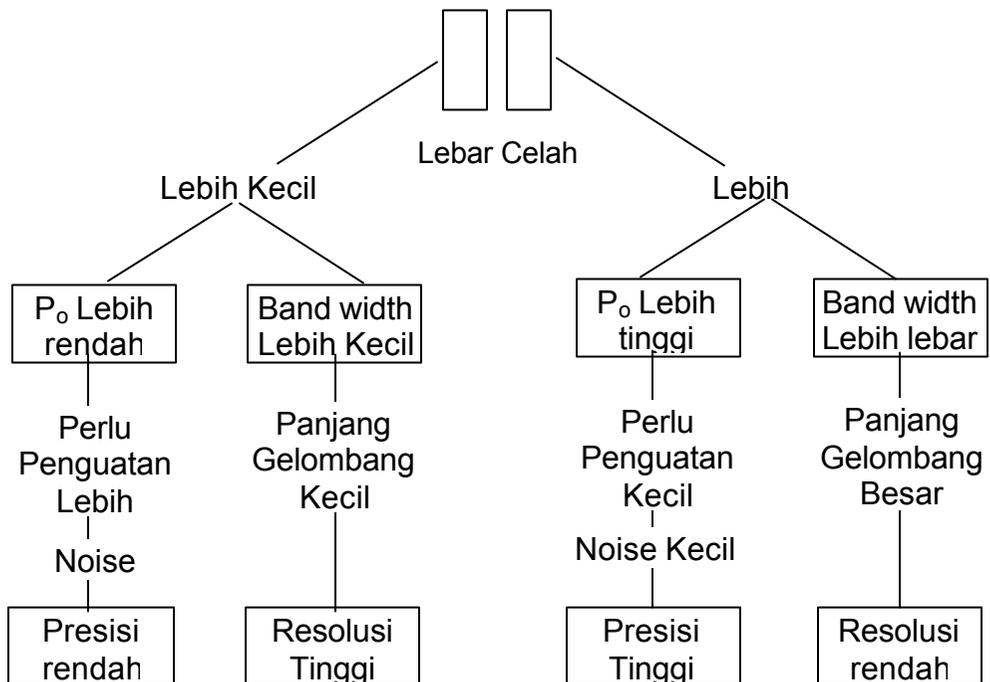
Skala pembaca dapat kembali ke 100%T dengan melebarkan celah ke 0,1 mm lagi. Akan tetapi, cara alternatif adalah menambah penguatan sinyal secara elektronik dari detector ke meter. Dengan lebar celah masih pada 0,09 mm, atur pengendali "DIRECT READOUT 100%" untuk mengatur posisi pembacaan meter ke 100% T.

Diskusikan hasil-hasil pengamatan dengan asisten praktikum anda.

Atur instrumen pada mode “null point” dan atur posisi meter ke 0% T dengan shutter tertutup. Buka shutter nya atur sensitifitas ke maksimum (putar penuh searah jarum jam) dan atur posisi meter ke 100% T dengan pengatur lebar celah. Catat lebar celah yang digunakan. (Catat bahwa ini lebar celah terkecil yang dapat digunakan pada panjang gelombang yang dipakai). Tentukan perubahan transmitan yang diperlukan untuk menghasilkan simpangan dengan skala besar pada galvanometer. Dengan cara yang sama, gunakan langkah tersebut menggunakan sensitifitas minimum (lebar celah maksimum) atur lagi ke posisi 100% T dan catat perubahan transmitan yang diperlukan untuk menghasilkan simpangan yang sama. Sekali lagi catat lebar celah yang digunakan.

Perubahan-perubahan pada transmitan yang diamati dapat menimbulkan tingkat noise. Dengan asumsi bahwa jarum meter akan naik turun  $\pm 1$  skala ketika pengukuran dilakukan (dalam praktek tentunya harus jauh lebih kecil) dan diskusikan dengan asisten lab dimana pengaturan sensitifitas berpengaruh pada tingkat ketelitian.

Dalam pengukuran absorbansi dibuat suatu kompromi antara resolusi dan presisi. Hal ini dapat di ringkas sebagai berikut :



## Tugas 2: Kinerja sumber cahaya, detektor dan Spektrofotometer

Menggunakan Bausch and Lomb Spectronic 20.

Detektor dan sumber cahaya tidak beroperasi sama baiknya pada semua panjang gelombang dan panjang gelombang optimumnya sering tidak sama antara detektor dan sumber cahaya. Total kinerja sebuah instrumen adalah dimana terdapat keseimbangan antara masing-masing kinerja dari dua komponen tersebut. Keseimbangan ini akan dipelajari dengan cara:

- pengukuran total respon relatif instrumen.
- perolehan respon relatif detektor dari tabel di bawah ini
- penghitungan intensitas relatif sumber cahaya

Masukkan kuvet berisi air ke dalam tempat sampel, sejajarkan pada garis indeks dan tutup penutupnya untuk menghindari pendaran cahaya.

Atur panjang gelombang ke 500 nm dan atur pembacaan meter

pada sekitar 80% T dengan memutar tombol pengatur cahaya. Putar tombol panjang gelombang dan amati bahwa pembacaan meter berubah-ubah terhadap panjang gelombang. Tentukan panjang gelombang yang menghasilkan respon maksimum (seharusnya mendekati 500 nm) dan atur tombol pengatur sumber cahaya sedemikian hingga terbaca 100% T pada panjang gelombang tersebut.

Kemudian tanpa merubah lainnya tombol pengatur penguatan atau tombol pengatur sumber cahaya diperoleh kurva spektral untuk instrumen ini dengan membaca %T pada panjang gelombang – panjang gelombang ; 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 512, 525, 550, 575, 600, 612, dan 625 nm.

Gambarlah grafik %T terhadap panjang gelombang menggunakan data tersebut; panjang gelombang seharusnya sebagai sumbu horisontal.

Pada lembaran kertas grafik yang sama, gambarkan kurva grafik respon relatif detektor sebagai fungsi dari panjang gelombang menggunakan data berikut:

Panjang gelombang	Respon relatif detektor fototube Spektronic 20
350	90
375	98
400	100
425	98
450	91
475	81
500	68
512	61
525	53
550	37
575	21
600	10
612	7
625	5

Hal itu akan dicatat bahwa kedua kurva yang di gambarkan di atas tidak bersamaan waktunya. Pada saat respon relatif phototube tinggi pada panjang gelombang 400 nm, respon relatif keseluruhan instrumen yang mengarah ke panjang gelombang ini, rendah. Spektrometer menunjukkan respon relatif yang jauh lebih besar pada 525 nm dari pada yang akan diharapkan dari mempertimbangkan respon phototube saja. Perbedaan tersebut kebanyakan berada pada bagian sumber cahaya. Sebagai contoh, walaupun phototube mempunyai respon tinggi terhadap cahaya 400nm, sumber cahayanya sangat lemah memancarkan cahaya 400 nm, maka respon sebenarnya dari spektrometer terhadap cahaya tersebut menjadi rendah.

Dari dua kurva di atas, hitung intensitas relatif dari emisi lampu (tambahkan faktor kecil sebagai atribut pada optik) pada spetrum sinar tampak, dengan cara berikut ini. Pada setiap panjang gelombang yang dipelajari pisahkan antara “respon relatif total” dan “respon relatif detektor”. Hal ini akan memperoleh deretan angka-angka yang menunjukkan pentingnya “intensitas relatif lampu” pada berbagai panjang gelombang, sebagian besar angka-angka tersebut mendekati angka 3.0.

Untuk merubah angka-angka relatif menjadi sebuah skala dimana angka maksimumnya 100, kalikan setiap angka dengan suatu faktor (100/3).

Dengan demikian

$$\text{Intensitas relatif lampu} = \frac{\text{Respon Instrumen}}{\text{Respon Detektor}} \times \frac{100}{3}$$

Nilai tepat yang diperoleh untuk sebagian panjang gelombang tidaklah penting; yang penting terletak pada bagaimana perubahan nilai tersebut dari panjang gelombang satu ke panjang gelombang yang lain.

Buatlah kurva pada grafik yang sama seperti di atas, sebagai

kurva “Intensitas relatif lampu” sebagai fungsi dari panjang gelombang.

Akhirnya, seluruh bagian atas grafik menunjukkan warna yang terlihat pada berbagai panjang gelombang.

Diskusikan dengan asisten lab.

### **Tugas 3. – Transmittansi, Absorbansi, dan warna**

- a. Menguji skala transmittansi dan absorbansi pada instrumen “Unicam SP500” dan “Bausch & Lomb Spectronik 20”. Pada instrumen ini skala transmittansi nya linier tetapi skala absorbansinya logaritmik. Karena itu lebih mudah membaca skala transmittansi, dan lebih teliti membaca pada transmittansi rendah dari pada membaca angka absorbansi tinggi.

Oleh karena itu, ketika menggunakan instrumen dengan skala absorbansi logaritmik, baca nilai transmittansinya dan hitung absorbansi menggunakan:

$$A = - \log T.$$

- b. Menggunakan instrumen SP500 atau Spektronik-20, tentukan panjang gelombang pada 500 nm dan ukur transmittansi dari dua kuvet bersih berisi akuades. Pilih kuvet yang transmittansinya paling tinggi sebagai larutan referensi.

Siapkan 100 ml larutan  $\text{KMnO}_4$  15 ppm dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M dari 100 ppm larutan permanganat yang disediakan; tambahkan 10 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5M. Larutan referensinya  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M dalam akuades.

Ukuran spektrum larutan diatas 400 nm sampai 625 nm dengan mengambil persentase transmittansi yang dibaca pada interval sebagai berikut:

400 – 500 nm dengan interval 10 nm

500 – 575 nm dengan interval 5 nm

575 – 625 nm dengan interval 10 nm

Jangan lupa untuk “reset” pembacaan 100%T setiap pergantian panjang gelombang.

Gambarkan grafik spektrum sebagai %T terhadap panjang gelombang dan absorbansi terhadap panjang gelombang pada selembar kertas grafik yang sama.

Menunjuk hasil dari tugas 1(a) untuk menjelaskan mengapa larutan ini berwarna ungu.

Diskusikan dengan asisten lab.

#### **Tugas 4. – Koreksi Kuvet (Cell)**

Ambilah 4 kuvet 10 ml yang bersih. Masing-masing diisi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M dan ukur transmisinya menggunakan instrumen Unicam SP500 pada panjang gelombang 525 nm. Pilih kuvet yang mempunyai transmitansi tertinggi dan gunakan sebagai referensi untuk set 100%T. Ukur transmitansi setiap kuvet lainnya dan ubah ke nilai absorbansi. Tanyalah asisten lab jika ada cell yang nilainya dibawah 97%T.

Pada instrumen *single beam*, perbedaan transmitansi antar *kuvet* digunakan untuk mengukur larutan sampel dan yang digunakan sebagai referensi harus di koreksi.

Koreksi *kuvet* ini harus dipakai ketika diperlukan pengukuran kuantitatif dan perlu dibuatkan yang baru jika menggunakan panjang gelombang yang berbeda.

Diskusikan berikut ini dengan asisten lab:

- i. Perlunya koreksi cell
- ii. Mengapa koreksi cell diubah ke absorbansi
- iii. Apakah koreksi cell harus ditambahkan ke atau dikurangkan dari pembacaan absorbansi yang tak terkoreksi.

### **Tugas 5. – Hukum Beer dan *Stray light***

Siapkan seteliti mungkin larutan potassium permanganat dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M berikut:

5 ppm, 10 ppm dan 15 ppm  $\text{KMnO}_4$  (menggunakan 100 ppm stok )  
30 ppm, 60 ppm, 100 ppm dan 200 ppm  $\text{KMnO}_4$  (menggunakan 1000 ppm stok )

Jangan lupa untuk menambahkan asam sulfat. Juga tambahkan secukupnya  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10M hingga larutan menjadi 0,5M setelah diencerkan atau gunakan 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sebagai pengencer.

#### **a. Hukum Beer (menggunakan Unicam SP500)**

Menggunakan Cell dari tugas 4, ukur transmitansi dari larutan 5, 10, dan 15 ppm pada 525 nm menggunakan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M sebagai referensi. Pakai koreksi cell, gambarkan grafik absorbansi terhadap konsentrasi dan dari grafik tersebut tentukan Absorpsifitas Molar dari  $\text{KMnO}_4$ .

#### **b. Efek *Stray light***

Pada sebagian besar instrumen, tingkat *stray light*-nya rendah sehingga efeknya minimal kecuali pada transmitansi sangat rendah atau pada  $P_0$  sangat rendah (contohnya: pada instrumen optik kaca panjang gelombang sekitar 350 nm)

Efek *stray light* dapat diamati pada transmitansi sangat rendah (absorbansi tinggi) dan jumlah *stray light* dalam instrumen bisa diukur dengan mudah.

Pilih panjang gelombang 525 nm, pastikan instrumen pada mengukur absorbansi pada range 0 – 4. Dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M sebagai referensi, ukur absorbansi dan transmitansi dari larutan  $\text{KMnO}_4$  5, 10, 15, 30, 60, 100 dan 200 ppm.

Gambar grafik absorbansi terhadap konsentrasi, kemudian perkirakan bagian kurva yang sejajar dengan sumbu absorbansi. Ini adalah absorbansi maksimum yang bisa diukur oleh instrumen ini, tidak terpengaruh besar kecilnya konsentrasi

larutan yang dipasang. Nilai %T yang sesuai dengan nilai absorbansi ini menunjukkan tingkat stray light dalam instrumen.

Sekarang lihat pada nilai transmitansi yang terbaca pada setiap larutan dan putuskan apakah nilai stray light ini berpengaruh signifikan terhadap pengukuran.

Sekarang lepas cell sampel dan tutupi sinarnya dengan benda padat seperti kayu, dompet kunci dan lain-lain. Bandingkan absorbansi atau transmitansinya dengan yang diperoleh pada larutan  $\text{KMnO}_4$  200 ppm.

### **Tugas 6. – Penentuan Kadar Fosfat pada Air Danau**

Amonium molibdat dan antimoni potasium tartrat bereaksi dengan ion ortofosfat,  $\text{PO}_4^{3-}$  untuk membentuk kompleks antimonifosfat-molibdat. Senyawa kompleks ini dapat diturunkan dengan asam askorbat untuk membentuk senyawa kompleks molibdenum dengan komposisi tidak pasti yang berwarna biru lebih *intens*. Hal ini merupakan penerapan menarik dari spektrofotometri karena senyawa yang akan ditentukan kadarnya adalah fosfat tetapi senyawa kompleks berwarna yang diukur tidak mengandung fosforus. Sediakan reagent-reagent lain yang lebih sesuai untuk ortofosfat, intensitas warna yang dihasilkan adalah setara dengan konsentrasi fosfat. Reaksi terhadap orthofosfat adalah reaksi spesifik, tetapi bentuk lain dari fosforus dapat ditentukan setelah konversi ke bentuk ion ortofosfat.

#### **(a) Pengenceran Sampel awal**

Metode ini sangat sensitif maka dari itu beberapa sampel harus diencerkan terlebih dahulu sebelum dianalisa. Sampel yang akan dianalisa disini memiliki level fosforus sekitar 5 mg/mL fosforus sementara *linear range* dari metode adalah dari 0,5mg P/L. Maka sampel seharusnya diencerkan dengan cara mengambil 20,00 mL *aliquot* sampel dan diencerkan menjadi 100,0mL dengan

aquades. Larutan yang telah diencerkan selanjutnya mengandung sekitar 1 mg P/L. Peningkatan warna melibatkan 5 kali pengenceran sehingga konsentrasi akhir yang akan diukur sekitar 0,2 mg P/L.

(b) Analisis

Satu orang menyiapkan larutan standar sementara yang lain menyiapkan sampel; enam larutan sampel sebaiknya disiapkan sehingga standar deviasi dapat dihitung.

Siapkan larutan standar kerja dengan konsentrasi 0,0; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; dan 0,50 mg P/L dengan cara berikut :

- (i) Dengan menggunakan buret, tambahkan volume yang sesuai dari larutan standar (1,0 mg P/L) pada 50,0 mL tabung volumetrik
- (ii) Tambahkan 8 mL reagen kombinasi dengan menggunakan pipet ukur
- (iii) Encerkan sampai tanda batas dengan air

Sampel disiapkan pada saat bersamaan dengan cara memipet 10,00 mL aliquot dari sampel yang telah diencerkan ke dalam setiap 50,0 mL tabung volumetrik, tambahkan 8 mL reagen kombinasi dan encerkan sampai tanda batas dengan air.

Larutan-larutan tersebut didiamkan selama 10 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 882 nm. Pengukuran sebaiknya dilakukan dalam waktu 30 menit setelah penambahan reagen kombinasi. Plot absorbansi versus konsentrasi dan tentukan konsentrasi dari fosforus dalam sampel asli (orisinal). Standar deviasi dan standar deviasi relatif.

## **Praktikum 2 : ANALISIS MULTIKOMPONEN**

### **Pendahuluan**

Prinsip dasar dari analisis multikomponen dengan spektrometri absorpsi molekular yaitu bahwa total absorbansi larutan

adalah jumlah absorbansi dari tiap-tiap komponennya. Hal ini tentu saja akan berlaku jika komponen-komponen tersebut tidak berinteraksi dalam bentuk apapun. Secara teori bisa saja terdapat banyak komponen tetapi dalam praktek, lebarnya puncak absorpsi dalam spektrometri UV-sinar tampak memastikan bahwa tidak ada panjang gelombang yang cukup sesuai untuk penentuan sampel dengan jumlah komponen yang banyak. Dalam latihan ini, akan dipelajari dua komponen, yaitu cobalt dan kromium.

Anggap suatu larutan mengandung dua komponen 1 dan 2 dan absorbansi dari larutan ini pada panjang gelombang  $\lambda_1$  adalah  $A_{\lambda_1}$ . Kita asumsikan (jika 1 dan 2 tidak berinteraksi) bahwa  $A_{\lambda_1}$  adalah jumlah absorbansi dari dua komponen yang terpisah 1 dan 2.

Maka : 
$$A_{\lambda_1} = A(1)_{\lambda_1} + A(2)_{\lambda_1}$$

dan jika C(1) dan C(2) merupakan konsentrasi dari komponen 1 dan 2 dalam campuran

Maka : 
$$A_{\lambda_1} = a(1)_{\lambda_1} C(1) + a(2)_{\lambda_1} C(2) \quad (1)$$

dengan cara yang sama pada panjang gelombang lain  $\lambda_2$

$$A_{\lambda_2} = a(1)_{\lambda_2} C(1) + a(2)_{\lambda_2} C(2) \quad (2)$$

Sesungguhnya  $A_{\lambda_1}$  dan  $A_{\lambda_2}$  dapat diukur secara eksperimen. Oleh karena itu jika empat nilai dapat ditentukan, maka dua persamaan di atas mungkin dapat diperlakukan sebagai pasangan persamaan simultan dalam C(1) dan C(2). Empat nilai tersebut adalah absorptivitas komponen 1 dan 2 pada dua panjang gelombang.

### **Prosedur**

#### **(a) Persiapan Larutan**

Dengan menggunakan larutan stok yang tersedia (0,4M cobalt(II) sebagai cobalt(II) nitrate dan 0,1M kromium (III) sebagai kromium(III) nitrate) buat 9 larutan standar berikut dalam 25 ml

tabung standar.

1	0,04M Cobalt (II)		
2	0,08M “		
3	0,16M “		
4	0,01M kromium (III)		
5	0,02M “		
6	0,04M “		
7	0,08M Cobalt (II) dan 0,02M kromium (III)		
8	0,04M “	0,04M “	
9	0,16M “	0,01M “	

Setiap larutan dibuat menjadi 0,1M dengan menambahkan 2,5 mL dari 1,0M asam nitrit dari dispenser yang tersedia ke dalam tiap 25 ml tabung standar.

(b) Penentuan Panjang Gelombang yang Sesuai

Panjang gelombang sebaiknya dipilih yang mana memaksimalkan perbedaan absorptivitas dari dua komponen pada masing-masing panjang gelombang.

Untuk menentukan panjang gelombang yang sesuai scan spektrum dari larutan berikut pada range panjang gelombang 630-370nm dengan menggunakan larutan asam nitrit 0,1M sebagai larutan acuan.

- (i) 0,08M Co(II)
- (ii) 0,02M Cr(III)
- (iii) larutan yang mengandung 0,08M Co(II) dan 0,02 Cr(III)

Baik Hitachi U-2000 maupun Shimadzu UV-240 dapat digunakan. Spektrum harus terekam secara otomatis. Harus dapat teramati bahwa panjang gelombang yang sesuai terjadi pada 510 nm ( $\lambda_{max}$  untuk cobalt) dan 575nm ( $\lambda_{max}$  untuk chromium) dan tidak ada interaksi penting yang terjadi antara kedua komponen ini.

(c) Penentuan Absorptivitas dengan menggunakan Plot Hukum Beer.

Ukur absorbansi dari tiap larutan 1-6 pada kedua panjang gelombang yang telah dipilih di atas. Plot absorbansi vs konsentrasi untuk memperoleh empat grafik Hukum Beer. Dengan mengukur kemiringan dari tiap garis, tentukan absorptivitas tiap komponen pada tiap panjang gelombang.

(d) Penentuan Absorptivitas dengan menggunakan Campuran dari Komposisi yang telah diketahui.

Prinsip dari teknik ini adalah dengan jalan mengambil dua larutan campuran yang telah diketahui komposisinya dan mengukur absorbansi dari tiap larutan campuran pada tiap panjang gelombang yang telah dipilih.

$$\text{Yaitu } A(1)_{\lambda_1} = a(1)_{\lambda_1}C(1,1) + a(2)_{\lambda_1}C(1,2)$$

$$A(2)_{\lambda_1} = a(1)_{\lambda_2}C(2,1) + a(2)_{\lambda_2}C(2,2)$$

$$A(1)_{\lambda_1} = \text{absorbansi campuran 1 pada } \lambda_1$$

$$a(1)_{\lambda_1} = \text{absorptivitas komponen 1 pada } \lambda_1$$

$$C(1,1) = \text{konsentrasi komponen 1 dalam campuran 1}$$

$$C(1,2) = \text{konsentrasi komponen 2 dalam campuran 1}$$

$$A(2)_{\lambda_1} = \text{absorbansi campuran 2 pada } \lambda_1.$$

dan seterusnya

Kemudian pada tiap panjang gelombang, absorptivitas dari tiap komponen dapat diperoleh dari pasangan persamaan simultan.

Untuk latihan ini gunakan larutan campuran 8 dan 9.

(e) Perbandingan Absorptivitas

Sekarang Anda memiliki dua pasang absorptivitas yang ditentukan dengan cara yang berbeda.

Tabulasikan hasil dari (c) dan (d) diatas. Diskusikan dengan asisten lab mengenai perbedaan yang terjadi, khususnya mengenai metode yang digunakan untuk memperoleh data tersebut.

(f) Analisa Standar yang "Tidak Diketahui"

Tujuan dari latihan ini adalah mengambil larutan campuran yang diketahui komposisinya, menggunakan dua pasang absorptivitas dari (c) dan (d), untuk menganalisa campuran ini dan untuk menentukan pasangan absorptivitas mana yang memberikan analisa lebih baik.

Ukur absorbansi larutan 7 pada tiap panjang gelombang yang terpilih dan gunakan absorptivitas yang diperoleh dari (c) dan (d) diatas untuk menentukan konsentrasi  $C_o$  dan  $C_r$  dalam larutan "tidak diketahui" ini. Bandingkan hasil yang diperoleh dengan konsentrasi sesungguhnya.

Nyatakan dan berikan komentar metode mana (c) atau (d) yang menyediakan dat lebih baik.

### **Praktikum 3 :**

#### **PENENTUAN KADAR QUININE DALAM *TONIC WATER* MENGGUNAKAN DERIVATIF SPEKTROMETRI UV-TAMPAK**

Disediakan sampel *tonic water* yang telah di-deareasi dengan menggunakan water vaccum pump, jika tidak gelembung  $CO_2$  akan terbentuk dalam kuvet spektrometer.

Latihan berikut dirancang untuk menggambarkan kegunaan praktis dari spektrometri derivatif dan untuk menunjukkan alasan dibalik prosedur yang diikuti. Latihan yang akan dilaksanakan adalah

1. Jalankan spektrum UV dari sampel tonic water pada range panjang gelombang 420nm hingga 280 nm
2. Untuk perbandingan dengan (1), jalankan spektrum dari 50 ppm larutan quinine. Telah tersedia larutan stok 200 ppm quinine dalam air. Akan tetapi spektrum quinine akan mengalami perubahn yang berarti dengan pH, maka larutan akhir harus di-"buffer" hingga memiliki pH yang sama dengan tonic water (~ 2,5). Larutan buffer yang sesuai juga telah disediakan.

#### CATATAN :

Spektrum di atas seharusnya menunjukkan bahwa quinine yang ada dalam larutan sampel adalah terlalu tinggi konsentrasinya untuk dianalisa/diukur dengan segera . Selain itu juga terdapat latar belakang absorpsi yang dapat dipertimbangkan dan ini yang harus dikoreksi atau dihilangkan yang mana teknik derivatif ini menjadi sangat berguna.

3. Encerkan larutan sampel tonic water dua kali lipat untuk memperoleh pembacaan absorbansi yang lebih sesuai dan siapkan lima larutan standar quinine dalam range konsentrasi 0-50 ppm. Buat larutan hingga 100 mL dengan menggunakan larutan buffer.
4. Sampel tonik water, yang mana quinine telah diekstrak dengan menggunakan kloroform juga telah disediakan. Campuran ini telah diencerkan dua kali lipat dan spektrumnya seharusnya dirunning untuk diamati spektrum background-nya saja.
5. Running spektrum derivatif pertama dari seluruh larutan standar pada range panjang gelombang yang sama dengan menggunakan larutan buffer sebagai acuan. Gunakan spektrum untuk membuat kurva kalibrasi pengukuran derivatif vs konsentrasi quinine gunakan kurva ini untuk memperoleh konsentrasi quinine dalam larutan sampel.
6. Untuk perbandingan akhir, ukur absorbansi sampel dan semua larutan standar pada puncak absorpsi quinine, gunakan quinine yang telah diekstrak sebagai larutan acuan. Anggap tonic water terekstraksi yang disediakan sesuai dengan background sampel (yang mungkin tidak tepat dengan kasus ini yang disebabkan oleh variasi dalam sampel tonic water), kemudian pengukuran ini seharusnya membatalkan background. Gunakan pengukuran ini juga untuk menghitung konsentrasi quinine.

# BAB XVI

## SPEKTROFOTOMETRI INFRA MERAH

### 16.1. TEORI DASAR ABSORPSI INFRA MERAH

Berlawanan dengan transisi elektronik dalam molekul dimana absorpsi terjadi di daerah sinar UV dan sinar tampak, transisi vibrasi terjadi pada energi lebih rendah di daerah infra merah. Untuk menyerap radiasi inframerah, transisi vibrasi (seperti peregangan ikatan antar atom) harus menghasilkan perubahan pada momen dipol dari molekul yang dapat berinteraksi dengan vektor elektrik radiasi yang masuk.

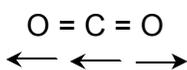
Contoh :



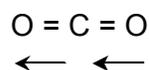
Karena HCl merupakan molekul polar, perubahan pada panjang ikatan akan menghasilkan perubahan momen dipol sehingga HCl akan menyerap pada daerah infra merah.

Dengan kata lain, molekul non-polar seperti  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  atau  $\text{Cl}_2$  tidak akan menghasilkan perubahan momen dipol sehingga tidak akan menyerap pada daerah infra merah.

Karbon dioksida juga merupakan contoh menarik karena mengalami peregangan simetri yang tidak akan menghasilkan perubahan momen dipol dalam molekul sehingga tidak akan ada penyerapan infra merah. Sebaliknya vibrasi peregangan asimetri akan menyebabkan perubahan pada momen dipol sehingga terjadi penyerapan inframerah.



**peregangan simetri  
tidak ada absorpsi infra merah**



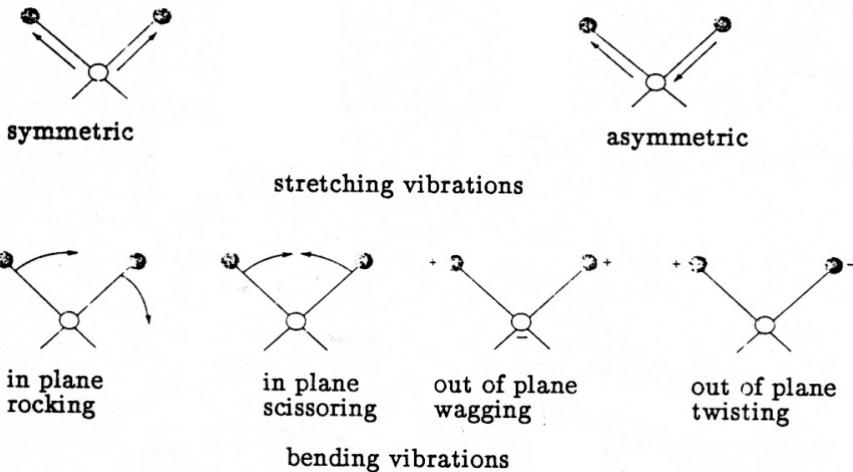
**peregangan asimetri  
terjadi absorpsi infra merah**

## 16.2 STRUKTUR SEMPURNA PADA ABSORPSI INFRA MERAH

Transisi rotasi kecil yang masih ada, dilapiskan pada transisi vibrasi maka struktur terbaik pengamatan dalam sampel berbentuk gas, tetapi pita lebar hanya terjadi di dalam sampel berbentuk cairan dan padatan.

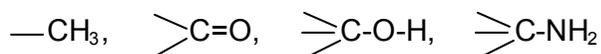
## 16.3. TRANSISI LAIN YANG MENGHASILKAN ABSORPSI INFRA MERAH

Selain vibrasi peregangan, molekul juga mengalami vibrasi pelenturan yaitu *rocking*, *scissoring*, *wagging* dan *twisting*.



## 16.4 KOMPLEKSITAS SPEKTRUM INFRA MERAH

Dengan adanya potensi vibrasi dalam molekul yang lebih besar jumlahnya, ini berarti spektrum inframerah akan lebih kompleks dibanding UV-tampak dan gugus fungsional tertentu mungkin dihubungkan pada pita absorpsi spesifik dalam spektrum inframerah. Sebagai contoh :



mempunyai pita-pita absorpsi infra merah yang spesifik

Absorpsi inframerah dalam molekul akan berada pada daerah pertengahan inframerah antara 2500 dan 15000 nm. Ini sesuai dengan 2,5 sampai 15  $\mu\text{m}$  atau 4000 – 700 bilangan gelombang per sentimeter ( $\text{cm}^{-1}$ )

$$2500 \text{ nm} \equiv 2500 \times 10^{-9} \equiv 2500 \times 10^{-7} \text{ cm}$$

$$\text{dan } 2500 \times 10^{-7} \text{ cm} \equiv \frac{1}{2500 \times 10^{-7}} = 4000 \text{ gelombang per cm}$$

### 16.5 PENYAJIAN SPEKTRUM INFRA MERAH

Spektrum inframerah mungkin disajikan dalam panjang gelombang linier *axis* dalam  $\mu\text{m}$  tetapi instrumen modern umumnya menyajikan spektrum dalam skala bilangan gelombang dengan perubahan dalam skala  $2000 \text{ cm}^{-1}$ . Ini lebih baik karena pada umumnya spektrum akan lebih detil dibawah  $2000 \text{ cm}^{-1}$  daripada diatas  $2000 \text{ cm}^{-1}$ .

### 16.6. APLIKASI SPEKTROMETRI ABSORPSI INFRA MERAH

Spektrofotometer infra merah dapat digunakan untuk beberapa hal berikut ini :

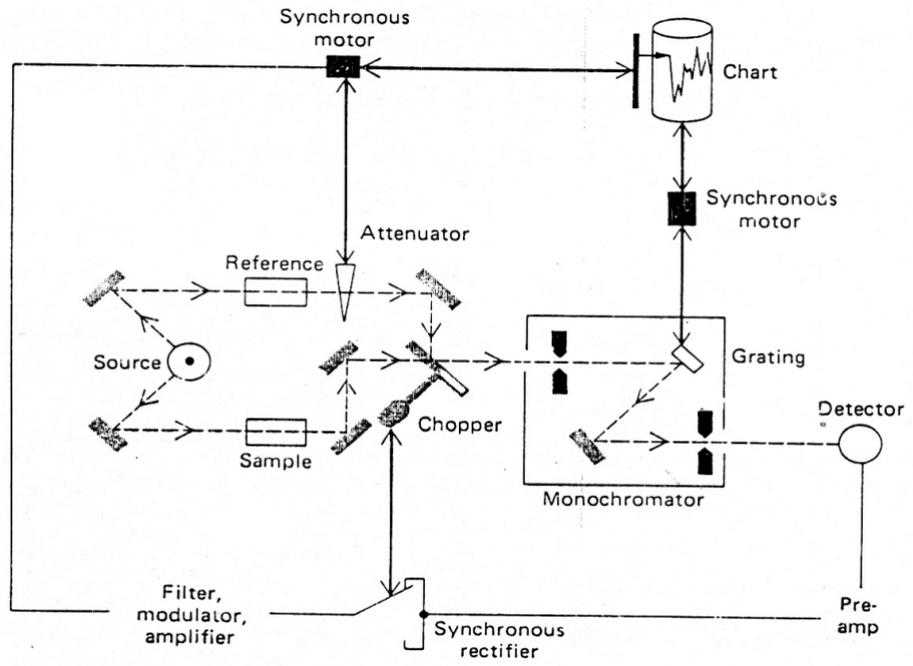
- a. Identifikasi gugus fungsional
- b. Dengan mempertimbangkan adanya informasi lain seperti titik lebur, titik didih, berat molekul dan *refractive index* maka dapat menentukan stuktur dan dapat mengidentifikasi senyawa
- c. Dengan menggunakan komputer, dapat mengidentifikasi senyawa bahkan campuran senyawa.

### 16.7. BAHAN YANG DIGUNAKAN PADA SEL ABSORPSI SPEKTROMETER INFRA MERAH

Gelas, kwarsa dan plastik tidak sesuai untuk bahan sel absorpsi karena bahan-bahan tersebut terdiri atas molekul-molekul

sehingga dapat menyerap pada daerah inframerah. Oleh karena itu sel absorpsi harus dibentuk dari bahan *non-absorbing ionic* seperti kristal padat dari natrium klorida, kalium bromida atau cesium iodida.

### 16.8. INSTRUMENTASI



Gambar 16.1. Skema bagian-bagian spektrometer infra merah.

## **Praktikum      SPEKTROMETRI INFRA MERAH**

### **Tujuan**

Tujuan dari latihan ini menjadi lebih mengenal teknik persiapan sampel dan untuk mendapatkan pengalaman dalam menginterpretasikan spektrum infra merah.

### **Prosedur**

(1)Gunakan sel absorpsi untuk sampel larutan (0,2 mm) dengan lempeng kalium bromida, dapatkan spektrum infra merah dari tiap senyawa cair berikut pada kisaran bilangan gelombang  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  (2,5 – 25  $\mu\text{m}$ ):

- (a) n-heksana
- (b) etanol
- (c) aseton
- (d) karbon tetraklorida
- (e) dietil eter
- (f) nitrometana
- (g) benzena
- (f) anilin

Gunakan tabel yang telah tersedia, jelaskan jenis absorpsi yang berkaitan untuk tiap puncak utama yang teramati.

- (2) Gunakan lempeng KBr untuk mendapatkan spektrum minyak paraffin (Nujol). Dengan menggunakan lempeng yang sama, dapatkan spektrum dari  $\beta$ -toluidine dalam minyak paraffin dan bandingkan spektrum ini dengan anilin yang didapatkan di atas.
- (3) Buat pelet kalium bromida yang terdiri dari p-hidroksi benzaldehid dan dapatkan spektrumnya. Usahakan untuk mengidentifikasi tiap pita absorpsi yang didapatkan dengan menggunakan tabel yang tersedia.
- (4) Dengan menggunakan sel absorpsi untuk sampel larutan,

temukan spektrum dari :

(a) sikloheksana

(b) klorobenzena

(c) 20% larutan v/v dari klorobenzana dan sikloheksana

Simpan setiap spektrum dalam disket komputer, tunjukkan bahwa spektrum klorobenzena dapat diperoleh dengan jalan mengurangi spektrum pelarut (sikloheksana) dari larutan klorobenzena dalam sikloheksana.

(5) Tentukan panjang jalur cell larutan kosong dari gangguan spektrum dengan menggunakan rumus:

$$b = \frac{N}{2(\nu_1 - \nu_2)}$$

dimana : b adalah panjang jalur dalam cm

N adalah jumlah "fringer" dari  $\nu_1$  ke  $\nu_2$

$\nu_1$  dan  $\nu_2$  adalah frekuensi antar "fringer" yang diamati

## BAB XVII

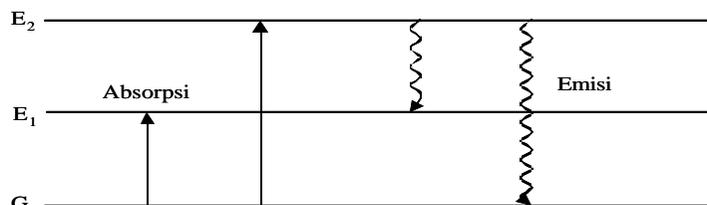
### SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)

#### 17.1. PENDAHULUAN

Absorpsi atom dan spektra emisi memiliki pita yang sangat sempit di bandingkan spektrometri molekuler. Emisi atom adalah proses di mana atom yang tereksitasi kehilangan energi yang disebabkan oleh radiasi cahaya. Misalnya, garam-garam logam akan memberikan warna di dalam nyala ketika energi dari nyala tersebut mengeksitasi atom yang kemudian memancarkan spektrum yang spesifik. Sedangkan absorpsi atom merupakan proses di mana atom dalam keadaan energi rendah menyerap radiasi dan kemudian tereksitasi.

Energi yang diabsorpsi oleh atom disebabkan oleh adanya interaksi antara satu elektron dalam atom dan vektor listrik dari radiasi elektromagnetik. Ketika menyerap radiasi, elektron mengalami transisi dari suatu keadaan energi tertentu ke keadaan energi lainnya. Misalnya dari orbital 2s ke orbital 2p. Pada kondisi ini, atom-atom di katakan berada dalam keadaan tereksitasi (pada tingkat energi tinggi) dan dapat kembali pada keadaan dasar (energi terendah) dengan melepaskan foton pada energi yang sama.

Atom dapat mengadsorpsi atau melepas energi sebagai foton hanya jika energi foton ( $h\nu$ ) tepat sama dengan perbedaan energi antara keadaan tereksitasi ( $E$ ) dan keadaan dasar ( $G$ ) seperti Gambar 17.1 di bawah ini:



Gambar 17.1. Diagram absorpsi dan emisi atom

Absorpsi dan emisi dapat terjadi secara bertahap maupun secara langsung melalui lompatan tingkatan energi yang besar. Misalnya, absorpsi dapat terjadi secara bertahap dari  $G \rightarrow E_1 \rightarrow E_2$ , tetapi dapat terjadi juga tanpa melalui tahapan tersebut  $G \rightarrow E_2$ .

Panjang gelombang yang diserap oleh atom dalam keadaan dasar akan sama dengan panjang gelombang yang diemisikan oleh atom dalam keadaan tereksitasi, apabila energi transisi kedua keadaan tersebut adalah sama tetapi dalam arah yang berlawanan.

Lebar pita spektra yang diabsorpsi atau diemisikan akan sangat sempit jika masing-masing atom yang mengabsorpsi atau memancarkan radiasi mempunyai energi transisi yang sama.

## 17.2. LEBAR PITA SPEKTRA ATOM

Berdasarkan hukum ketidakpastian Heisenberg, lebar pita alami spektra atom berkisar  $10^{-4} - 10^{-5}$  nm. Akan tetapi, terdapat beberapa proses yang dapat menyebabkan pelebaran pita hingga 0.001 nm yang akan dijelaskan lebih lanjut dalam efek Doppler. .

### Efek Doppler

Jika tubuh memancarkan suatu bentuk gelombang menuju seorang pengamat, maka pengamat akan mendeteksi panjang gelombang seolah lebih pendek dari yang diemisikan tersebut. Jika tubuh bergerak menjauh dari pengamat, maka panjang gelombang seolah menjadi lebih panjang. Fenomena ini disebut efek Doppler dan dapat menyebabkan pelebaran pita karena adanya pergerakan termal (panas). Hal yang sama juga terjadi pada atom, dimana dalam suatu kumpulan atom, beberapa atom akan bergerak maju dan sebagian lagi menjauh dari detektor ketika emisi terjadi, sehingga daerah panjang gelombang yang diamati menjadi lebih besar. Efek ini akan semakin besar pada temperatur tinggi karena pergerakan atom akan semakin meningkat yang menyebabkan terjadinya pelebaran pita absorpsi.

### Pelebaran tekanan (Pressure Broadening)

Jika suatu atom yang mengabsorpsi atau memancarkan radiasi bertumbukan dengan atom lain, tumbukan tersebut akan mempengaruhi panjang gelombang foton yang diradiasikan karena terjadi perubahan tingkat energi dalam yang menyebabkan perbedaan keadaan transisi.

Tumbukan yang terjadi antara suatu atom yang mengabsorpsi atau memancarkan radiasi dengan atom gas lain disebut dengan pelebaran Lorentz (Lorentz Broadening). Jika atom-atom yang mengabsorpsi dan memancarkan radiasi juga terlibat tumbukan, maka disebut pelebaran Holzmark (Holzmark Broadening). Dalam semua hal, semakin tinggi temperatur, maka tumbukan akan semakin sering terjadi sehingga terjadi pelebaran pita yang disebut dengan pelebaran tekanan (Pressure Broadening).

### **17.3. SPEKTROMETER SERAPAN ATOM**

Secara umum, komponen-komponen spektrometer serapan atom (SSA) adalah sama dengan spektrometer UV/Vis. Keduanya mempunyai komponen yang terdiri dari sumber cahaya, tempat sample, monokromator, dan detektor. Analisa sample dilakukan melalui pengukuran absorbansi sebagai fungsi konsentrasi standard dan menggunakan hukum Beer untuk menentukan konsentrasi sample yang tidak diketahui. Walaupun komponen-komponennya sama, akan tetapi sumber cahaya dan tempat sampel yang digunakan pada SSA memiliki karakteristik yang sangat berbeda dari yang digunakan dalam spektrometri molekul (misal: UV/Vis).

#### Sumber Cahaya

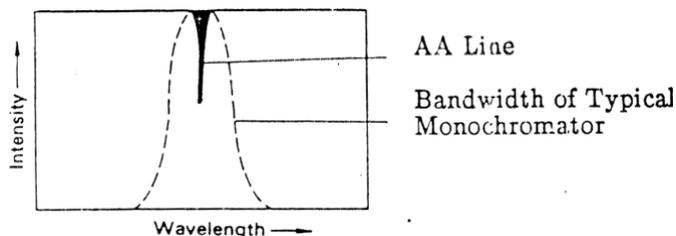
Karena lebar pita pada absorpsi atom sekitar 0.001 nm, maka tidak mungkin untuk menggunakan sumber cahaya kontinyu seperti pada spektrometri molekuler dengan dua alasan utama sebagai berikut:

(a) Pita-pita absorpsi yang dihasilkan oleh atom-atom jauh lebih

sempit dari pita-pita yang dihasilkan oleh spektrometri molekul. Jika sumber cahaya kontinu digunakan, maka pita radiasi yang di berikan oleh monokromator jauh lebih lebar dari pada pita absorpsi, sehingga banyak radiasi yang tidak mempunyai kesempatan untuk diabsorpsi yang mengakibatkan sensitifitas atau kepekaan SSA menjadi jelek.

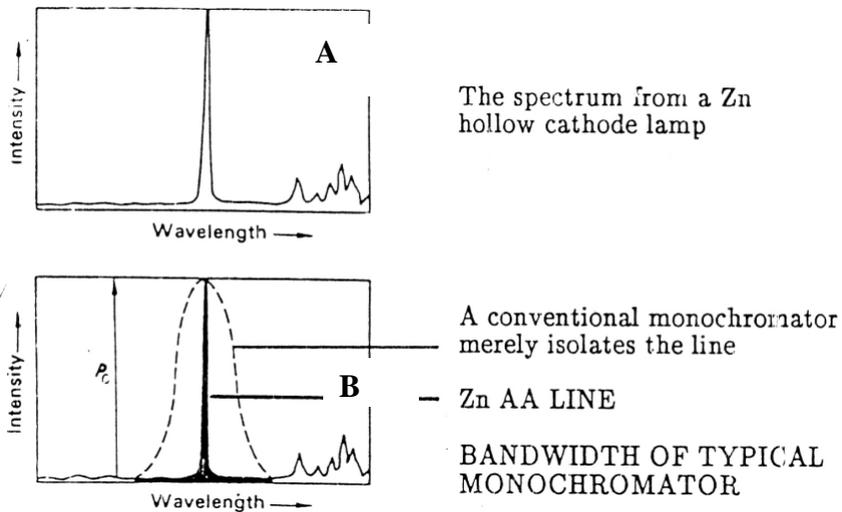
(b) Karena banyak radiasi dari sumber cahaya yang tidak terabsorpsi oleh atom, maka sumber cahaya kontinu yang sangat kuat diperlukan untuk menghasilkan energi yang besar di dalam daerah panjang gelombang yang sangat sempit atau perlu menggunakan detektor yang jauh lebih sensitif dibandingkan detektor fotomultiplier biasa, akan tetapi di dalam prakteknya hal ini tidak efektif sehingga tidak dilakukan.

Secara umum, hukum Beer tidak akan dipenuhi kecuali jika pita emisi lebih sempit dari pita absorpsi. Hal ini berarti bahwa semua panjang gelombang yang dipakai untuk mendeteksi sampel harus mampu diserap oleh sampel tersebut. Gambar 17.2 menunjukkan perbandingan pita absorpsi atom dan pita spektrum sumber cahaya kontinu yang dihasilkan oleh monokromator. Dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa sebagian besar radiasi tidak dapat diabsorpsi karena panjang gelombangnya tidak berada pada daerah pita absorpsi atom yang sangat sempit dan dapat dikatakan bahwa sangat banyak cahaya yang tidak digunakan atau menyimpang.



**Gambar 17.2. Perbandingan pita absorpsi atom dan pita spektrum sumber cahaya kontinu yang dihasilkan oleh monokromator**

Masalah ini dapat diatasi oleh Alan Walsh pada tahun 1953, dengan menggunakan sumber cahaya tunggal (line source) sebagai pengganti sumber cahaya kontinu. Sebagian besar sumber cahaya tunggal yang digunakan berasal dari lampu katode berongga (hollow cathode lamp) yang memancarkan spektrum emisi atom dari elemen tertentu, misalnya lampu katode berongga Zn digunakan untuk menganalisis Zn. Gambar 3a dan 3b menunjukkan cahaya tunggal mengatasi masalah yang telah diuraikan di atas.



**Gambar 17.3. Pengaruh sumber cahaya tunggal terhadap pita absorpsi**

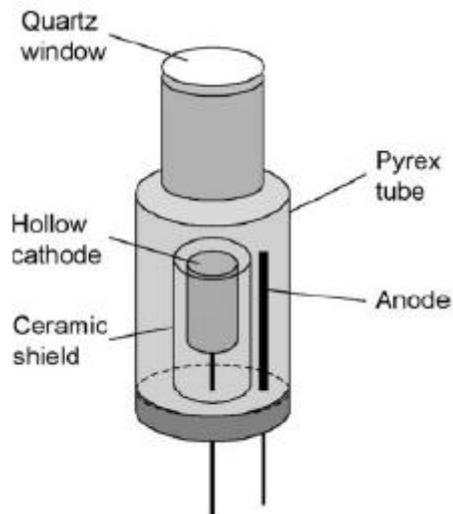
Spektrum Zn diamati pada panjang gelombang 213,4 nm sebelum dan sesudah transmisi melalui monokromator konvensional. Walaupun lebar pita dari monokromator tidak lebih kecil dari sebelum transmisi, akan tetapi sampel yang diukur berada dalam daerah panjang gelombang yang diinginkan. Dengan memilih lampu yang mengandung analit yang diukur, maka kita dapat mengetahui bahwa panjang gelombang yang digunakan sama dengan dengan pita absorpsi analit yang diukur. Ini berarti bahwa semua radiasi yang dipancarkan oleh sumber

cahaya dapat diabsorpsi sampel dan hukum Beer dapat di gunakan.

Dengan menggunakan sumber cahaya tunggal, monokromator konvensional dapat dipakai untuk mengisolasi satu pita spektra saja yang biasanya disebut dengan pita resonansi. Pita resonansi ini menunjukkan transisi atom dari keadaan dasar ke keadaan transisi pertama, yang biasanya sangat sensitif untuk mendeteksi logam yang diukur.

#### Lampu Katode Berongga (Hollow Cathode Lamp)

Bentuk lampu katode dapat dilihat pada gambar 17.4. Ciri utama lampu ini adalah mempunyai katode silindris berongga yang dibuat dari logam tertentu. Katode and anode tungsten diletakkan dalam pelindung gelas tertutup yang mengandung gas inert (Ne atau Ar) dengan tekanan 1-5 torr. Lampu ini mempunyai potensial 500 V, sedangkan arus berkisar antara 2 – 20 mA.



**Gambar 17.4. Lampu katode berongga**

Adapun gas pengisi terionisasi pada anode, dan ion-ion yang dihasilkan dipercepat menuju katode dimana bombardemen ion-ion

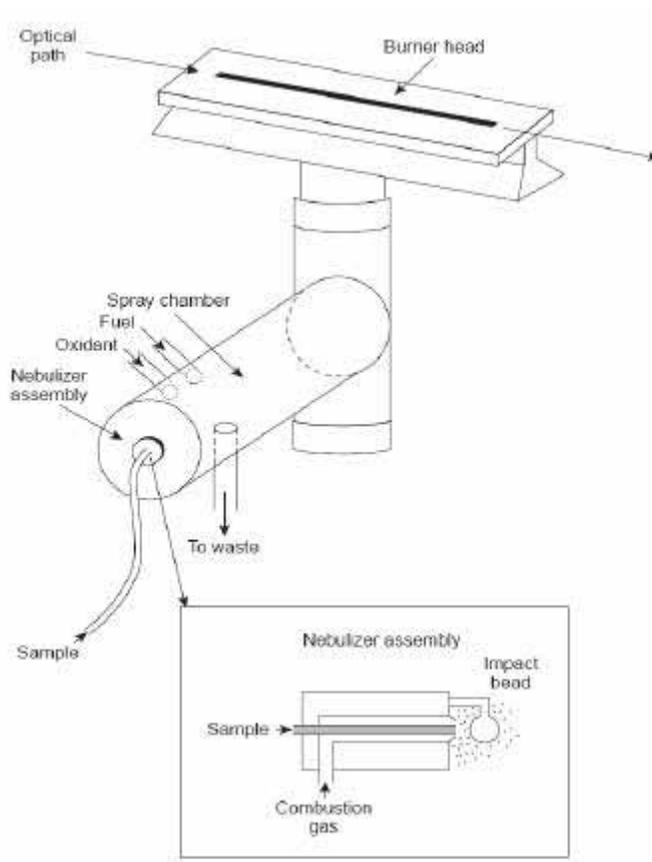
ini menyebabkan atom-atom logam menjadi terlepas ke permukaan dan terbentuk awan/populasi atom. Proses ini disebut dengan percikan atom (sputtering). Lebih jauh lagi, tumbukan ini menyebabkan beberapa atom tereksitasi dan kemudian kembali pada keadaan dasar dengan memancarkan spektrum atom yang spesifik. Spektrum gas pengisi (dan komponen lain yang terdapat dalam katode) juga dipancarkan. Jendela atau tempat dimana radiasi keluar dari lampu biasanya dibuat dari silika sehingga dapat menggunakan panjang gelombang di bawah 350 nm.

### Nyala

Fungsi nyala adalah untuk memproduksi atom-atom yang dapat mengabsorpsi radiasi yang dipancarkan oleh lampu katode tabung.

Pada umumnya, peralatan yang digunakan untuk mengalirkan sample menuju nyala adalah nebulizer pneumatic yang dihubungkan dengan pembakar (burner). Diagram nebulizer dapat dilihat pada Gambar 17.5.

Sebelum menuju nyala, sample mengalir melalui pipa kapiler dan dinebulisasi oleh aliran gas pengoksidasi sehingga menghasilkan aerosol. Kemudian, aerosol yang terbentuk bercampur dengan bahan bakar menuju ke burner. Sample yang menuju burner hanya berkisar 5-10% sedangkan sisanya (90-95%) menuju tempat pembuangan (drain). Pipa pembuangan selalu berbentuk "U" untuk menghindari gas keluar yang dapat menyebabkan ledakan serius. Sample yang berada pada nyala kemudian diatomisasi, dan cahaya dari lampu katode tabung dilewatkan melalui nyala. Sample yang berada pada nyala akan menyerap cahaya tersebut.



**Gambar 17.5. Nebuliser pada spektrometer serapan atom (SSA)**

### Jenis-jenis nyala

Ada 3 jenis nyala dalam spektrometri serapan atom yaitu:

(a) Udara – Propana

Jenis nyala ini relatif lebih dingin ( $1800^{\circ}\text{C}$ ) dibandingkan jenis nyala lainnya. Nyala ini akan menghasilkan sensitifitas yang baik jika elemen yang akan diukur mudah terionisasi seperti Na, K, Cu.

(b) Udara – Asetilen

Jenis nyala ini adalah yang paling umum dipakai dalam AAS. Nyala ini menghasilkan temperatur sekitar  $2300^{\circ}\text{C}$  yang dapat mengatomisasi hampir semua elemen. Oksida-oksida yang

stabil seperti Ca, Mo juga dapat analisa menggunakan jenis nyala ini dengan memvariasi rasio jumlah bahan bakar terhadap gas pengoksidasi.

(c) Nitrous oksida – Asetilen

Jenis nyala ini paling panas ( $3000^{\circ}\text{C}$ ), dan sangat baik digunakan untuk menganalisa sampel yang banyak mengandung logam-logam oksida seperti Al, Si, Ti, W.

Faktor-faktor Instrumental

Apapun jenis nyala yang digunakan harus dapat mengatomisasi analit semaksimal mungkin tanpa menyebabkan ionisasi sehingga menghasilkan atom-atom analit bebas dalam jumlah yang besar pada keadaan dasar. Atom-atom ini kemudian menyerap radiasi dari sumber cahaya pada panjang gelombang tertentu.

Meskipun sebagian besar atom-atom dalam nyala berada dalam keadaan dasar, sebagian lagi mengalami eksitasi yang kemudian kembali pada keadaan dasar dengan memancarkan spektrum atomik yang spesifik. Hal ini berarti bahwa nyala berperan ganda baik sebagai penyerap maupun pemancar, dan seorang analis harus mampu membedakan antara kedua proses ini sehingga tingkat absorpsi dapat diukur. Hal ini dapat dilakukan dengan pengaturan sumber cahaya, misalnya melalui perlakuan yang dapat mengakibatkan cahaya yang mencapai nyala dibelokkan. Dengan pengaturan sumber cahaya ini, sinyal absorpsi dibelokkan sementara sinyal emisi diteruskan. Dengan mengatur detektor ke posisi pembelokan sinyal, maka pengaruh nyala emisi dapat diabaikan.

Sinyal lampu dapat diatur dengan 2 cara, yaitu:

- (a) tombol pengatur diletakkan dalam berkas cahaya sebelum cahaya mencapai nyala (flame) sehingga dapat ditutup dan diteruskan secara bergantian.

(b) sumber tenaga dari lampu katode berongga dibelokkan sehingga berkas yang dihasilkan juga dibelokkan.

Pada kedua cara tersebut di atas, detektor diatur dengan menghubungkan alat pengatur ke detektor.

#### Intrumentasi berkas ganda

Sebagaimana dalam spektrometri molekuler, intrumentasi-intrumentasi berkas ganda dapat didesain menggunakan 50% cermin penransmisi atau cermin yang dapat berputar untuk membagi berkas dari sumber cahaya. Akan tetapi, penggunaan berkas ganda hanya memberikan sedikit keuntungan terhadap spektrometri serapan atom karena berkas referesi tidak dapat lolos melalui sebagian besar daerah "noise-prone" dari instrumen, yaitu nyala. Sistem berkas ganda dapat mengurangi pergeseran sumber cahaya, pemanasan, dan sumber noise yang dapat meningkatkan ketelitian pengukuran. Akan tetapi, sumber utama noise adalah nyala sehingga keuntungan ini menjadi sedikit dan mungkin menyebabkan penurunan intensitas cahaya yang signifikan. Hal ini menyebabkan rasio sinyal terhadap noise (signal-to-noise ratio) menjadi lebih kecil.

#### Koreksi "background"

Penggunaan berkas kedua dari radiasi kontinyu diperkirakan akan lebih menguntungkan untuk mengkoreksi absorpsi non-atomik. Ketika menggunakan sumber cahaya yaitu lampu katode berongga, kita mengamati serapan atom dalam nyala, absorpsi dari spesies molekuler dan hamburan dari partikulat. Hamburan partikulat ini dikenal sebagai absorpsi non-spesifik dan merupakan masalah khusus yang terjadi pada panjang gelombang lebih pendek dan dapat menyebabkan kesalahan positif. Jika menggunakan sumber cahaya kontinyu (misal:

deuterium atau lampu katode berongga hidrogen), jumlah serapan atom yang diamati dapat diabaikan, tetapi jumlah yang sama dari absorpsi non-spesifik dapat diketahui. Kemudian, jika sinyal yang diamati dengan sumber cahaya kontinyu dikurangi dengan sinyal yang diamati dengan sumber cahaya tunggal, maka kesalahan dapat dihindari. Koreksi "background" juga dapat meningkatkan ketelitian karena faktor-faktor yang dapat meningkatkan absorpsi non-spesifik menjadi tidak reproduksibel.

### Faktor-Faktor Percobaan

#### (a) Pengaruh arus lampu katode berongga

Arus rendah lebih direkomendasikan untuk digunakan. Sebenarnya, semakin tinggi arus listrik akan meningkatkan intensitas berkas cahaya, akan tetapi karena SSA merupakan suatu teknik perbandingan, maka peningkatan intensitas tidak dapat meningkatkan sensitivitas. Penggunaan arus yang tinggi pada lampu katode berongga justru akan mengurangi masa pakai lampu tersebut. Pengaruh yang paling penting jika arus lampu ditinggikan adalah ketika menganalisa logam-logam yang lebih volatil misalnya seng (Zn), dimana "self absorption" dapat diamati. Peningkatan arus dapat menyebabkan 2 hal yaitu:

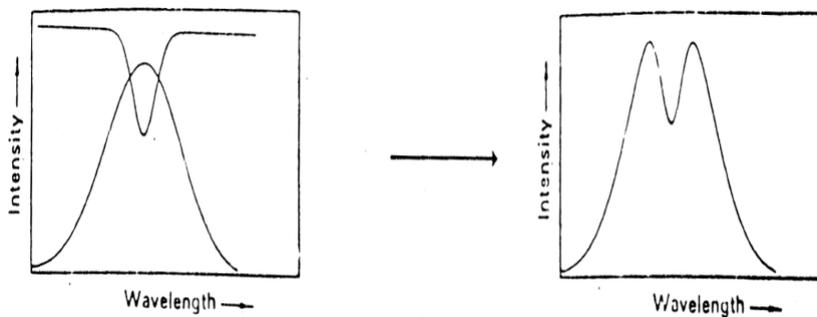
- (1) Garis emisi akan melebar yang disebabkan oleh efek Doppler pada temperatur tinggi
- (2) Sejumlah besar atom-atom tidak dihamburkan keluar dari lampu katode tetapi proporsi atom dalam keadaan dasar meningkat.

Sebagai hasilnya, atom-atom dalam keadaan dasar yang terdapat di dalam lampu katode menyerap banyak radiasi pita resonansi; karena atom-atom dalam keadaan dasar lebih dingin, atom-atom tersebut akan menyerap radiasi pada daerah yang lebih sempit sehingga pusat dari puncak emisi akan terabsorpsi sebagaimana terlihat pada Gambar 11.6. Meskipun intensitas

lampu meningkat akan tetapi intensitas dalam daerah panjang gelombang yang dapat di serap oleh atom-atom pada keadaan dasar di dalam nyala akan menurun. Garis emisi yang melebar akan berperan sebagai cahaya nyasar (stray light) yang mengakibatkan penurunan sensitivitas dan ketidaklinearan kurva kalibrasi.

(b) Pengaruh lebar celah

Biasanya pemilihan lebar celah bukanlah suatu hal yang kritis karena lebar pita spektra tidak jauh lebih kecil daripada kapabilitas monokromator. Hal ini karena garis emisi atom biasanya terpisah sangat baik satu sama lainnya sehingga lebar celah masih dapat mengisolasi garis resonansi dengan mudah.

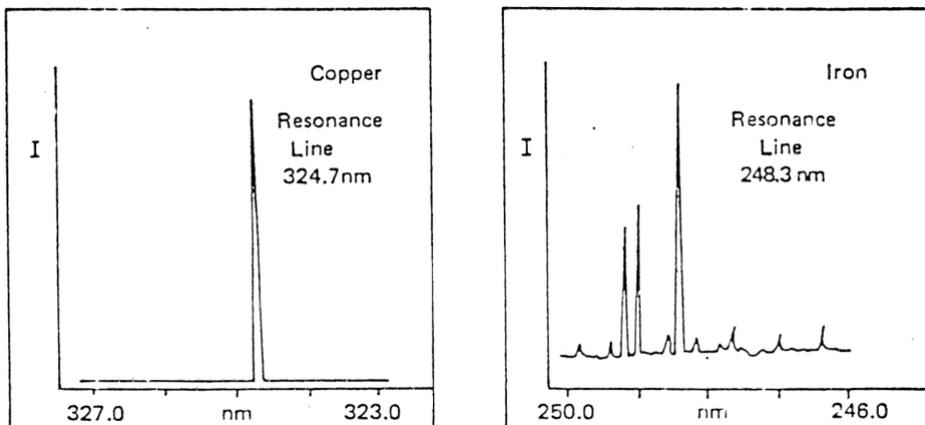


**Gambar 17.6. Pemotongan puncak spektra**

Akan tetapi, beberapa logam memiliki garis emisi yang sangat berdekatan terhadap garis resonansi analitik yang dapat menyebabkan radiasi tidak diserap atau terserap sebagian kecil saja oleh atom-atom pada keadaan dasar di dalam nyala, di mana atom-atom tersebut mungkin berada pada garis emisi yang lebih tinggi, atau garis emisi gas pengisi. Pada kondisi seperti ini, kemampuan celah keluar (exit slit) untuk mengisolasi garis resonansi merupakan hal yang sangat penting.

Gambar 17.7 menunjukkan spektra emisi di sekitar garis resonansi Cu dan Fe. Lebar celah tidak akan berpengaruh ketika

menganalisa Cu, akan tetapi celah yang lebih sempit diperlukan jika menganalisa Fe. Jika celah memperbolehkan garis-garis non resonansi menuju detektor, maka garis-garis yang lain tidak akan diserap dan berperan sebagai garis yang nyasar yang menyebabkan ketidaklinearan kurva kalibrasi dan sensitivitas yang rendah.



**Gambar 17.7. Spektra emisi di sekitar garis resonansi Cu (kiri) dan Fe (kanan)**

### Gangguan pada SSA

a. Gangguan spektra

Gangguan-gangguan spektra dalam spektrum serapan atom dapat diabaikan karena kemungkinan terjadinya tumpang tindih spektra sangat kecil. Akan tetapi gangguan spektra yang disebabkan oleh absorpsi atau hamburan molekul tidak dapat diabaikan. Gangguan ini dapat diatasi dengan mengoreksi background sebagaimana telah didiskusikan sebelumnya.

#### b. Gangguan fisika

Perbedaan-perbedaan yang signifikan antara sifat-sifat sampel dan larutan standar seperti viskositas (kekentalan), tegangan permukaan, berat jenis, dan sifat-sifat fisik lainnya dapat menyebabkan perbedaan didalam nebuliser. Hal ini karena hanya aerosol yang sangat kecil (finest mist) yang akan mencapai nyala dan proporsi sampel yang dapat dikonversi menjadi "fine mist" tergantung pada sifat-sifat fisiknya. Perlu dicatat bahwa sifat fisik ini dapat juga tergantung pada pH.

Jika proporsi sampel yang mencapai nyala lebih besar daripada larutan standar (misal jika senyawa-senyawa organik terlarut berada pada tegangan permukaan yang lebih rendah) maka akan memberikan gangguan positif. Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan metode adisi standar (yang akan dijelaskan kemudian).

#### c. Gangguan kimia

Jika suatu bahan terdapat dalam sampel dan bereaksi dengan analit membentuk senyawa yang stabil (yang sulit didekomposisi oleh nyala) maka akan menyebabkan gangguan negatif. Contoh yang sederhana adalah pengaruh sulfat atau fosfat pada penentuan kalsium. Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah ini:

- (1) Menambahkan reagent yang dapat bereaksi lebih kuat terhadap ion pengganggu. Misalnya penambahan lantanum dapat mengatasi gangguan fosfat melalui pembentukan lantanum fosfat ( Lantanum harus juga ditambahkan pada larutan standar)
- (2) Menambahkan reagent yang dapat bereaksi lebih kuat terhadap analit yang dapat mengasilkkan produk yang dapat didekomposisi didalam nyala. Misalnya penambahan EDTA akan dapat mengatasi gangguan fosfat karena EDTA

akan bereaksi dengan kalsium (EDTA harus juga ditambahkan pada larutan standar)

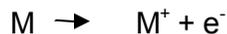
- (3) Menambahkan ion pengganggu dalam jumlah berlebih baik pada sampel maupun larutan standar. Akan tetapi cara ini akan menurunkan sensitivitas.
- (4) Menggunakan nyala yang lebih panas, misalnya  $N_2O/C_2H_2$ .
- (5) Diberikan suatu perlakuan terhadap sampel untuk memisahkan pengganggu. Standar juga harus diberikan perlakuan yang sama.

#### d. Gangguan ionisasi

Jika analit yang akan diukur terionisasi di dalam nyala karena eksitasi termal, maka sensitivitas pengukuran terhadap analit menurun karena jumlah radiasi yang diserap sangatlah kecil. Hal ini dapat diatasi dengan menambahkan logam lain yang lebih mudah terionisasi dengan konsentrasi yang tinggi, misalnya K, Rb, atau Cs. Kalium lebih sering dipakai karena Rb dan Cs sangat mahal. Ketika logam yang lebih mudah terionisasi ditambahkan (misalnya K), maka :



Keseimbangan atom dalam analit yang ditentukan:



Keseimbangan reaksi pada analit akan bergeser ke kiri, karena ada penambahan elektron dari reaksi kesetimbangan Kalium, sehingga atom-atom M dalam keadaan dasar akan lebih banyak.

#### Metode Adisi Standar

Ketika menggunakan kurva kalibrasi konvensional, maka harus diketahui bahwa perbandingan respon/konsentrasi adalah sama baik di dalam sampel maupun di dalam larutan standar.

Ada dua keadaan yang dapat menyebabkan ketidak-akuratan ketika menggunakan kurva kalibrasi, yaitu:

- (1) Faktor-faktor yang berada di dalam sample yang mengubah perbandingan respon/konsentrasi, tetapi faktor tersebut tidak ada di dalam larutan standar (misalnya perubahan pH, kekuatan ion, kekeruhan, viskositas, gangguan kimia dan lain lain). Faktor-faktor tersebut akan mengubah kemiringan (slope) kurva kalibrasi.
- (2) Faktor yang tampak/kelihatan pada alat pendeteksi misalnya warna atau kekeruhan sample yang menyerap atau menghamburkan cahaya pada panjang gelombang pengukuran. Faktor ini tidak berpengaruh terhadap slope kurva kalibrasi.

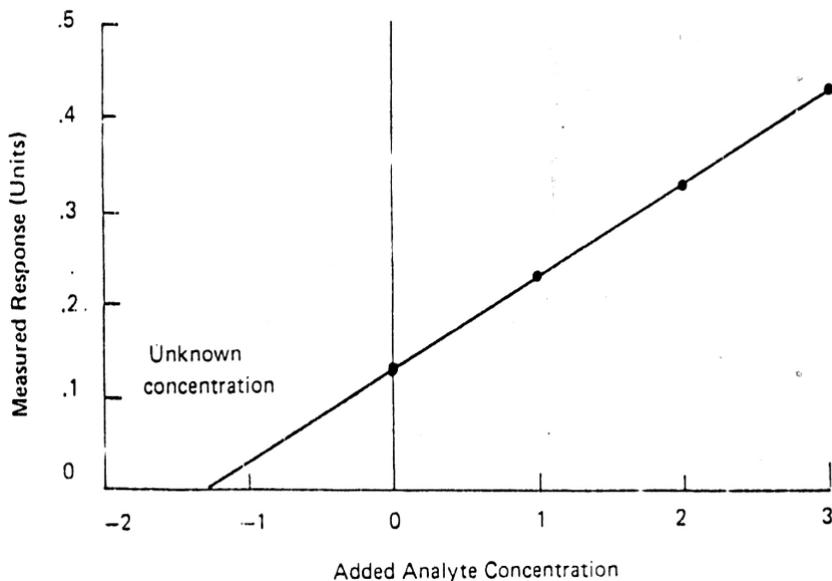
Jika perbandingan respon/konsentrasi antara sampel dan larutan standar tidak sama, misalnya disebabkan oleh matrik atau komposisi yang berbeda antara sample dan standar, maka penggunaan kurva kalibrasi untuk menentukan konsentrasi sampel akan memberikan hasil yang tidak akurat. Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan metode adisi standar. Dengan menggunakan metode ini, ke dalam sejumlah sampel ditambahkan larutan standar (konsentrasi diketahui dengan pasti) dengan volume yang bervariasi. Kemudian diencerkan hingga volumenya sama. Dengan demikian maka baik matrik sampel maupun matrik standar adalah sama. Yang berbeda hanyalah konsentrasi standar yang ditambahkan pada sampel. Untuk lebih mudahnya, persiapan sampel dapat dilakukan seperti dalam Tabel 11.1 (misal konsentrasi larutan standar adalah 10 unit).

Kurva adisi standar dari Tabel 11.1 dapat dilihat pada Gambar 11.8. Pada gambar tersebut, sumbu X adalah konsentrasi standar yang ditambahkan setelah pengenceran sampai 50.0 mL. Intersep yang diplotkan pada sumbu X merupakan nilai mutlak

Tabel 17.1. Preparasi larutan sampel untuk adisi standar.

Volume sample (mL)	Volume standar yang ditambahkan (mL)	Volume akhir (mL)	Konsentrasi yang ditambahkan	Respon
25.0	0.0	50.0	0.0	0.13
25.0	5.0	50.0	1.0	0.23
25.0	10.0	50.0	2.0	0.33
25.0	15.0	50.0	3.0	0.43

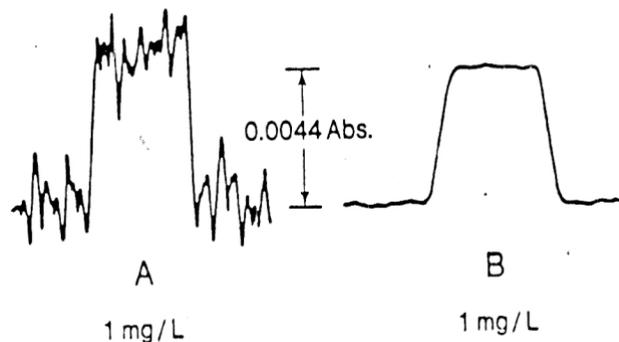
yang menunjukkan konsentrasi analit dalam sample setelah pengenceran sampai 50 mL, yaitu 1.3 unit. Dengan demikian konsentrasi sample sebelum diencerkan adalah sebesar 2.6 unit ( $1.3 \text{ unit} \times 50.0/25.0$ ).



Gambar 17.8. Kurva adisi standar

### Sensitivitas dan Limit Deteksi

Limit deteksi (LOD) adalah konsentrasi terkecil yang berbeda dari blangko yang secara statistik dapat dideteksi. LOD ini dihitung berdasarkan dua kali standar deviasi dari pengukuran sedikitnya 10 kali larutan blangko. Limit deteksi juga memberikan petunjuk kestabilan sistem instrumentasi secara menyeluruh, dimana LOD ini akan berbeda-beda untuk instrumentasi yang satu dengan lainnya. Bahkan LOD dari satu instrumentasi dapat berbeda dari hari ke hari. Karakteristik konsentrasi (sering juga disebut sebagai sensitivitas) untuk 1% absorpsi adalah konsentrasi dari suatu elemen yang memberikan pembacaan 0.0044 unit absorban. Karakteristik konsentrasi tergantung pada beberapa faktor misalnya efisiensi atomisasi, efisiensi nyala, dan noise. Gambar 11.9 meng-ilustrasi-kan perbedaan antara sensitivitas dan limit deteksi. Gambar 11.9A maupun 11.9B memiliki sensitivitas yang sama, akan tetapi limit deteksi B lebih baik di bandingkan A.



**Gambar 17.9. Perbedaan antara sensitivitas dan limit deteksi**

## PRAKTIKUM SSA

### Alat :

Spektrofotometer Serapan Atom (Varian Terchtron, Philip atau Shimadzu, dll)

### Bahan yang digunakan adalah :

Larutan  $\text{Cu}^{2+}$  30 ppm; Larutan  $\text{Ca}^{2+}$  30 ppm ; larutan  $\text{Fe}^{3+}$  60 ppm; Larutan  $\text{H}_3\text{PO}_4$  400 ppm, Larutan EDTA 0.1 M

### Tugas 1 : Optimasi alat SSA

#### Tujuan :

Mengoperasikan alat SSA secara optimal

#### Prosedur percobaan :

1. Hubungkan sumber arus dengan alat dan pilihlah %T, A atau E (emisi) sesuai dengan keperluan
2. Pilihlah lampu sesuai dengan zat yang akan dianalisis dan letakkan pada alat (dalam hal ini pilihlah lampu Cu)
3. Aturlah arus lampu pada harga yang sesuai (tergantung pada lampunya)
4. Cek apakah kedudukan lampu tepat lurus ditengah-tengah celah
5. Pilihlah lebar celah yang sesuai dengan lampu yang dipakai
6. Aturlah kedudukan lampu agar memperoleh absorbansi yang tinggi
7. Aturlah panjang gelombang sesuai lampu katodanya
8. Secara teliti aturlah monokromator untuk mendapatkan harga yang tinggi
9. Luruskan letak lampu untuk mendapatkan harga yang maksimum
10. Pilihlah pembakar yang dipergunakan untuk api udara-asetilen

11. Lihatlah api pembakar, api larutan sampel (dalam hal ini digunakan larutan  $\text{Cu}^{2+}$  3 ppm) dan aturlah kedudukan pembakar untuk mendapatkan absorbansi yang maksimum
12. Aturlah kondisi api misal dengan mengatur perbandingan gas dan oksidan untuk mendapatkan absorbansi maksimum (bila perlu ulangilah langkah 11 setelah 12)
13. Gunakan air destilasi dan aturlah 100 % transmisi
14. Gunakan larutan  $\text{Cu}^{2+}$  3 ppm , jika alat ini telah dioptimasi dengan baik maka akan memberikan absorbansi 0,2 atau 60% Transmisi.

**Catatan :**

Bila mematikan nyala, selalu yang dimatikan dahulu adalah gasnya (asetilen, propan, gas alam) diikuti oleh udara dan biarkan selama 30 atau 40 detik baru dimatikan.

**Tugas 2 : Memilih panjang gelombang**

**Tujuan percobaan :**

Memilih panjang gelombang yang menghasilkan sensitivitas pengukuran yang maksimum

Spektrum pancaran (emisi) yang dihasilkan oleh lampu katoda terdiri dari garis-garis yang diakibatkan karena adanya gas pengisi (biasanya neon), beberapa logam yang berada di dalam lampu katoda dan juga logam yang dianalisis. Lampu yang digunakan adalah lampu Cu, maka semua spektrum emisi Cu harus ada. Meskipun demikian hanya garis spektrum yang disebabkan oleh transisi yang melibatkan keadaan dasar saja yang diserap dalam SSA. Karena atom-atom yang ada dalam api hampir semuanya berada dalam keadaan dasar. Garis spektrum yang dapat diserap ini akan memberikan sensitivitas yang berbeda-beda. Hal ini sangat menguntungkan, sebagai contoh : suatu larutan sampel dengan konsentrasi tinggi dapat dianalisis pada panjang gelombang yang berbeda untuk menghindari pengenceran. Tabel berikut ini

menunjukkan panjang gelombang dan sensitivitas relatif yang dapat digunakan untuk penentuan Cu.

**Tabel 17.2. Hubungan antara panjang gelombang , sensitivitas relatif dan sensitivitas penentuan Cu**

Panjang gelombang ( nm)	Sensitivitas relatif mg/L	Sensitivitas
324,7	0,04	1
327,5	0,14	3,5
217,9	0,33	8,3
218,2	0,44	11
222,5	1,50	38
249,2	4,90	120
244,2	11,20	280

**Prosedur percobaan :**

1. Hitunglah absorbansi larutan Cu 3 ppm pada panjang gelombang 324,7 ; 327,5 ; 296,0 dan 217,9 nm
2. Catatlah perbedaan absorbansi yang ditunjukkan dan pada kenyataannya pada panjang gelombang 296,0 nm tidak ada absorbansi
3. Bahas , hasil yang diperoleh

**Tugas 3 : Membuat kurva baku**

**Tujuan percobaan :**

1. Membuat kurva standar antara absorbansi (sumbu y) terhadap konsentrasi (sumbu x)
2. Memilih konsentrasi yang memenuhi hukum Lambert-Beer( kurva linier)

## **Pendahuluan**

Dasar pemilihan konsentrasi larutan baku adalah sensitivitas analisis larutan Cu. Sensitivitas analisis dalam SSA adalah konsentrasi analit (dalam ppm) yang menghasilkan 99% transmisi yang sama dengan absorbansi A 0,004. Sensitivitas analisis larutan Cu adalah 0,04 mg/L. Sehingga pada panjang gelombang 324,7 nm larutan Cu 4,0 mg/L (4 ppm) memberikan absorbansi  $\pm 0,4$  (tanyakan pada asisten cara perhitungannya). Suatu larutan yang mempunyai konsentrasi 100 kali sensitivitas analisis harus menunjukkan absorbansi sebesar 0,4 (kira-kira sama dengan 40%T yang sesuai dengan hukum Lambert-Beer). Larutan ini ideal untuk optimasi alat.

### **Prosedur percobaan :**

1. Buatlah larutan baku  $\text{Cu}^{2+}$  dengan konsentrasi : 0 (blanko berisi akuades) ; 0,4 ; 1,0 ; 2,5 ; 5,0 ; 10 ; 20 ; dan 30 ppm.
2. Masing-masing larutan diukur % transmisinya atau absorbansinya.
3. Buat grafik antara absorbansi terhadap konsentrasi Cu dan tandailah harga yang menunjukkan garis lurus.
4. Bahas hasil yang diperoleh.

## **Tugas 4 : Pengaruh Jenis Nyala**

### **Tujuan percobaan :**

Mempelajari pengaruh tipe api udara –asetilen yang digunakan terhadap absorbansi larutan Cu dan Ca

### **Prosedur percobaan :**

Buatlah larutan yang masing-masing mengandung 10 ppm Cu dan 10 ppm Ca  
Ukur %T menggunakan api udara-asetilen. Bahas hasilnya

## **Tugas 5 : Pengaruh lebar celah**

### **Tujuan percobaan :**

Mempelajari pengaruh lebar celah pada sensitivitas dan kurva kalibrasi (baku) larutan Cu dan Fe

### **Pendahuluan**

Lebar celah pada pengukuran konsentrasi kebanyakan atom (unsur) adalah sangat sempit. Beberapa unsur meskipun mempunyai garis emisi, sama sekali menutupi garis resonansi analitik yang menyebabkan tidak diserapnya atau terserap sedikit sekali oleh atom-atom pada keadaan dasar di dalam api. Kemampuan celah adalah mengisolasi garis resonansi sehingga menjadi minim. Disini akan dipelajari pengaruh lebar celah terhadap sensitivitas dan kurva baku dari larutan  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$ .

### **Prosedur percobaan Pengaruh lebar celah pada sensitivitas :**

1. Atur lebar celah pada posisi maksimum, kemudian atur 100% transmisi menggunakan air destilasi (akuades)
2. Ukur %T larutan Cu 3 ppm
3. Kurangi lebar celah dan ukur %T larutan Cu 3 ppm
4. Buat grafik antara absorbansi terhadap lebar celah
5. Lakukan pula untuk larutan Fe dengan mula-mula mengganti lampu Cu dengan lampu Fe
6. Atur kondisi alat (panjang gelombang, arus, lebar celah) seperti yang disebutkan dalam tabel.
7. Lakukan langkah-langkah seperti tugas 1 menggunakan larutan  $\text{Fe}^{3+}$  10 ppm untuk mengoptimasikan alat SSA dan larutan ini harus memberikan absorbansi 0,3 atau 50% T
8. Dengan menggunakan larutan 10 ppm Fe lakukan pengaruh lebar celah terhadap absorbansi Fe seperti pada Cu
9. Hitung kisaran penurunan absorbansi yang diamati pada larutan Cu dan Fe pada lebar celah minimum dan maksimum serta berikan komentar
10. Bahas hasil yang diperoleh

### **Prosedur percobaan Pengaruh lebar celah pada kurva baku :**

1. Siapkan larutan baku 100 ml dengan konsentrasi Fe 1,5 ; 10; 20; 40 dan 60 ppm dalam labu takar
2. Siapkan larutan baku Cu 100 mL dengan konsentrasi 0,4 ; 1,0 ; 2,5 ; 5,0 dan 10 ppm dalam labu takar
3. Ukur absorbansi atau %T larutan-larutan tersebut (Fe dan Cu) dan buatlah 4 kurva baku dari :
  - i. 0 - 60 ppm Fe pada lebar celah minimum
  - ii. 0 – 60 ppm Fe pada lebar celah maksimum
  - iii. 0 - 10 ppm Cu pada lebar celah minimum
  - iv. 0 – 10 ppm Cu pada lebar celah maksimum
4. Plot keempat kurva baku tersebut pada kertas grafik yang sama dan berilah komentar pada masing-masing kurva yang diperoleh
5. Terangkan pula apa pengaruh lebar celah terhadap presisi pengukuran absorbansi larutan yang mengandung 10 ppm atau 40 ppm Fe.
6. Bahas hasil yang diperoleh

### **Tugas 6 : Pengaruh arus lampu katoda**

#### **Tujuan percobaan :**

Mempelajari pengaruh besar arus lampu katoda pada sensitivitas dan kurva kalibrasi (baku) larutan Cu dan Fe

#### **Pendahuluan**

Arus listrik lampu katoda adalah suatu parameter istimewa yang utama untuk logam-logam yang lebih mudah menguap seperti Zn, Cu. Pada tugas ini ingin melihat pengaruh arus lampu katoda pada sensitivitas dan kurva baku menggunakan lampu Cu dan Fe

#### **Prosedur percobaan Pengaruh arus lampu katoda pada sensitivitas :**

1. Buat larutan baku Fe 10 ppm dan Cu 3 ppm

2. Dengan menggunakan lampu Fe ukurlah %T dari larutan Fe 10 ppm menggunakan arus sebesar : 2; 5 dan 10 mA
3. Gunakan lampu Cu dan optimasi alat menggunakan larutan 3 ppm Cu
4. Ukurlah %T larutan Cu ini pada arus 2 ; 5 dan 10 mA
5. Gambar grafik antara absorbansi terhadap arus untuk Fe dan Cu pada kertas grafik yang sama.

**Catatan :**

Jangan mengoperasikan lampu katoda pada arus yang tinggi dalam waktu lebih lama dibandingkan harga absolut yang diperlukan

**Prosedur percobaan Pengaruh arus lampu katoda pada kurva baku :**

1. Siapkan larutan baku Cu : 0, 0,4 ; ; 1,0 ; 2,5 ;5,0 dan 10 ppm dalam labu takar
2. Dengan menggunakan lebar celah seperti sebelumnya (tugas 4) buatlah 2 kurva baku, satu pada arus optimum (1 mA) dan satunya pada arus 10 mA
3. Berilah komentar untuk kurva yang diperoleh
4. Bahas hasilnya

**Tugas 7 : Pengaruh pengganggu fosfat pada pengukuran Ca**

**Tujuan percobaan :**

Mempelajari pengaruh senyawa pengganggu fosfat dan senyawa pengompleks EDTA gterhadap sensitivitas pengukuran Ca

**Prosedur percobaan :**

1. Siapkan 3 set larutan seperti dibawah ini :

	Konsentrasi Ca (ppm)	Konsentrasi H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (ppm)	Konsentrasi EDTA (ppm)
<b>Set 1:</b>	0	0	0
	10	0	0
	20	0	0
<b>Set 2 :</b>	0	12	0
	10	12	0
	20	12	0
<b>Set 3 :</b>	0	12	0.01
	10	12	0.01
	20	12	0.01

menggunakan larutan yang disediakan : 100 ppm Ca ;  
400 ppm H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dan 0,1 ppm EDTA

2. Pasanglah lampu katoda Ca, optimasikan alat seperti pada tugas 1
3. Ukurlah %T masing-masing larutan
4. Buatlah kurva baku untuk tipe api : udara-asetilen ; udara gas alam (propan) dan N<sub>2</sub>O –asetilen

### **Tugas 8 : Pengaruh garam terlarut**

#### **Prosedur percobaan :**

1. Buatlah larutan 3 ppm Cu yang mengandung 0 ; 1000 ; 5000 ; 10.000 ; 50.000 dan 100.000 ppm NaCl.
2. Dengan menggunakan udara-asetilen ukurlah %T masing-masing larutan
3. Buat grafik antara absorbansi terhadap konsentrasi padatan yang dilarutkan
4. Bahas hasil yang diperoleh

## **Tugas 9 : Penentuan Pb dalam campuran dengan Zn cara kurva baku**

### **Tujuan percobaan :**

1. Menentukan kadar Pb dalam larutan sampel yang mengandung Zn menggunakan cara kurva baku
2. Mempelajari pengaruh cara kurva baku terhadap akurasi dan presisi pengukuran Pb

### **Pendahuluan :**

Sensitivitas analisis Zn = 0,03 ppm ; sensitivitas analisis Pb = 0,3 ppm. Karena Zn 10 kali lebih sensitif dibandingkan Pb maka akan memerlukan dua macam larutan sampel, yang satu berkonsentrasi 10 kali konsentrasi lainnya. Karena pada konsentrasi ini kedua larutan Zn dan Pb adalah sama.

### **Prosedur percobaan :**

1. Buatlah 500 mL larutan yang menghasilkan 40%T ( $A = 0,4$ ) untuk Pb (kira-kira 30 ppm Pb)
2. Gunakan larutan ini untuk analisa Pb, yang jika diencerkan 10 kalinya dapat digunakan untuk menganalisa Zn (kira-kira 3 ppm Zn)
3. Timbang garam Pb yang diperlukan untuk membuat 500 mL larutan sampel yang mengandung 30 ppm Pb dan 30 pm Zn
4. Masukkan ke erlenmyer 100 mL, tambahkan 10 mL  $\text{HNO}_3$  pekat, 10 mL akuades dan 10 mg asam sitrat
5. Panaskan sampai larut, dinginkan dan pindahkan ke labu takar 500 mL serta encerkan dengan akuades sampai tepat tanda
6. Pipet 10,0 mL larutan ini dan encerkan dengan akuades sampai tepat 100 mL, larutan ini digunakan untuk menganalisis Zn

7. Siapkan larutan baku Pb (10 ; 20 ; 30 ; 40 dan 50 ppm) dan larutan baku Zn (1 ; 2 ; 3 ; 4 dan 5 ppm)
8. Buat kurva baku untuk masing-masing logam
9. Dengan menggunakan dua larutan yang telah dipersiapkan ( larutan 500 mL dan 100 mL) tentukan kadar (%) Pb dan Zn dalam sampel menggunakan cara kurva baku
10. Periksa kesalahan masing-masing hasil jika kesalahan pembacaan diperkirakan 1%.

### **Tugas 10 : Penentuan Pb dalam sampel menggunakan cara adisi standar**

#### **Tujuan percobaan :**

1. Menentukan kadar Pb dalam larutan sampel yang mengandung Zn menggunakan cara kurva baku
2. Mempelajari pengaruh cara adisi standar terhadap akurasi dan presisi pengukuran Pb

#### **Pendahuluan**

Cara adisi standar pada umumnya digunakan untuk mengatasi kesalahan yang mirip seperti yang ditimbulkan oleh penambahan garam pada larutan baku, yaitu bila komposisi sampel berbeda dengan komposisi larutan baku. Cara adisi standar dilakukan bila jumlah garam dalam larutan sampel tidak diketahui maka larutan baku ditambahkan langsung pada sampel, kemudian dibuat kurva absorbansi terhadap konsentrasi analit yang ditambahkan. Konsentrasi analit yang ditentukan diperoleh dari ekstrapolasi garis regresi ke absorbansi dan memotong pada sumbu konsentrasi . Jarak antara titik potong ke konsentrasi dengan sumbu absorbansi ini merupakan harga konsentrasi analit yang diukur.

**Prosedur percobaan :**

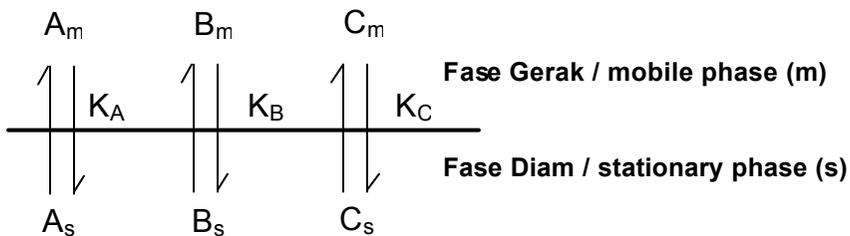
1. Dengan menggunakan larutan sampel pada tugas 9, masing-masing dipipet 25,0 mL dan masukkan kedalam labu takar 50 mL 4 buah
2. Masing-masing ditambah dengan 100 ppm Pb dengan volume sebagai berikut :
  - Labu 1 ditambah dengan 0,0 mL larutan Pb 100 ppm
  - Labu 2 ditambah dengan 5,0 mL larutan Pb 100 ppm
  - Labu 3 ditambah dengan 10,0 mL larutan Pb 100 ppm
  - Labu 4 ditambah dengan 15,0 mL larutan Pb 100 ppm
3. Encerkan dengan akuades sampai volume 50 mL
4. Ukur %T masing-masing larutan dan buat grafik antara absorbansi terhadap konsentrasi Pb yang ditambahkan
5. Ekstrapolasikan ke sumbu absorbansi untuk memperoleh konsentrasi Pb dalam sampel

## BAB XVIII

### KROMATOGRAFI

#### 18.1. PENDAHULUAN

Kromatografi adalah metode pemisahan yang berkaitan dengan perbedaan dalam keseimbangan distribusi dari komponen-komponen sampel di antara dua fase yang berbeda, yaitu fase bergerak dan fase diam. Komponen contoh hanya dapat berpindah tempat di dalam fase gerak. Tingkat migrasi adalah suatu fungsi dari distribusi seimbang (Gambar 18.1).



**Gambar 18.1. Distribusi komponen A, B, dan C pada fase diam dan fase gerak**

Keseimbangan distribusi sampel di antara kedua fase ditunjukkan oleh nilai koefisien distribusi (K).

$$K = \frac{\text{jumlah bahan terlarut(analit) per unit volume fase diam}}{\text{jumlah bahan terlarut (analit) per unit volume fase gerak}}$$

$$K_A = \frac{[A_s]}{[A_m]} \quad \mathbf{K \text{ adalah perbandingan konsentrasi}}$$

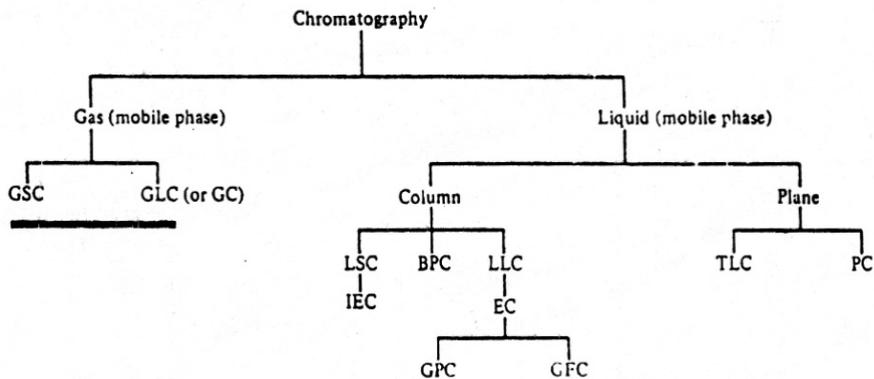
Pemisahan dapat terjadi apabila koefisien distribusi komponen sampel berlainan ( $K_A \neq K_B \neq K_C$ ). Komponen dengan nilai K lebih besar akan terpisah lebih lambat daripada komponen dengan nilai K lebih kecil.

## 18.2. KLASIFIKASI KROMATOGRAFI

Berdasarkan jenis fasa gerak yang digunakan, ada 2 (dua) klasifikasi dalam kromatografi, yaitu ; kromatografi gas dan kromatografi cairan. Pada kromatografi gas fasa geraknya berupa gas, sedangkan pada kromatografi cairan, fasa geraknya berbentuk cairan. Pada kromatografi gas, fasa diam ditempatkan di dalam sebuah kolom. Fasa diam ini dapat berupa suatu padatan atau suatu cairan yang didukung oleh butir-butir halus zat pendukung. Berdasarkan fasa diam yang berbeda, teknik ini dikenal sebagai kromatografi gas padat (*Gas Solid Chromatography/GSC*) dan kromatografi gas-cair (*Gas Liquid Chromatography/GLC*).

Pada kromatografi cairan, fasa diam dapat ditempatkan dalam sebuah kolom, maupun dibuat sebagai lapisan tipis diatas plat dari gelas atau aluminium. Teknik ini disebut sebagai kromatografi lapisan tipis (*Thin Layer Chromatography/TLC*). Pada kromatografi cairan, sepotong kertas dapat digunakan sebagai fasa diam. Teknik ini dikenal sebagai kromatografi kertas. Kromatografi lapisan tipis dan kromatografi kertas diklasifikasikan sebagai kromatografi planar (datar) untuk membedakannya dari kromatografi yang menggunakan fasa diam di dalam sebuah kolom.

Teknik kromatografi cairan dengan fasa diam di dalam kolom dikenal sebagai kromatografi cair-padat (*Liquid Solid Chromatography/LSC*) dan kromatografi cair-cair (*Liquid Liquid Chromatography/LLC*), tergantung dari fasa diamnya, suatu padatan atau cairan. Berdasarkan interaksi kromatografi dikenal kromatografi adsorpsi, partisi, kromatografi penukar ion dan kromatografi permeasi gel. Gambar 12.2 menunjukkan klasifikasi kromatografi.



**Gambar 18.2. Skema pengelompokan kromatografi**

**Keterangan :**

- GSC – Gas-Solid Chromatography;**
- GLC( sering disebut GC) – Gas-liquid Chromatography;**
- LSC – Liquid-Solid Chromatography (adsorption Chromatography);**
- IEC – Ion Exchange Chromatography ( khusus untuk LSC);**
- BPC – bonded-phase Chromatography (daerah abu-abu antara LSC dan LLC);**
- LLC – Liquid-Liquid Chromatography (bagian dari Chromatography);**
- EC – Exclusion Chromatography (khusus LLC);**
- GPC – Gel Permeation Chromatography ( salah satu tipe EC);**
- GFC – Gel Filtration Chromatography ( salah satu tipe EC);**
- TLC – Thin-Layer Chromatography (khusus LSC atau LLC);**
- PC – Paper Chromatography ( khusus LLC).**

**Nomenklatur :**

- Misalnya:      Gas Liquid Chromatophy (GLC)  
                           G = Gas, fasa Fase gerak (pertama)  
                           L = Liquid (cairan), fasa diam (kedua)

Kromatografi gas maupun kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) banyak digunakan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif. Pemisahan campuran komponen yang sukar menguap , yang tidak dapat dilakukan dengan kromatografi gas dilaksanakan dengan KCKT). Keuntungan-keuntungan dari Kromatografi Gas antara lain :

- a. Kromatografi Gas akan memisahkan campuran-campuran yang mengandung banyak komponen dengan perbedaan titik didih rendah.
- b. Analisis cepat (biasanya 10 -15 menit)

- c. Sensitif (dengan detektor T.C.D. ppm, F.I.D. low ppm. E.C.D. ppb)  
Volume yang diperlukan sangat kecil ( 1 – 10  $\mu$ l )
- d. Bisa dipakai untuk menganalisis berbagai macam campuran, hidrokarbon, obat, pestisida, gas-gas dan steroid-steroid
- e. Mudah dioperasikan dan tekniknya terpercaya.
- f. Baik pada analisa kualitatif dan kuantitatif
- g. Hasilnya mudah ditafsirkan  
Puncak kromatogram
  - Kualitatif ( dengan retensi waktu )
  - Kuantitatif ( daerah puncak adalah konsentrasi a)

### 18.3. TEORI DASAR

Sebuah teori yang dikembangkan oleh Van Deemter berusaha menggambarkan bentuk puncak elusi dari kromatogram. Ekspresi pengertian kualitatifnya sangat berguna pada optimalisasi kinerja kolom. Ada tiga prinsip yang memberikan kontribusi pada melebarnya suatu pita (puncak), yaitu :

1. Efek multipath atau difusi pusaran. (sebagai A)
2. Difusi molekuler (sebagai B)
3. Perlawanan pada perpindahan massa (gas dan cairan, sebagai C)

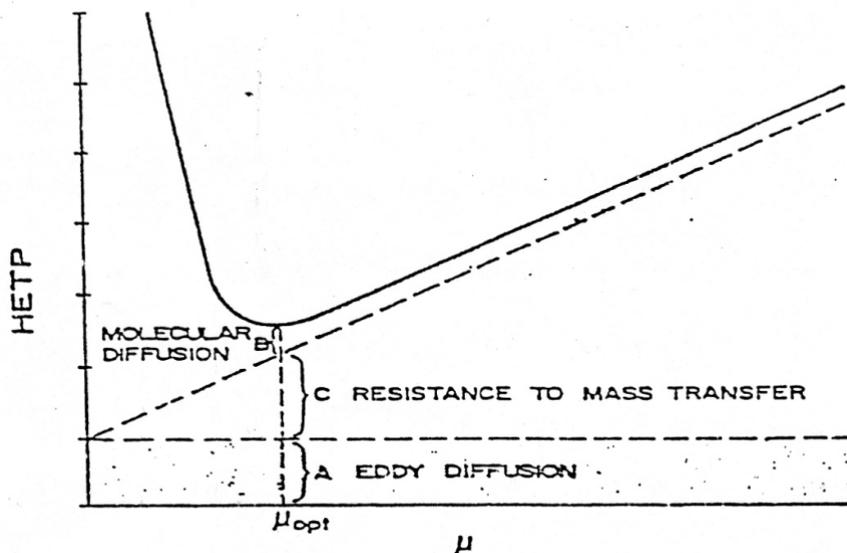
$$\text{HETP} = A + B/\mu + C$$

Dimana A, B, dan C adalah konstanta yang disebutkan di atas dan  $\mu$  adalah kecepatan linear gas ( atau Kecepatan aliran) yang melalui kolom kromatografi. Kecepatan linear gas ditentukan dari :

$$\mu = \frac{\text{panjang kolom, cm}}{\text{waktu retensi udara, detik}} = \frac{1}{t_m}$$

Jika HETP di plot terhadap  $\mu$ , diperoleh satu hiperbola dengan HETP minimum. Pada titik minimum tersebut kecepatan aliran ( $\mu$ ) optimum, dimana kolom beroperasi secara efisien. C terdiri dari dua komponen perlawanan terhadap perpindahan massa, satu berkaitan dengan gas  $C_g$  dan satu lagi berkaitan dengan cairan  $C_l$ .

$$\text{HETP} = A + B/\mu + (C_g + C_l)\mu$$



**Gambar 18.3. Hubungan kecepatan alir ( $\mu$ ) terhadap tinggi HETP**

Persamaan yang dikembangkan oleh Van Deemter adalah :

$$\text{HETP} = 2\lambda dp + \frac{2\gamma D_g}{\mu} + \left( \frac{r^2}{D_g} * \left( \frac{1 + 6k' + 11k'^2}{24(1 + k')^2} \right) + \left( \frac{df^2}{D_l} * \frac{2k'^2}{4(1 + k')^2} \right) \right) \mu$$

$$\text{dimana : } A = 2\lambda dp \quad C_g = \frac{r^2}{D_g} * \frac{1 + 6k' + 11k'^2}{24(1 + k')^2}$$

$$B = 2\gamma D_g \quad C_l = \frac{df^2}{D_l} * \frac{2k'^2}{4(1 + k')^2}$$

dimana:

$\lambda$	=	Kontakta yang merupakan ukuran banyaknya ketidakteraturan.
$\gamma$	=	Faktor koreksi perhitungan untuk kerumitan saluran gas dalam kolom.
dp	=	Ukuran diameter rata-rata dari pendukung padatan
Dg	=	Koefisien difusi bahan terlarut (analitik) pada fase gas
$\mu$	=	Kecepatan linear gas.
$k'$	=	Faktor Kapasitas = $k * \left( \frac{v_{\text{cair}}}{v_{\text{gas}}} \right)$
k	=	Koefisien partisi (distribusi) dari bahan terlarut (analitik) yang di ekspresikan sebagai jumlah bahan terlarut per unit volume fase cair, dibagi dengan jumlah bahan terlarut per unit volume fase gas
$V_{\text{cair}}$	=	Volume dari fase diam V stat.
$V_{\text{gas}}$	=	Volume gas atau volume antar bagian dari kolom
df	=	Ketebalan efektif dari lapisan cairan yang melapisi pada partikel.
$D_1$	=	Koefisien difusi bahan terlarut (analitik) pada fase cair
r	=	Jari – jari kolom

Penelitian kualitatif dari versi persamaan yang dikembangkan oleh Van Deemter berguna untuk mengoptimalkan kinerja kolom.

### **Faktor A : Efek Multipath atau Difusi Eddy**

$$A = 2 \cdot dp$$

Dalam kolom kemasan gas pembawa dapat mengikuti berbagai path (jalur). Oleh karena itu molekul bahan terlarut memiliki waktu kediaman yang berbeda. A akan lebih kecil jika menggunakan partikel yang lebih kecil.. Bagaimanapun juga ? adalah karakter tetap sifat alami kemasan partikel dan meningkat sesuai dengan ukuran partikel yang lebih kecil. Turunnya tekanan kolom juga merupakan faktor pembatas ukuran partikel. Arus gas yang linier akan lebih seragam pada perbandingan tekanan pintu masuk ke pintu keluar yang rendah.

Untuk meminimalkan A diperlukan partikel kecil dengan ukuran seragam konsisten dengan penurunan tekanan rendah,  $\gamma$  rendah dan diameter kolom kecil. Di dalam kolom kapiler dimana tidak ada kemasan, maka  $A = 0$

### **Faktor B : Istilah Difusi Molekular**

$$B = 2 \gamma Dg$$

Istilah difusi molekular sebanding dengan koefisien difusi bahan terlarut (analit) dalam gas pembawa. Bahan terlarut difusi tinggi memimpin ke arah pelebaran puncak dan hilangnya efisiensi. Difusi bahan terlarut pada gas pembawa adalah suatu fungsi dari bahan terlarut dan gas pembawa yang berkurang sesuai dengan peningkatan kepadatan dari gas dengan meningkatnya tekanan atau mengubah berat molekular gas.

Koreksi tortuosity,  $\gamma$  adalah perbedaan antara jalur garis lurus dan rata-rata jalur riil dari suatu molekul. Percepatan gas yang linier meningkat dalam kolom kemasan, dan sebaliknya pada kolom kapiler.

Untuk meminimalkan B : menaikkan aliran gas linier dan menggunakan gas dengan berat molekular tinggi.

### **Faktor C : Istilah Transfer resistan ke massa.**

C merupakan gabungan transfer resistan ke massa yang timbul dari gas  $C_g$  dan transfer resistan ke massa yang timbul dari cairan.

$$C = C_g + C_l$$

Untuk kolom kemasan,  $C_g$  dapat diabaikan. Untuk kolom kapiler, ketebalan fase diam sangat kecil sehingga  $C_l$  dapat diabaikan selama  $d_f$  ketebalan film sangat kecil. ( $C_g \gg C_l$ ). Untuk

mengurangi C ini, ketebalan film dalam kolom kemasan harus kecil. Ketebalan film juga mempengaruhi rasio kapasitas k' Untuk mengurangi C Term, fase cair juga harus memiliki viscositas rendah dan koefisien difusi cairan yang tinggi.

Untuk meminimalkan C diperlukan fase cair dengan koefisien difusi tinggi dan yang dilapisi film tipis yang seragam.

Dari pembahasan di atas persamaan Van Deemter untuk dinding kapiler yang dilapisi pipa terbuka.

A = 0 karena tidak ada kemasan

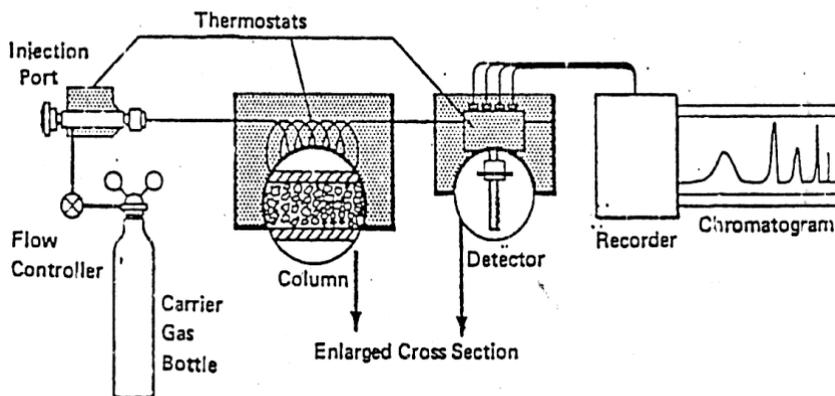
Cg >> Ci karena ketebalan film sangat kecil

$$\therefore \text{HETP} = \frac{B}{\mu} + C_g \mu \text{ (kolom kapiler)}$$

## 18.4. KROMATOGRAFI GAS

### 18.4.1. INSTRUMENTASI KROMATOGRAFI GAS

Sistem kromatografi gas ditunjukkan pada Gambar 12.4. Kromatograf gas terdiri dari gas pembawa, injektor, kolom, detektor dan sistem data.



Gambar 18.4. Skema Sistem Kromatografi Gas

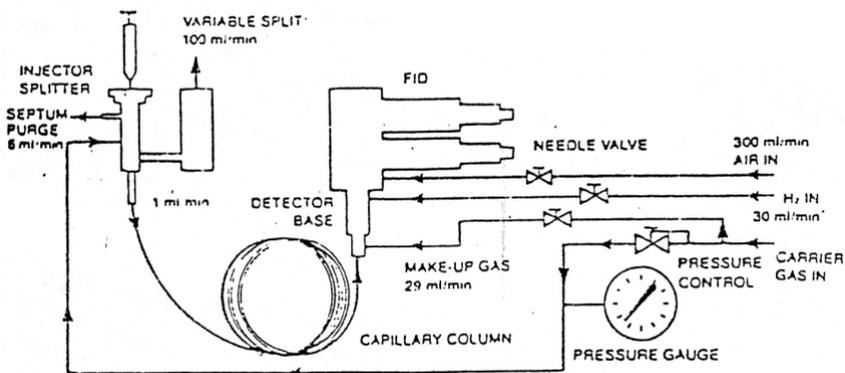
## Injektor (Cara masuknya sampel)

Ada berbagai cara sampel dimasukkan ke dalam kolom. Sebagian besar kromatografi gas dilengkapi dengan jenis injektor yang bisa memasukkan cairan langsung ke dalam kolom menggunakan jarum suntik. Tipe injektor yang digunakan tergantung jenis kolom yang dipakai.

Tabel 18.1. Perbandingan kolom konvensional dan kolom kapiler

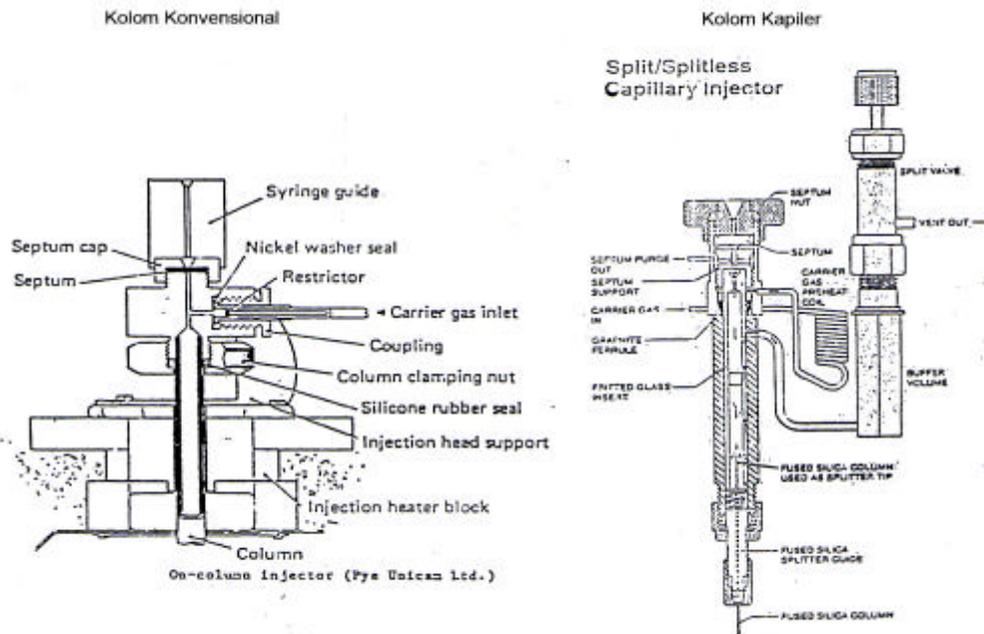
Parameter	Konvensional	Kolom Kapiler
Panjang	1 – 6 m	5 – 100 m
Diameter internal	2 – 4 mm	0,2 – 0,7 mm
Tekanan	10 – 40 psi	3 – 10 psi
Kecepatan Aliran	10 – 60 ml/menit	0,5 – 15 ml / menit
Total Plat efektif	5000 ( 2 meter Kolom )	150000 (50 meter Kolom)
Plat efektif	2500 (id 2 mm)	3000 ( id 0,25 mm)
Kapasitas	10 ug / peak	< 50 ug / peak
Ketebalan Film	1 – 10 um	0,05 – 1,0 um
Sampel Maksimum	2 uL (2 mm id )	0,01 uL

Tipe kolom dan operasi menentukan desain dan operasi dari sistem pemasukan sampel dan detektor yang digunakan. Injektor kolom kapiler mempunyai beberapa perbedaan fundamental dari injektor konvensional. Hal ini disebabkan oleh perbedaan karakteristik kolom. Seperti pada Tabel 11.1, volume maksimum sampel yang dapat dimasukkan pada pipa kapiler adalah 0,01 ul.



Gambar 18.4. GC Pneumatik / Capillary GC

Oleh karena itu sampel yang dimasukkan harus memiliki *reproducibly*. Hal ini bisa dilakukan dengan menggunakan alat yang dinamakan *Splitter* (Gambar 18.5).



Gambar 18.5. Injektor pada kolom konvensional dan kolom kapiler

Jumlah komponen yang dipisah ditentukan dari *split valve* dan ditentukan dari split ratio :

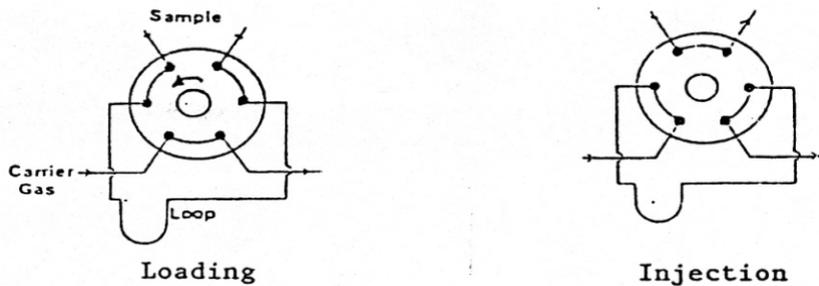
$$\text{Split Ratio} = \frac{\text{jumlah yang diinjeksikan dengan menggunakan syringe}}{\text{jumlah split pada kolom}}$$

Sekat pembersih (*septum purge*) diperlukan untuk menghindari kontaminasi sampel dengan materi yang berasal dari sekat.

### **Sampel Gas**

Metode yang mudah untuk memasukkan gas-gas adalah lewat katup sampling gas. Volume gas dapat divariasikan tergantung pada ukuran *loop*. *Loop* tambahan dapat dijadikan satu untuk menjebak

sampel dengan pendinginan. Pemanasan pada *loop* kemudian bisa melepaskan sampel.



Gambar 18.6. Katup sampling pada GC

### ***Sampel Padat***

Sampel padat misalnya; parfum dalam bentuk bedak atau serpihan sampel dapat dikemas dalam kapsul dan pecah di injektor. Sampel gelas/kaca dapat dihancurkan sebelum diinjeksikan sedangkan campuran yang memiliki titik lebur rendah dapat dilelehkan untuk pelepasan sampel. Sampel padat dapat juga dipirolisis dan komponen yang bersifat padatan dibuang. Metode ini digunakan untuk sidik jari

### **Kolom**

Kolom dapat dibuat dari berbagai jenis material, seperti stainless steel, aluminium, tembaga, gelas dan paduan silika. Sebagian besar sistem kolom modern terbuat dari gelas atau paduan silika. Kolom konvensional dibuat dari material pendukung yang dilapisi fase diam dari berbagai pembebanan yang dikemas di dalam kolom. Kolom kapiler terdiri dari tabung kapiler panjang yang didalamnya dilapisi dengan fase diam (fase diam dapat juga direkatkan langsung pada permukaan silika). Sebagian besar kolom kapiler terbuat dari paduan silika yang dilapisi polimer di bagian luarnya. Paduan silika sangat mudah pecah sedangkan lapisan polimer tersebut bertindak sebagai pelindungnya.

### ***Tipe Kolom dan Pengoperasian Kolom***

Kolom dimana pemisahan terjadi, memiliki dua tipe dasar yaitu Kolom kemasan konvensional dan Kolom kapiler atau Kolom tabung terbuka. Kolom dapat dioperasikan dengan dua cara, yaitu: secara isothermal (temperatur konstan) dan temperatur terprogram (variabel peningkatan temperatur dan waktu ditahan pada temperatur konstan).

#### **a. Operasi Isothermal**

Pada operasi isothermal, temperatur kolom dijaga konstan. Batas temperatur maksimum dan minimum dipengaruhi stabilitas dan karakter fisik fase diam. Batas bawah ditentukan oleh titik beku dan batas atas ditentukan oleh "*bleed*" dari fase diam. *Bleed* adalah fase diam masuk ke detektor. Secara umum pada mode operasional ini, injektor dioperasikan 30°C diatas temperatur komponen dengan titik didih maksimum (kolom kemasan konvensional).

#### **b. Operasi temperatur terprogram (TPGC)**

Pada kromatografi gas temperatur terprogram, temperatur oven dikendalikan oleh sebuah program yang dapat mengubah tingkatan pemanasan yang terjadi antara 0,25°C sampai 20°C. Sebuah oven massa rendah mengijinkan pendinginan dan pemanasan cepat dari kolom yang dapat ditahan sampai 1°C dari temperatur yang diperlukan. Pada operasi temperatur terprogram diperlukan pengendali aliran untuk memastikan kesetabilan aliran gas. Kestabilan aliran sangat diperlukan untuk mencapai stabilitas hasil detektor yang baik yang ditunjukkan pada garisbawah/baseline datar yang stabil. Fase diam harus stabil secara termal melewati range temperatur yang lebar. *Bleed* dapat diganti dengan menjalankan dua kolom yang identik secara tandem, satu untuk pemisahan komponen dan yang lain untuk melawan "*bleed*".

## **Detektor**

Untuk mendeteksi komponen yang terpisah dari kolom , diperlukan alat pendeteksi. Pada kolom kapiler penambahan gas (*make up gas*) digunakan untuk menghilangkan komponen yang terpisah dari bagian akhir kolom ke dalam detektor untuk mengurangi efek “dead volume” dan kecepatan aliran yang rendah. Sebuah detektor yang ideal seharusnya:

- a. Mempunyai sensitifitas yang tinggi untuk mengenali unsur dalam bentuk gas. (1 volume terlarut : 1000 volume pelarut)
- b. Mempunyai respon yang linear terhadap jumlah unsur dengan cakupan yang luas.
- c. Tidak bergantung pada kondisi operasi, seperti : kecepatan alir.
- d. Mempunyai stabilitas baseline yang baik.
- e. Mudah perawatannya
- f. Mempunyai volume internal yang kecil (resolusi puncak)
- g. Mempunyai respon yang cepat untuk menghindari gugusan puncak
- h. Murah dan dapat dipercaya.

Ada dua tipe detektor, yaitu detektor integral dan differensial.. Sebagian besar kromatografi gas dikerjakan dengan menggunakan analisis elusi dengan memanfaatkan detektor differensial, yang menghasilkan deretan puncak yang terpisah.

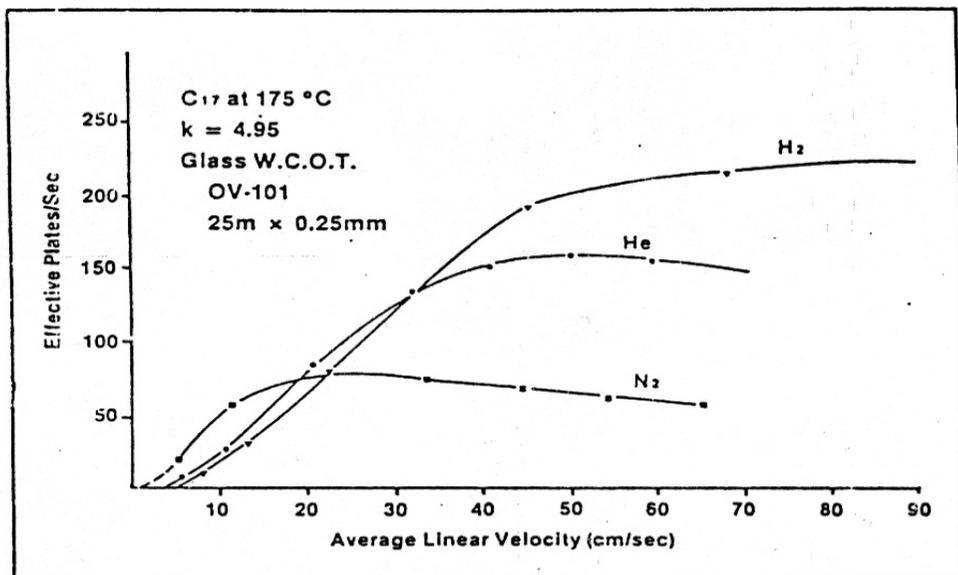
Detektor differensial banyak digunakan dalam kromatografi. Respon terhadap konsentrasi bahan/larutan dalam fase bergerak ditampilkan dalam sekejap. Respon detektor yang ditampilkan secara grafik adalah kromatogram diferensial

### **18.4.2. PEMILIHAN FASE GERAK**

Gas Pembawa sebagai fase gerak akan membawa komponen sampel melalui kolom menuju detektor. Gas pembawa harus inert, kering dan murni. Pemilihan gas pembawa ini tergantung

pada detektor yang digunakan, ketersediaan, keamanan dan biaya. Gas pembawa yang umum digunakan adalah nitrogen, hidrogen, helium dan argon. Pemilihan gas pembawa ini tidak mempengaruhi selektivitas. Namun dapat mempengaruhi resolusi sebagai hasil dari perbedaan laju difusi dan dapat mempengaruhi waktu analisis karena kecepatan optimum gas pembawa akan berkurang sesuai dengan pengurangan difusitas bahan terlarut.

Untuk kolom kemasan konvensional dengan panjang normal dan didukung oleh rata-rata partikel kemasan ukuran kecil perlu dilakukan pemilihan gas pembawa. Untuk kolom berbentuk pipa terbuka grafik Van Deemter menunjukkan secara jelas pilihan untuk hidrogen yang diikuti oleh helium. Sedangkan nitrogen menunjukkan ketinggian plat yang lebih rendah dan ini terjadi pada aliran yang sangat rendah sehingga akan menyebabkan waktu analisis lebih lama. Kerugian utama menggunakan hidrogen adalah kemungkinan terjadinya ledakan. Alternatif yang baik untuk kolom berbentuk pipa terbuka adalah helium.



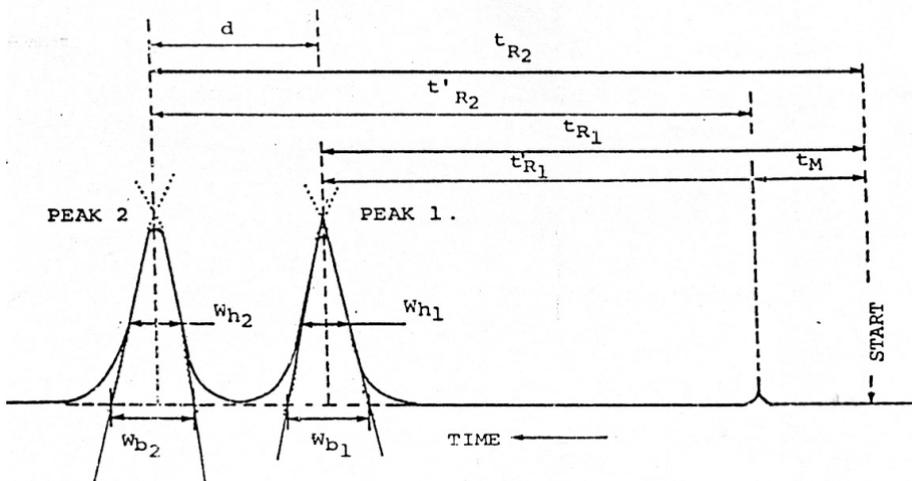
Gambar 18.7. Hubungan kecepatan alir gas terhadap plate efektif.

### 18.4.3. KROMATOGRAM

Pada awalnya kromatogram dihasilkan pada perekam grafik yang di hubungkan ke detektor pada kertas grafik yang digerakan dengan kecepatan konstan. Dalam tipe yang sama bentuk grafik dipertahankan pada integrator digital modern dan kromatogram yang asalnya dari perekam grafik masih dipakai pada integrator modern. Kromatogram differensial yang pada dasarnya terdiri dari deretan puncak-puncak sekarang mempunyai keuntungan sebagai berikut :

- Memungkinkan untuk menentukan garis tengah puncak secara akurat.
- Pemisahan parsial langsung bisa dilihat jelas.
- Semakin kecil jumlahnya semakin jelas identifikasinya dibanding dengan menggunakan detektor tipe integral.

Informasi yang diperoleh dari kromatogram digunakan sebagai dasar untuk analisis kualitatif sementara, analisa kuantitatif dengan daerah puncak (daerah puncak adalah konsentrasi  $\alpha$  ), dan pemilihan kondisi operasi optimum alat kromatografi. Gambar 12.8 menampilkan kromatogram differensial untuk dua komponen yang menghasilkan dua puncak ( puncak 1 dan puncak 2 )



Gambar 18.8. Kromatogram Diferensial

### Keterangan Gambar 18.8.

- $t_m$  = waktu retensi yang teramati dari bahan terlarut yang tidak tertahan ( waktu gas tertahan, puncak udara, pencelupan air, solven front dll) (cm, min)
- $t_R$  = waktu retensi yang diukur dari awal (injeksi), (cm, min)  
R menunjukkan puncak 1 dan 2
- $t'_R$  = waktu retensi yang disesuaikan diukur dari waktu bahan terlarut yang tidak tertahan (cm, min)
- $W_h$  = lebar puncak pada setengah tinggi (cm, min)  
H menunjukkan puncak 1 dan 2
- $W_b$  = lebar dasar puncak ( pertemuan dua lereng dengan garis dasar) (cm.min)
- $d$  = waktu antara puncak 1 dan 2 ( juga  $\Delta t$  antara puncak 1 dan 2 (cm, min)

Semua istilah diatas dapat di hubungkan dengan jarak pada sebuah perekam grafik.

### 18.4.4. PARAMETER PEMISAHAN PADA KOLOM

#### Efisiensi Kolom

Efisiensi kolom berkaitan dengan pelebaran puncak dari pita awal ketika melewati kolom. Melebarnya hasil dari disain kolom dan kondisi operasi, secara kuantitatif dapat dijelaskan oleh tinggi ekuivalen plat teoritis (HETP). Konsep plat pada kromatografi sama dengan konsep plat pada destilasi, dimana kolom efisiensi pertama terdiri dari plat yang terpisah. Pada G.C. plat terpisah adalah suatu konsep tiruan yang digunakan untuk membandingkan kolom sejenis pada kondisi spesifik antara lain:

- Tipe pelarut dan pemuatan.
- Bahan terlarut / solut
- Kecepatan aliran
- Temperatur
- Ukuran sampel

Effisiensi kolom diukur dengan angka plat teoritis  $n$  yang ditentukan dari kromatogram sebagai berikut:

$$n = 16 \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2 = 5,54 \left( \frac{t_R}{W_h} \right)^2$$

Jumlah plat berhubungan dengan tinggi ekivalen plat teoritis (HETP) yang merupakan ukuran langsung dari efisiensi kolom, bisa dikatakan perbandingan antara kolom diberikan dari :

$$h = \text{HETP} \quad \frac{L}{n} \quad L = \text{panjang kolom, biasanya dalam cm}$$

Rata-rata linear gas mengalir pada kolom  $\mu$  diberikan oleh :

$$\mu = \frac{L}{t_m} \quad t_m = \text{waktu gas tertahan}$$

### **Efisiensi pelarut dan koefisien partisi**

Efisiensi pelarut ( cairan fase diam pada GC ) sebagai hasil dari interaksi bahan terlarut dan pelarut menentukan posisi relatif pita-pita bahan terlarut (analitik) pada kromatogram. Efisiensi pelarut atau retensi relatif dinyatakan sebagai rasio dari retensi waktu yang diukur pada puncak maksimum masing-masing komponen. Hal ini ditentukan oleh koefisien partisi masing-masing (distribusi)  $K$  dari bahan terlarut (analitik) dalam pelarut (fase diam) pada temperatur tersebut.

Koefisien partisi  $K$  didefinisikan sebagai berikut:

$$K = \frac{\text{jumlah bahan terlarut(analitik) per unit volum e fase diam (cair)}}{\text{jumlah bahan terlarut (analitik) per unit volum e fase gerak (gas)}}$$

$$K_A = \frac{[C_s](\text{cair})}{[C_m](\text{gas})} \quad K \text{ adalah istilah rasio konsentrasi}$$

### Rasio Partisi ( Rasio Kapasitas)

Rasio kapasitas/rasio partisi ( $k'$ ) digunakan untuk mengekspresikan kondisi kesetimbangan dalam kolom, dan dinyatakan dalam rumus sebagai berikut :

$$k' = \frac{\text{berat bahan terlarut(anali t) dalam fase diam}}{\text{berat bahan terlarut (analit) dalam fase gerak}}$$

$$k' = K \frac{V_L}{V_G}$$

dimana :  $V_L$  = volume fase diam  
 $V_G$  = volume gas atau volume celah kolom

$$k' = \frac{t_{R'}}{t_M} = \frac{t_R}{t_M} - 1$$

Koefisien partisi adalah jumlah kekuatan interaksi diantara bahan terlarut dan pelarut. Keuntungan utama GC atas destilasi adalah jenis pelarut yang bisa digunakan.

### Retensi Relatif dan Efisiensi pelarut

Efisiensi pelarut diukur dengan  $\alpha$ , retensi relatif. Hal ini adalah rasio dari retensi waktu yang disesuaikan atau koefisien partisi. Keduanya,  $\alpha$  dan  $k'$  adalah tergantung pada temperatur. Rasio partisi  $K$  menurun terhadap waktu. Efisiensi pelarut dirumuskan sebagai berikut :

$$\alpha = \frac{t_{R2}}{t_{R1}} = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_2}{K_1}$$

Pada banyak kasus  $t_{R1}$  sering digunakan sebagai acuan distribusi puncak-puncak lainnya, yang penting dalam analisis kuantitatif.

## Resolusi

Pemisahan yang sebenarnya dari dua puncak yang berurutan diukur dengan resolusi R. Resolusi dapat ditentukan dari kromatogram yang diukur dari pemisahan dua puncak maksimum dan faktor performansi diukur dari lebar puncak.

$$R = \frac{2d}{Wb_2 + Wb_1}$$

## Waktu Retensi ( $t_R$ )

Waktu munculnya satu puncak adalah :

$$t_R = (k' + 1) \frac{1}{\mu}$$

## Ekspresi yang menghubungkan n, R, a, k', dan L

Ekspresi penting yang menghubungkan Resolusi, R dengan angka plat teoritis, n adalah:

$$n_{\text{req}} = \frac{L}{h} = 16R^2 \left( \frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \times \left( \frac{k'_2 + 1}{k'_2} \right)^2$$

**dimana :**  $k'_2$  = puncak 2       $\alpha$  merupakan  $\frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}}$

Resolusi :

$$R_s = \frac{\sqrt{n}}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k'_2}{1 + k'_2} \right)$$

## Istilah pada Kromatografi Gas Kapiler

Pada Kromatografi gas kapiler, gas yang ditangkap tidaklah penting dan tidak memberikan kontribusi pada efisiensi pemisahan. Dua istilah selanjutnya yang digunakan untuk menguraikan kinerja kromatografi gas kapiler :

a. Jumlah plat efektif  $N$

$$N = 16 \left( \frac{t'_R}{W_b} \right)^2 = 5,54 \left( \frac{t'_R}{W_h} \right)^2$$

$t'_R$  = waktu retensi yang disesuaikan

b. Tinggi Ekuivalen Plat Effektiv (HETP),  $H$  :

$$H = \frac{L}{N}$$

#### 18.4.5. PENGOPERASIAN KOLOM

Dengan mempertimbangkan efek temperatur dan tekanan dalam kromatografi gas, maka lebih digunakan volume retensi daripada waktu retensi.

#### Volume Retensi dan Volume Retensi spesifik $V_g$

Hubungan antara waktu retensi dan volume retensi adalah :

$$V_R = t_R F \quad \text{dimana : } \begin{array}{l} V_R = \text{volume retensi} \\ t_R = \text{waktu retensi} \\ F_c = \text{aliran gas dari kolom keluar} \end{array}$$

Laju aliran  $F_c$  ini yang normalnya ada ke atmosfer diberikan oleh persamaan

$$F_c = F_m \times \frac{T_c}{T_a} \times \left[ \frac{P - P_{H_2O}}{P} \right]$$

dimana :

- $F_c$  = Aliran gas
- $F_m$  = aliran yang terukur
- $P$  = tekanan pada akhir kolom
- $P_{H_2O}$  = Tekanan uap air
- $T_c$  = Temperatur kolom dalam  $^{\circ}K$
- $T_a$  = Temperatur ruangan dalam  $^{\circ}K$

Hubungan antara volume retensi dan waktu retensi yang diikuti oleh persamaan tersebut maka :

$$\text{Volume gas yang terhambat} \quad V_m = t_m F_c$$

$$\begin{aligned} \text{Volume retensi yang disesuaikan} \quad V'_R &= V_R - V_m \\ &= F_c (t_R - t_m) \end{aligned}$$

### **Koreksi untuk Tekanan dalam Kolom**

Dalam sistem yang mengalir dimana fluida adalah kepadatan tekanan yang dimampatkan dan kecepatannya akan berbeda pada tiap-tiap titik pada kolom. Aliran gas pembawa jika diukur pada bagian akhir kolom, nilainya harus disesuaikan dengan tekanan rata-rata dalam kolom dengan mengaplikasikan faktor kompresibilitas, j :

$$j = \frac{3}{2} \left[ \frac{\left( \frac{P_i}{P_o} \right)^2 - 1}{\left( \frac{P_i}{P_o} \right)^3 - 1} \right]$$

dimana : **P<sub>i</sub>** dan **P<sub>o</sub>** adalah masukan absolut (i) dan tekanan keluaran (o) dari gas pembawa.

Demikian juga untuk kecepatan gas harus di sesuaikan pada kondisi rata-rata.

Gabungan dari compresibility menaikan volume retensi terkoreksi  $V_o$  :

$$V_R^0 = j t_R F_c = j V_R$$

### **Volume Retensi Netto**

Volume retensi netto adalah di dapat dari volume retensi disesuaikan

$$\begin{aligned} V_N &= (V_R^0 - V_m^0) \\ &= j F_c (t_R - t_m) \end{aligned}$$

### Volume Retensi Spesifik Vg

Volume retensi spesifik Vg adalah hubungan dasar antara kromatografi gas dan pertimbangan efek dari temperatur dan berat fase diam pada volume netto VN. Jumlah ini tidak tergantung pada peralatan dan merupakan volume retensi terkoreksi pada 0°C per gram fase diam.

$$V_g = \frac{V_N * 273}{W_L * T}$$

dimana :  $W_L$  = berat fase diam (cair)  
 $T$  = temperatur absolut gas pembawa dalam °K  
 $V_N$  = volume retensi nett

### Hubungan antara Vg dan Faktor Kapasitas k'

Faktor kapasitas  $k' = \frac{\text{berat bahan terlarut (analit) fase diam}}{\text{berat bahan terlarut (analit) fase gerak}}$

$$k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

$$k' t_m = (t_R - t_m)$$

$$V_g \geq \frac{j F_c t_m k'}{W_L} \times \frac{273}{T}$$

### Volume Retensi Spesifik dan konstanta partisi, K

$$V_g = \frac{V_M^0}{W_L} \times \frac{273}{T}$$

$V_M^0$  dan  $V_M$  adalah identik

$$V_g = \frac{K V_s}{W} \times 273$$

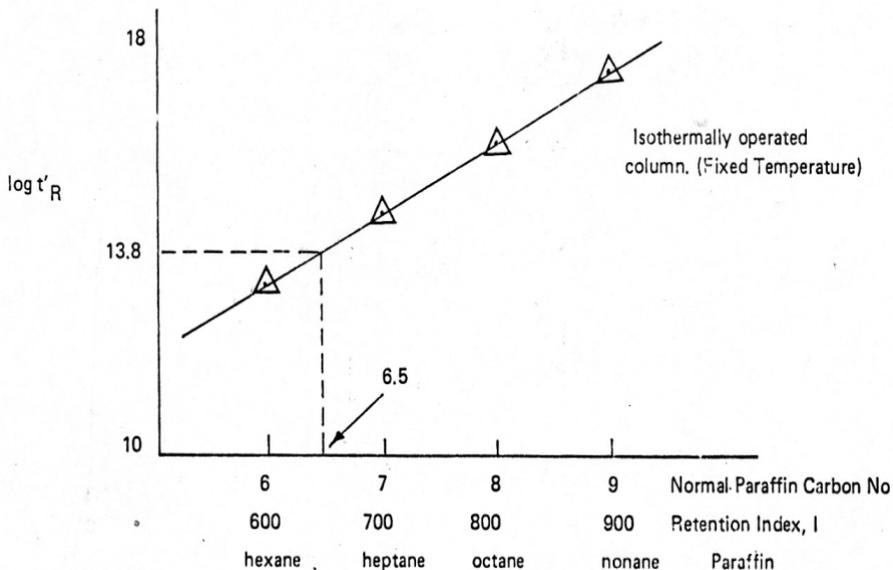
$$V_g = \frac{K}{\rho_s} \times \frac{273}{T}$$

$$\rho_s = \frac{W_L}{V_s}$$

Vg tergantung pada temperatur, koefisien partisi dan densitas fase diam.

### 18.4.6. INDEKS RETENSI

Dengan mengambil hubungan antara sederetan senyawa homologi bahwa logaritma waktu retensi yang disesuaikan ( $\log t'_R$ ) dalam kolom yang diberikan pada temperatur yang telah ditetapkan (isotermal) adalah linier, maka Kovats dapat menyatakan semua senyawa tanpa memandang sifat kimianya seolah-olah sebagai n-paraffin. Skala *arbitrary* 100 unit di pakai sebagai perbedaan antara dua paraffin yang berbeda satu nomor karbon. Paraffin heksana, heptana, oktana dan nonana dengan jumlah karbon 6, 7, 8, dan 9 beturut-turut dialokasikan pada nilai 600, 700, 800 dan 900 pada *Retention Index System* (Gambar 18.9.)



**Gambar 18.9. Hubungan indeks retensi (I) terhadap waktu retensi ( $t_R$ )**

Sekarang benzena dialirkan pada kolom diatas maka logaritma dari waktu retensi yang disesuaikan = 13,8 sehingga benzena ekuivalen pada paraffin dengan karbon 6,5 dan Index I = 650.

## Perhitungan Indeks Retensi

Indeks suatu senyawa dapat dihitung . Untuk menghitung Indeks suatu senyawa, maka senyawa tersebut harus terletak di antara dua paraffin yang dipisahkan oleh satu jumlah karbon. Waktu retensi yang disesuaikan dari senyawa tersebut dan dua standar paraffin harus ditentukan.

Untuk kolom yang dioperasikan secara isothermal

$$I = 100Z + 100 \left[ \frac{\log t'_{R(X)} - \log t'_{R_Z}}{\log t'_{R_{(Z+1)}} - \log t'_{R_Z}} \right]$$

dimana : I = Indeks Retensi

X = Senyawa yang dipilih

Z = alkana normal (n-paraffin) dengan jumlah karbon Z yang muncul sebelum X

Z + 1 = alkana normal (n-paraffin) dengan jumlah karbon Z + 1 yang muncul setelah X

Daftar dibawah adalah perhitungan Indeks Retensi, I untuk *butane-2-on* dengan menggunakan waktu retensi yang diukur dalam mm dari perekam tabel pada kecepatan konstan.

waktu gas tertahan,	$t_m = 5 \text{ mm}$
waktu retensi n-heksana	$t_R = 66 \text{ mm}, t'_R = 61 \text{ mm}$
waktu retensi butane-2-on	$t_R = 119,5 \text{ mm}, t'_R = 114,5 \text{ mm}$
waktu retensi n-heptana	$t_R = 142 \text{ mm}, t'_R = 137 \text{ mm}$
dari data diatas Z	= 6 (n-heksana dengan jumlah karbon 6)
Z + 1	= 7 (n-heptana dengan jumlah karbon 7)

Waktu retensi yang disesuaikan  $t'_R = t_R - t_m$

Jadi untuk n-heksana	$\log_{10}^{61} = 1,7853 = \log t'_{R_Z}$
untuk butane-2-on	$\log_{10}^{114,5} = 2,0588 = \log t'_{R(X)}$
untuk n-heptana	$\log_{10}^{137} = 2,1367 = \log t'_{R_{(Z+1)}}$

$$I = 100 \times 6 + \left[ \frac{2,0588 - 1,753}{2,1367 - 1,753} \right] * 100 = 678$$

## Pengaruh Temperatur pada Indeks retensi (I)

Ketergantungan temperatur Retention Index adalah fungsi hiperbolik yang dideskripsikan sebagai :

$$I(T) = A + \frac{B}{T + C}$$

dimana : I (T) = Indeks Retensi pada temperatur  
T = Temperatur dalam °K  
A, B, C = Konstanta ditentukan secara eksperimental

Hubungan tersebut dapat berupa garis lurus (linear), bagian dari substansi polaritas rendah pada fase diam non-polar.

## Kondisi Temperatur Terprogram

Di bawah kondisi temperatur terprogram, perkiraan hubungan linear antar temperatur *elution* dan jumlah karbonnya :

- (a) temperatur kolom awal adalah rendah.
- (b) dipertimbangkan hanya pada jumlah karbon yang relatif terbatas

Dibawah kondisi tersebut maka :

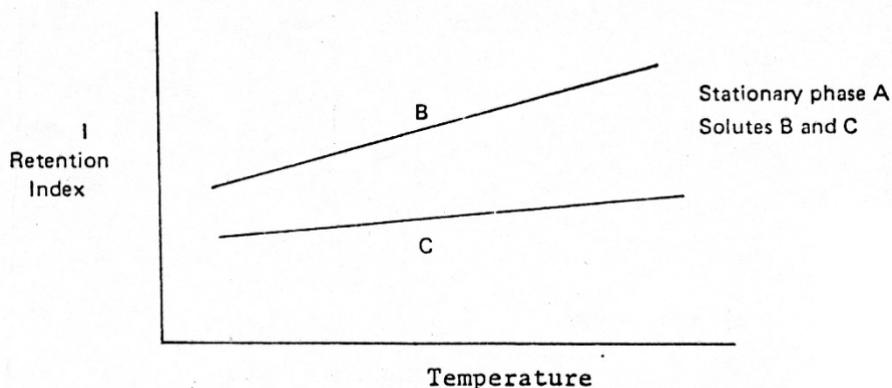
$$I = 100Z + 100 \left[ \frac{T_{R(x)} - T_{Rz}}{T_{R(z+1)} - T_{Rz}} \right] \quad \text{dimana : } T = \text{temperatur}$$

Kesalahan dari persamaan diatas terutama muncul dari pengaruh perubahan suhu pada instrumen, aliran gas pembawa, dan ketidaktepatan pengukuran waktu retensi dan umur kolom.

## Hubungan Indeks Retensi vs Temperatur Kolom

Untuk fase cair yang telah diberikan plot Retention Indeks vs temperatur kolom dapat dipertimbangkan berupa garis lurus. Setiap senyawa untuk fase tertentu akan memiliki hubungan yang berbeda sesuai kemiringan dan nilai indeks. Hal ini dapat digunakan untuk memperkirakan nilai indeks pada temperatur yang berbeda dan dapat menjadi alat (penolong) dalam teknik pergeseran puncak

dalam indentifikasi kualitatif.



Gambar 18.10. Hubungan Indeks Retensi vs Temperatur Kolom

### Penggunaan Sistim Indeks Retensi

Indeks Retensi sangat bagus untuk menjawab pertanyaan :

- (a) Apakah suatu kolom A dapat memisahkan komponen-komponen yang dimaksud?
- (b) Dengan tersedianya beberapa kolom, kolom manakah yang akan bekerja paling baik ?
- (c) Tampilan senyawa A, B, C, D pada kolom tertentu.
- (d) Identitas dari puncak tak dikenal ASTM = *Special Publication AMD-25A*.

**O.E. Schupp and J.S. Lewis (editors). Compilation of Gas Chromatographic Data**

**ASTM Special Publication AMD-25A. ASTM Philadelphia, USA**

Tidak ada petunjuk pemecahan dalam indeks retensi. Indeks bergantung pada senyawa (analit), temperatur dan fase diam.

### Contoh Kerja : Penggunaan Indeks Retensi Kovats

Acuan pada Index Data :

ASTM Gas Chromatographic Data Compilation

Catalog AMD 25A (1967)

Catalog AMD 25A S-1 (1971)

<b>Sampel mengandung</b>	<b>Titik didih</b>	<b>Tipe senyawa</b>
Carbon tetrachloride	76 <sup>o</sup> C	Chlorinated hydrocarbon
Benzene	80 <sup>o</sup> C	Aromatic hydrocarbon
Cyclohexane	81 <sup>o</sup> C	Saturated hydrocarbon
n-butanol	118 <sup>o</sup> C	Alkohol

Terdapat empat fase cair yang tersedia di laboratorium

SE-30	non-polar silicone
Apiezon L	non-polar hydrocarbon
QF-1	polar fluorinated silicone
Carbowax 20M	polar polyether

Harga *Retention Index* (120<sup>o</sup>C) ASTM Reference

<b>Senyawa</b>	<b><u>F a s e   c a i r</u></b>			
	<b>SE-30</b>	<b>Apiezon L</b>	<b>QF-1</b>	<b>Carbowax 20M</b>
Carbon tetra-Chloride	680	687	733	895
Benzene	678	683	780	961
Cyclohexane	677	691	701	756
n-butanol	676	620	821	1111

### **HASIL**

Satu puncak tampak menggunakan SE-30

Dua puncak tampak menggunakan Apiezon L

Empat puncak tampak tidak terpisah dengan baik dengan menggunakan QF-1

Empat puncak tampak terpisah dengan baik dengan menggunakan Carbowax 20M

### **18.4.7. FASA DIAM**

**Fasa diam untuk kromatografi gas padat (GSC)**

Kromatografi gas padat (GSC) tidak digunakan secara ekstensif sebagai teknik pemisahan dengan beberapa alasan yaitu :

- (a) Adsorpsi isoterm dalam GSC sering non-linear. Ini akan menghasilkan efek merugikan dilihat dari retensi waktu *recovery* sampel yang berubah-ubah dan puncak yang tidak simetris.
- (b) Area permukaan besar mengakibatkan waktu retensi yang lebih lama . Mengoperasikan kolom pada temperatur yang lebih tinggi untuk mengurangi waktu retensi akan mengakibatkan aktivitas katalis adsorben.
- (c) Adsorben lebih sulit distandarisasi dan disiapkan daripada fase cair.

GSC mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan GLC dan hal ini yang membuat GSC digunakan di beberapa bidang

- (a) Umumnya adsorben lebih stabil pada rentang temperatur yang lebih lebar
- (b) Adsorben tidak mudah diserang oleh oksigen.
- (c) Tidak terdapat kolom yang rusak sehingga dapat menggunakan detektor dengan sensitivitas tinggi.
- (d) Selektivitas GSC biasanya lebih besar daripada GLC untuk pemisahan geometrik dan isomer isotopik.
- (e) GSC juga sesuai untuk pemisahan gas-gas inorganik dan hidrokarbon dengan berat molekul rendah dimana biasanya GLC menunjukkan selektivitas kecil.

Adsorben utama yang digunakan dalam GSC sebagai fase diam adalah silika, alumina, karbon grafit dan penyaring molekular.

### ***Adsorben Fase Diam***

#### **(a) Karbon**

Bentuk yang paling sederhana diperoleh dari kelapa atau arang aktif yang tersedia dalam ukuran 80-1 mesh. Bahan ini masih

terkontaminasi oleh elemen lain, konsistensi kecil dalam ukuran pori-pori dan jumlah sisi aktif. Biasanya tampak puncak berekor namun bahan ini murah. Kini telah ada dua macam adsorben karbon baru yaitu "Carbosieve dan Carbopack"

**Carbosieve** Merupakan karbon hitam aktif tinggi yang lebih homogen ukuran partikel daripada karbon aktif dan tidak tampak jelas puncak berekor. Memisahkan gas-gas permanen O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, dan CO<sub>2</sub>.

**Carbopack** Merupakan karbon grafit. Diperoleh dengan cara melewati metana pada karbon hitam pada 3000°C. Film karbon grafit dilapisi hingga menjadi partikel karbon padat. Senyawa akan mudah teradsorpsi atau desorpsi dari film. Dapat memisahkan senyawa polar tinggi seperti SO<sub>2</sub>, CO dan H<sub>2</sub>S dan senyawa dengan berat molekul cukup tinggi hingga C<sub>10</sub> alkohol normal.

### **(b) Silika**

(i) Gel silika

(ii) Silika berpori (spherosil, Porasil) dengan ukuran pori-pori dan area permukaan berbeda.

Sifat adsorpsi silika bergantung pada preparasinya. Gel silika menyerap air dengan kuat dan hasil kromatografinya dipengaruhi oleh jumlah air teradsorpsi. Diaktifkan lebih dahulu dengan menggunakan gas pembawa yang dipanaskan pada 150°C. Hasil yang dicapai berubah sesuai dengan jumlah air yang teradsorpsi.

### **(c) Alumina**

Merupakan senyawa yang kering sekali dan sangat aktif serta memberikan volume retensi yang tinggi. Polaritas diukur oleh retensi etana relatif terhadap etana dan propana. Ini akan mencapai minimum bila kandungan air dari alumina sesuai dengan pemenuhan monolayer ( 2% W/W). Deaktivasi dengan 2% silikon atau air dapat memisahkan alkana C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alkena, asetilen dan

pentana. Permukaan dapat dimodifikasi dengan gugus garam I dan II yaitu LiCl (5-20%).

Garam-garam ini akan :

- ( i ) menurunkan area permukaan 20 plat / cm
- ( ii ) mempercepat komponen-komponen yang di elusi
- (iii) dengan waktu retensi rendah maka material dengan berat molekul tinggi dapat dipisahkan.
- ( iv ) dapat berinteraksi secara kimia dengan komponen-komponen.

#### **(d) Penyaring Molekular**

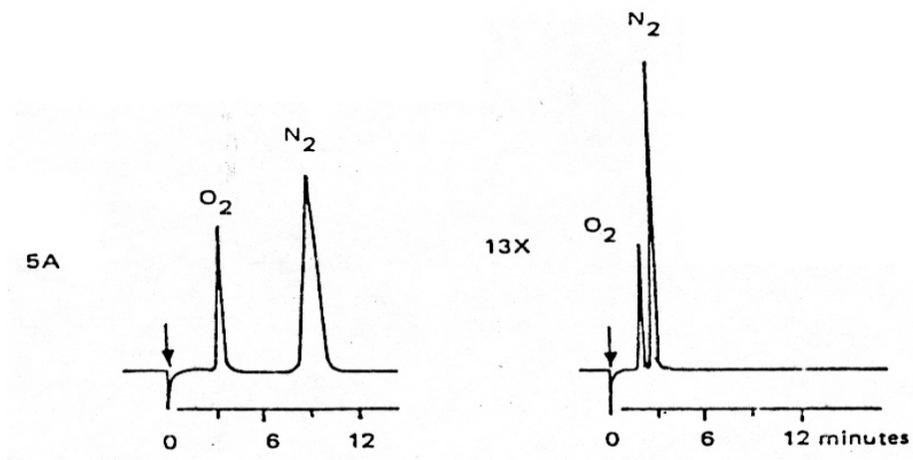
Penyaring molekular adalah nama umum yang diberikan untuk zeolit buatan yang merupakan aluminosilikat dari natrium, kalium dan kalsium. Bahan tersebut terdiri dari jaringan regular silikat dengan diameter pori  $d$  yang besarnya kurang atau sama dengan molekul bahan terlarut. Oleh karena itu silikat bertindak sebagai penyaring. Penyaring molekular lebih mudah dikemas, tahan lama dan memiliki *high batch uniformity*. Penyaring molekular yang digunakan dalam kromatografi gas adalah 4A, 5A 10X dan 13X dengan pengaturan jarak masing-masing 4A, untuk 4A dan 5A serta 10A untuk 13X.

Struktur yang representatif 4A adalah :



Air dan  $\text{CO}_2$  secara jelas teradsorpsi dan memberi efek nyata pada waktu retensi. Zeolit harus dibakar pada  $(300-500)^\circ\text{C}$  selama 4-5 jam.

Kolom dapat dikondisikan dengan menjalankan gas kering pada  $(300-400)^\circ\text{C}$  selama 2 jam.



**Gambar 18.11. Pemisahan campuran oksigen – nitrogen pada penyaring molekuler 5A dan 13X**

Sebagai hasil dari kemampuannya untuk mengadsorpsi  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $CO_2$  dan air, zeolit digunakan dalam pengeringan dan pemurnian gas-gas. Biasanya dipakai dalam GC untuk memurnikan gas pembawa. Dengan menggunakan 5A pemisahan  $H_2$ ,  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $CO$ ,  $C_2$ ,  $H_6$ , dan  $CO_2$  dapat tercapai dengan baik.

### **Butiran Polimer Berpori**

Rangkaian butiran polimer hidrokarbon aromatik microporous telah dipasarkan dengan nama Porapak, Polypak, Hasepak, Chromosorb 102 dan telah diaplikasikan secara ekstensif pada Kromatografi Gas Padat. Karakteristik senyawa ini :

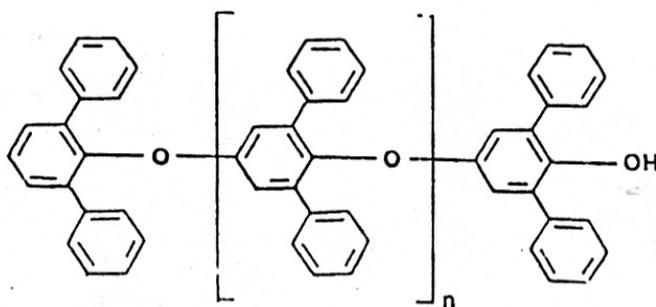
- (a) Kemasan butiran dengan area permukaan dan secara fisik memiliki struktur yang kuat.
- (b) bermacam-macam ukuran mesh dan tingkat polaritas
- (c) Dapat dicapai hingga  $250^{\circ}C$

Bahan ini memerlukan kondisi awal untuk memindahkan polimer dengan berat molekul rendah. Tidak akan terjadi *column bleed* yang dapat mempengaruhi dasar kromatogram sampai terjadi

kerusakan komposisi. Puncak berekor minimal ditemukan untuk senyawa polar dan non-polar. Air adalah komponen lain pada kolom polimer.

Butiran polimer berpori telah diaplikasikan dalam analisa senyawa volatil anorganik dan organik terutama untuk sampel dengan bentuk puncak yang lemah dengan menggunakan kolom kemasan dengan lapisan diatomik khususnya air, asam formaldehida karboksilat dan gas-gas anorganik. Belum banyak diketahui mekanisme retensi, beberapa pendapat menyatakan bahwa pada temperatur rendah bahan terlarut tertahan oleh absorpsi, sedangkan pada temperatur tinggi polimer berperilaku seperti umumnya cairan. Pada Tabel 12.2 merupakan daftar macam polimer yang digunakan dalam kromatografi gas dan berbagai penggunaannya.

Tenax-GC adalah polimer berpori yang unik dan memiliki stabilitas termal yang tinggi serta memungkinkan dioperasikan secara isoterm pada 375°C dan 400°C pada pemisahan temperatur terprogram. Tenax-GC adalah polimer linear dari p-256-diphenyl-phenylene-oksida.



Gambar 18.12. Struktur Tenax-GC

**Tabel 18.2. Sampel Yang Sesuai Untuk Pemisahan Pada Butiran Polimer Berpori**

<b>Polimer Berpori</b>	<b>Dianjurkan untuk Pemisahan</b>	<b>Tidak dianjurkan untuk</b>
<b>Chromosorb 101 Porapak P dan PS</b>	Ester, eter, keton, alkohol, hidrokarbon, asam lemak, aldehid dan glikol	Amina, anilin
<b>Chromosorb 102 Porapak Q</b>	Gas ringan dan permanen, asam dgn berat molekul rendah, alkohol, glikol, keton, hidrokarbon, ester, nitril, dan nitroalkana	Amina, anilin
<b>Chromosorb 103</b>	Amina, amida, alkohol, aldehid hidozin, dan, keton	Unsur asam, glikol, nitril, dan nitroalkana
<b>Chromosorb 104</b>	Nitril, senyawa nitro, gas sulfur, nitrogen oksida amonia, dan xlenol	Amina dan glikol
<b>Chromosorb 105 Porapak N</b>	Campuran aqua dari formaldehid, asetilen dari hidrokarbon rendah, gas alkohol	Glikol, asam dan amina
<b>Chromosorb 106 Porapak QS</b>	Asam karbosilat C <sub>2</sub> -C <sub>5</sub> , alkohol, dan gas-gas sulfur	Glikol dan amina
<b>Chromosorb 107 Porapak T</b>	Formaldehid dari air, asetilen dari hidrokarbon lebih rendah	Glikol dan amina
<b>Chromosorb 108</b>	Gas, materi bersifat polar sperti air, alkohol, aldehid, dan glikol	
<b>Porapak S</b>	Alkohol normal dan bercabang, keton, dan senyawa halokarbon	Asam dan amina
<b>Porapak N</b>	Ester dan eter, nitril, dan senyawa nitro	Glikol dan amina
<b>Tenax – GC</b>	Senyawa diol polar dgn titik didih tinggi, metil ester dari asam dikarbositat, amina, diamina, etanolamina, amida, aldehid, dan keton	

### **Fasa diam untuk kromatografi gas cair (GLC)**

Pada GLC, fase cair diam dilapiskan atau terikat pada bahan pendukung. Pada kolom kemasan konvensional, fase cair diam disertakan ke partikel-partikel, sedang pada kolom kapiler menjadi dinding bagian dalam dari tabung.

### **a. Bahan Pendukung Padat**

Fungsi dari bahan pendukung padat adalah untuk menahan fase diam dalam bentuk merata dengan baik untuk menyediakan bidang sentuhan seluas mungkin antara gas dan fase cair, sehingga dapat terjadi partisi antara fase gas bergerak dan fase cair diam.

Karakteristik bahan pendukung ideal :

- (a) Permukaan yang luas per unit volume, 1 sampai 20 sq m/gram.
- (b) Inert terhadap bahan kimia – reaksi kimia terhadap sampel sangat kecil.
- (c) Stabilitas termal tinggi
- (d) Diameter pori seragam dengan kisaran ukuran kurang dari 10 $\mu$
- (e) Bentuk partikel beraturan terutama yang berbentuk bola yang seragam.
- (f) Secara mekanik cukup kuat untuk menahan prosedur kolom kemasan tanpa disintegrasi atau pengelompokan

Belum ada bahan yang memenuhi semua karakteristik di atas, tetapi tersedia sejumlah bahan pendukung yang sesuai termasuk *diatomite* (diatomaceous earth, Kieselguhr), gelas, bubuk flourcarbon dan karbon hitam grafit. Lebih dari 90% dari kemasan kolom GLC menggunakan diatomaceous earth (Tanah diatomae) yang terdiri dari tulang/rangka diatom, alga sel tunggal.

### **b. Beberapa Aturan Umum untuk Pemilihan Bahan Pendukung**

Fase Diam Non-Polar : Jika sampel yang akan dianalisa bersifat non-polar, maka tidak perlu diadakan perlakuan pendahuluan pada bahan pendukung. Jika sampel yang akan dianalisa adalah sampel polar maka bahan pendukung perlu dicuci dengan asam terutama jika fase diam memuat kurang dari 5%

Fase Diam Polar Sedang : Biasanya bahan pendukung dicuci dengan asam atau basa, bahan pendukung seharusnya di *silanized* jika digunakan pada pemuatan rendah.

Fase Diam Polar : Cairan polar cenderung menutup jalan sisi aktif , oleh karena itu hanya diperlukan perlakuan pendahuluan sedikit pada bahan pendukung. Bahan pendukung seharusnya dilakukan pencucian asam pada atau tidak ada perlakuan sama sekali. Pemuatan kurang dari 5% seharusnya di *silanized*.

Pencucian asam harus mengandung Carbowax, Ucon Oil dan polialkohol lainnya, sedangkan pada poliester dan silikon sebaiknya dilakukan pencucian basa.

Ukuran partikel yang biasanya dinyatakan dalam ukuran mesh, sebaiknya 1/8 diameter dalam tabung.

Pada GLC, pemisahan dapat terjadi karena adanya interaksi selektif antara bahan terlarut (analit) dengan fase cair diam. Semua bahan terlarut akan memerlukan waktu yang sama pada fase gas. Tabel 11.3 menunjukkan jenis interaksi yang terjadi antara bahan terlarut dan fase diam.

Fase diam cair yang digunakan pada kromatografi gas harus memiliki karakteristik :

- (a) Non-volatil - Tekanan uap harus dibawah 0,01 hingga 0,1 mm pada temperatur operasional untuk keawetan umur kolom. *Column bleed* dapat terjadi yang menimbulkan penurunan umur kolom dan mempengaruhi kerja detektor.
- (b) Stabilitas kimia – Fase diam seharusnya tidak breakdown atau tidak bereaksi dengan komponen-komponen atau pelarut untuk membentuk peluruhan hasil.
- (c) Sifat sifat Pelarut yang Layak – Yaitu kekuatan melarutkan bahan terlarut untuk dipisahkan dengan berbagai selektifitas bahan terlarut.
- (d) Stabilitas Termal – Fase harus tidak *breakdown* pada temperatur melebihi temperatur operasional. Breakdown sering terjadi karena pengaruh bahan katalitik terhadap bahan pendukung.

- (e) Viskositas Rendah – Fase dengan viskositas rendah umumnya memberikan puncak yang tajam. Sebaiknya memiliki viskositas 1 *poise* atau kurang. Viskositas memberikan efek resistan pada transfer massa dalam fase cair (CI)
- (f) Dapat larut dalam pelarut volatil – Hal ini boleh melapisi bahan pendukung

Dalam prakteknya hanya ada sedikit fase cair yang memenuhi semua syarat tersebut di atas.

### **c. Klasifikasi dan Pemilihan Fase Diam.**

Pemilihan fase cair (fase diam untuk GC) mengikuti aturan umum dari fase cair yang serupa untuk sampel yang serupa. Dengan begitu seseorang memilih fase diam non-polar untuk sampel non-polar dan fase diam polar untuk sampel polar. Perlu ditunjukkan bahwa tidak ada metode yang sangat mudah untuk memilih fase terbaik yang dapat memberikan pemisahan yang baik. Bagaimanapun beberapa operator mencoba dengan beberapa keberhasilan untuk mengembangkan kriteria kualitatif maupun kuantitatif untuk pemilihan dan klasifikasi fase diam.

#### **(a) Pendekatan Kualitatif**

Dengan campuran komponen-komponen yang memiliki titik didih hampir sama tetapi berbeda komposisi kimianya, maka pemisahan harus benar-benar didasarkan pada kekuatan interaksi tiap analit (bahan terlarut) dengan fase diam. Dengan memvariasi polaritas fase diam maka interaksi yang terjadi dapat mengantarkan pada pemisahan komponen-komponen.

Pendekatan kualitatif ini didasarkan pada penyesuaian fase diam dengan komponen-komponen bahan terlarut untuk memberikan pemisahan yang terbaik. Baik bahan terlarut maupun fase diam dapat diklasifikasikan menurut sifat kimia dan terpilih pasangan-pasangan yang sangat cocok. Jenis pendekatan ini diteliti oleh Ewell dan asistennya.

Tabel 18.3. Prinsip Intermolecular Forces karakteristik dari interaksi solut/fase diam

Jenis	Penjelasan	Komentar
Dispersive (London) Forces	Timbul dari medan elektrik yang dihasilkan oleh berubah-ubahnya dipol yang sangat cepat antara nukleus dan elektron dalam molekul dengan gerakan <i>zero-point</i> . Dipol yang terinduksi terbentuk dalam fase dengan seketika menghasilkannya.	Hadir dalam semua sistem bahan terlarut/pelarut. Hanya sumber atraksi antara molekul-molekul non-polar. Tidak tergantung pada temperatur.
Induction (Debye) Forces	Timbul dari interaksi antara dipol permanen dengan molekul yang dapat berpolarisasi	Umumnya lemah dan menurun sesuai peningkatan temperatur. Interaksi antar dipol- dipol terinduksi tidak sama dalam semua arah dan tergantung pada orientasi molekular relatif.
Orientation (Keesom) Forces	Timbul dari <i>net attraction</i> antar molekul-molekul atau bagian molekul yang memiliki momen dipol permanen	Menurun sesuai dengan peningkatan temperatur dan mendekati nol pada temperatur tinggi bila semua orientasi adalah sama kemungkinannya.
Donor-acceptor Complexes	Interaksi ikatan kimia khusus yang timbul dari transfer elektron parsial dari orbital terisi pada donor ke orbital kosong pada molekul akseptor	Contoh yang termasuk di dalamnya : <i>coordination forces</i> antara ion-ion logam dan olefin, <i>charge transfer forces</i> , dan interaksi ikatan hidrogen.

#### (b) Pendekatan Kuantitatif

Bila lebih dari tiga atau empat senyawa yang akan dipisahkan dengan sifat kimia yang berbeda, pendekatan empiris seringkali tidak cukup untuk memilih fase diam. Salah satu pendekatan sukses yang dilakukan pada pemilihan fase diam yang lebih baik telah dikembangkan oleh Kovats yang merumuskan Indeks Retensi (Retention Index). Retention Index digunakan selanjutnya oleh Rohrschneider dan McReynolds untuk mengukur selektivitas dari fase diam.

#### **18.4.8. FASE DIAM YANG TERSEDIA**

Dari katalog berbagai pabrik-pabrik kimia dan instrumen didapatkan banyak daftar mengenai fase cair dengan bermacam polaritas dan karakteristik. Namun belum ditunjukkan bahwa hampir semua pemisahan kromatografi gas-cair dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu polimer-polimer berikut. Dari data retensi dan konstanta McReynolds dapat ditentukan bahwa *Squalene* termasuk dalam fase cair standar. Deretan Dexil seharusnya juga bisa dipertimbangkan sebagai hasil dari operasi temperatur maksimumnya hasil yang mengandung struktur *carboran*.

#### ***Fase Diam Kristal Cair***

Berlawanan dengan fase cair iso-tropik konvensional, dimana mekanisme pemisahan terutama ditentukan oleh *volatilitas* bahan terlarut dan polaritas, pada kristal cair *anisotropik* dibedakan oleh perbedaan bentuk bahan terlarut. Fase kristal cair banyak digunakan untuk pemisahan campuran dari bahan terlarut isomer kaku seperti *substituted benzene*, polyaromatic hidrocarbon (PAH) dan *polychlorinated biphenyls* dan *steroids*. Senyawa-senyawa tersebut bersifat termotropik oleh karena itu keadaan kristal cair dimulai titik leleh dan stabil secara termal hingga temperatur yang lebih tinggi (*clearing temperature*) dimana terjadi transisi menjadi cairan isotropi

Kristal cair termotropik diklasifikasikan menurut susunan molekul.

Tabel 18.4. Beberapa fase diam untuk kromtografi gas

Nama Kimia	Nama komersial	$\eta^x$ , benzene	MAOT
(1) Squalene		0	150 <sup>0</sup> C
(2) Dimethyl-silicone	OV-101, SP-2100, SE30, <u>SF 96</u>	15	350 <sup>0</sup> C
(3) Carborane Methylsilicone	Dexsil 300 GC	47	400 <sup>0</sup> C baik untuk analisa
(4) 50% phenyl-methyl Silicone	OV-17, SP 2250, <u>SE 52</u>	119	280 <sup>0</sup> C
(5) Trifluoropropyl methyl silicone	OV-210, SP 2401 <u>QF 1</u>	145	275 <sup>0</sup> C
(6) Poly ethylene glycol	<u>Carbowax 600</u>	323	125 <sup>0</sup> C
(7) Diethylene glycol Succinate	<u>DEGS</u>	495	180 <sup>0</sup> C
(8) 3, Cyanopropyl Silicone	Silar 10C, SP2340 <u>XE-60</u>	523	275 <sup>0</sup> C

### Fase Terikat / *Bonded phases*

*Bonded phases* merupakan fase diam yang terikat secara kimia maupun fisik pada bahan pendukung. Keuntungan utama dari bonded phases adalah *bleed* yang sederhana.

Ada tiga cara dimana fase dapat terikat pada silika, yaitu :

- (a) Preparasi estoil; mendukung alkohol terikat yang disiapkan melalui kondensasi alkohol dengan silika pada temperatur tinggi dalam autoclave. (Durapak)
- (b) Preparasi Siloxane bond; silika direaksikan dengan mono, atau multifungsional *chlorosilane*, *disilane* atau *reagen cyclosiloxane*

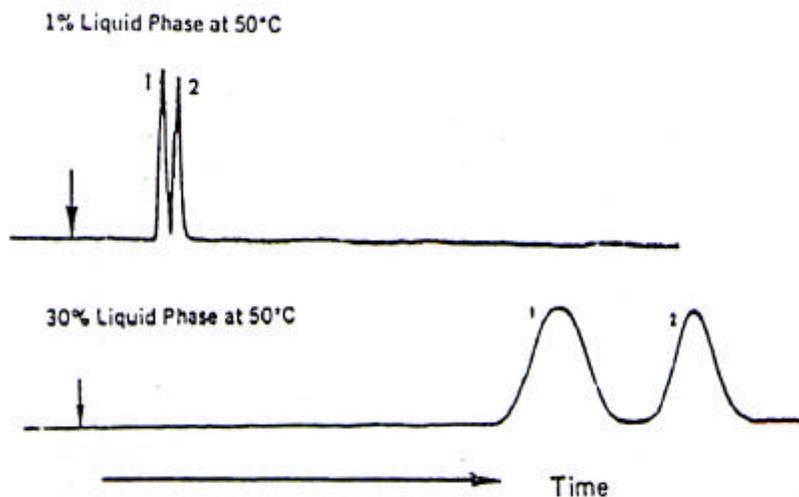
(c) Pengikatan fase cair pada bahan pendukung pada aliran gas rendah dan temperatur tinggi, diikuti perlakuan menyeluruh dengan pelarut (Ultrabond)

### **Persentase Fase Cair** (Pemuatan fase Diam)

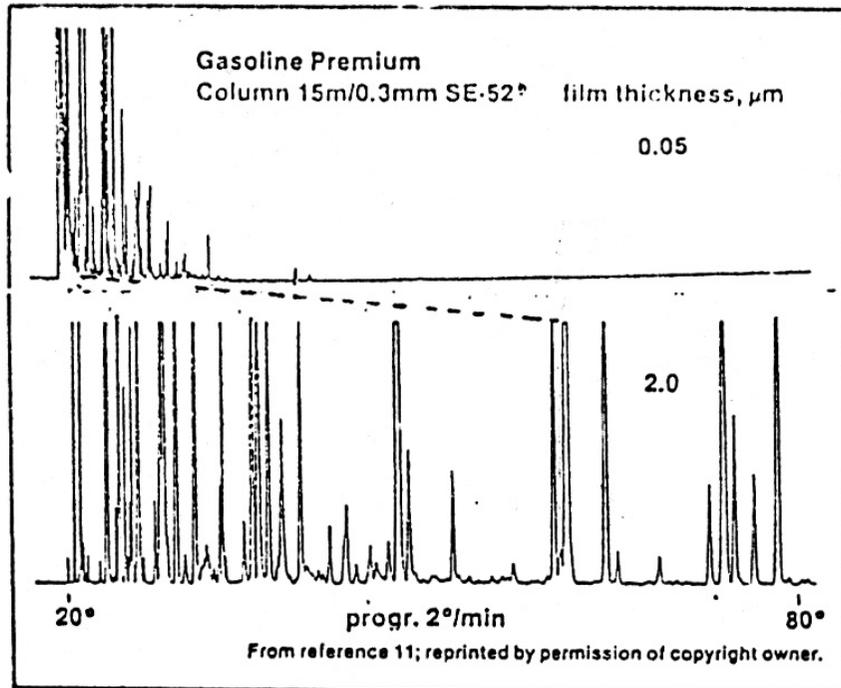
Jumlah fase cair yang digunakan harus cukup untuk melapisi partikel dengan lapisan tipis yang seragam. Kecenderungan saat ini mengarah pada kolom *lightly-loaded* (2-10%) dan analisa yang lebih cepat. Waktu retensi sebanding dengan gram fase cair yang ada, maka dengan pemuatan cairan yang rendah berarti analisis cepat.

### **Kolom Tabung Terbuka**

Ketebalan film pada kolom tabung terbuka bisa lebih tipis dibandingkan jika menggunakan kolom kemasan konvensional. Gambar 12.13 memperlihatkan pengaruh ketebalan film kolom kapiler pada pemisahan dan waktu analisis.



**Gambar 18.13.** Dua kromatogram dengan konsentrasi fase cair yang berbeda



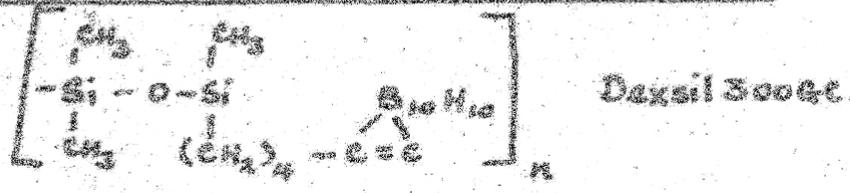
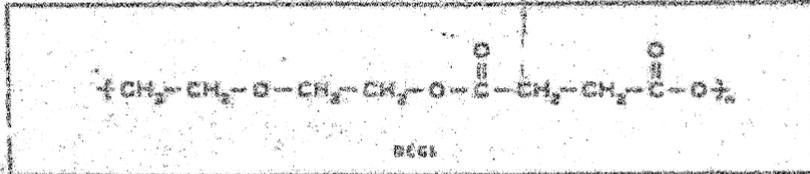
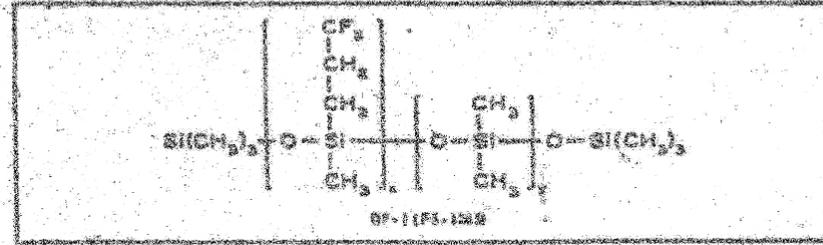
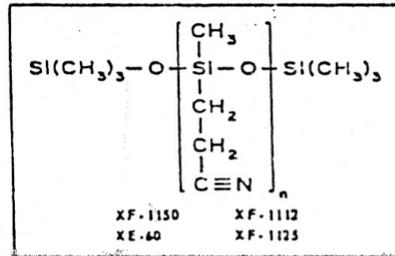
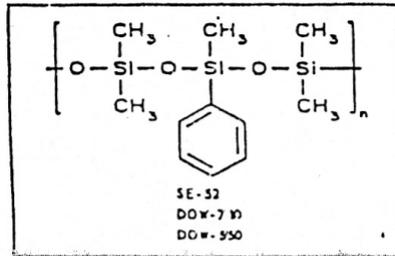
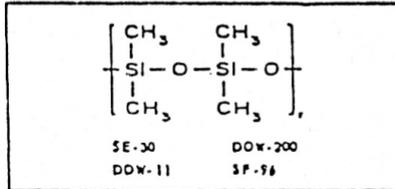
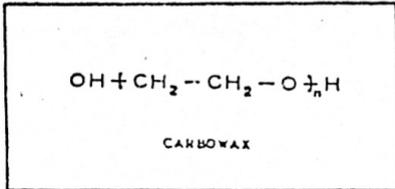
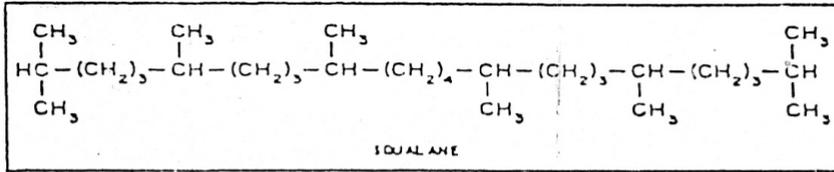
Gambar 18.14. Analisis Gasoline pada kolom dengan bentuk identik dan fase cair tetapi beda ketebalan film, pada kondisi yang identik.

#### 18.4.8. Detektor pada Kromatografi Gas

Syarat-syarat untuk detektor pada Kromatografi gas telah dibahas pada halaman sebelumnya. Detektor diferensial paling banyak digunakan dan termasuk berikut :

- (a) Flame Ionization Detector (F.I.D.)
- (b) Thermal Conductivity Detector (T.C.D.)
- (c) Electron Capture Detector (E.C.D.)
- (d) Flame Photometric Detector (F.P.D.)
- (e) Thermionic Spesific Detector N, P spesific (T.S.D.)
- (f) Photo Ionization Detector (P.I.D.)

## STRUKTUR KIMIA FASE CAIR



## Parameter yang menentukan kinerja detektor

Semua detektor tersebut diatas sangat berbeda dalam prinsip operasionalnya, hal ini yang membuat perbandingan menjadi sulit. Akan tetapi, terdapat sejumlah karakteristik yang mana dapat digunakan sebagai perbandingan yaitu :

- (a) Selektivitas
- (b) Sensitivitas
- (c) Noise dan Kuantitas minimum yang dapat terdeteksi
- (d) Linear range (rentang linier)

### (a) Selektivitas

Selektivitas detektor bergantung pada prinsip operasionalnya dan respon terhadap bermacam senyawa, misalnya T.C.D. yang mengukur perbedaan antara konduktivitas gas pembawa dan komponen analit dapat merespon terhadap semua senyawa sementara F.P.D. dengan filter S dan P hanya memberi respon pada senyawa-senyawa sulfur dan fosfor, tergantung pada filter yang digunakan.

### (b) Sensitivitas

Sensitivitas dinyatakan sebagai respon yang dapat dihasilkan dengan jalan memberi sejumlah sampel yang telah ditentukan. Hal ini dapat dihitung dengan pembagian area (dinyatakan dalam ampere x sec = coulomb) dengan berat sampel dalam gram.

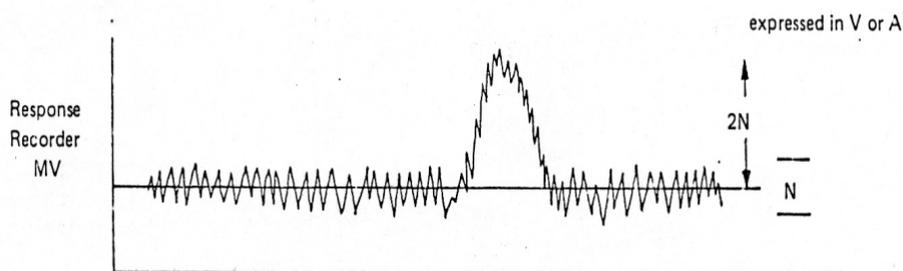
$$\text{Sensitivitas dalam coul/gm} = \frac{\frac{1}{2} \text{ base (sec)} \times \text{tinggi}}{\text{sampel dalam gram}}$$

Sensitivitas juga dapat dinyatakan dalam ketinggian puncak dan konsentrasi dapat digunakan sebagai pengganti berat sampel.

### (c) Noise dan Konsentrasi minimum yang dapat terdeteksi

Output elektrik dari detektor dapat ditingkatkan hingga tingkat berapapun dengan menggunakan *electrical amplification*. Akan tetapi *electrical noise* dalam detektor dan elektronik juga diperbesar

sampai batas di mana *noise* adalah cukup tinggi untuk menyembunyikan respon detektor. Oleh karena itu tingkat noise membatasi konsentrasi komponen yang dapat terdeteksi. Kuantitas minimum yang dapat terdeteksi adalah jumlah yang memberi respon detektor yang sepadan dengan dua kali tingkat noise.



Misal : noise level =4

Kuantitas minimum yang dapat terdeteksi : 8 microvolts

#### (d) Kisaran Linier

Analisa kuantitatif yang akurat bergantung pada hubungan linier antara konsentrasi dan respon detektor. Dengan mempertimbangkan respon detektor ideal terhadap aliran masa

$$R = K ( dm / dt )$$

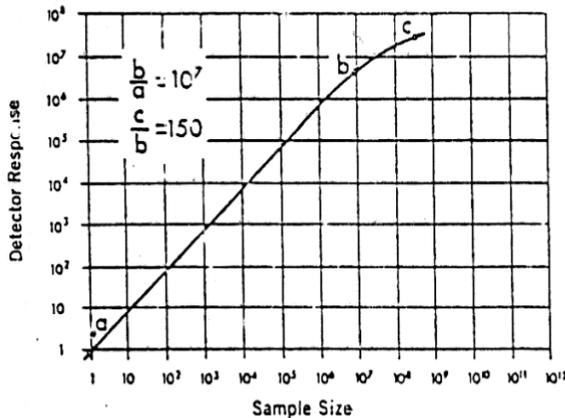
Plotting R terhadap  $dm/dt$  akan memberikan garis lurus dengan kemiringan K

Dalam prakteknya hal ini akan menghasilkan garis lurus yang panjang, untuk mengurangi range maka lebih tepat menggunakan persamaan  $\log R = \log K + \log (dm/dt)$ , yang akan memberikan garis lurus ( $y = a + bx$ )

Linieritas dari detektor dapat digambarkan sebagai kemiringan dari kurva respon detektor yang plotkan pada skala log-log. Detektor ideal akan memiliki kemiringan = 1

FID dalam prakteknya memiliki range 0,95 hingga 0,99

*Linear range* dari detektor digambarkan sebagai perbandingan dari konsentrasi terkecil hingga terbesar didalam mana detektor adalah linier



**Gambar 18.15. Kelinieran detektor FID**

### ***Thermal Conductivity Detector (T.C.D.)***

#### **Prinsip Operasional**

Thermal conductivity detector didasarkan pada prinsip bahwa suatu badan yang panas akan melepaskan panas pada suatu tingkat yang tergantung pada komposisi dari lingkungan sekitarnya. Kebanyakan *thermal conductivity detector* berisi kawat logam yang dipanaskan secara elektrik dan menjulang pada aliran gas. Ketika suatu unsur yang asing diperkenalkan ke dalam , temperatur dari kawat dan karenanya maka resistan kawat akan berubah. Masing-masing unsur mempunyai konduktivitas termal berbeda yang mengijinkan pendeteksiannya di aliran gas. Resistan elektrik adalah secara normal diukur oleh *Wheatstone bridge circuit*.

Sensitivitas Thermal Conductivity Detector dinyatakan dalam persamaan berikut dengan parameter berikut :

$$S = K \cdot I^2 \cdot R \frac{(\lambda_c - \lambda_s)}{\lambda_c} (T_f - T_b)$$

dimana :

<b>S</b>	= sensitivitas
<b>K</b>	= konstanta cell bergantung pada geometri
<b>I</b>	= arus filamen
<b>R</b>	= resistan filamen
<b><math>\lambda_c</math></b>	= konduktivitas termal gas pembawa
<b><math>\lambda_s</math></b>	= konduktivitas termal gas sampel
<b><math>T_f</math></b>	= temperatur filamen
<b><math>T_b</math></b>	= temperatur blok detektor

Untuk meningkatkan sensitivitas detektor T.C.

- (a) Meningkatkan arus filamen
- (b) Menurunkan temperatur blok
- (c) Memilih gas pembawa yang memiliki konduktivitas termal tinggi
- (d) Mengurangi laju aliran (harus konstan)

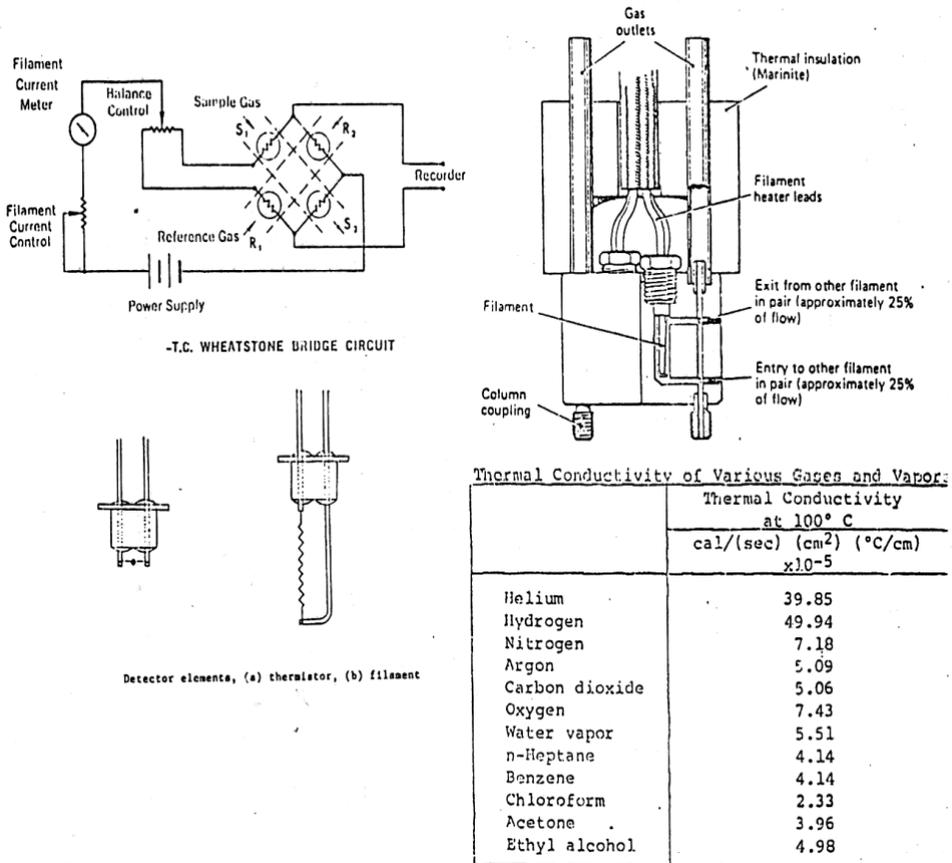
TCD merupakan detektor universal dan tidak mudah rusak

#### **Catatan operasional**

- (a) Gas harus mengalir melewati cell sebelum filamen dinyalakan.
- (b) Filamen bisa korosi ( pergeseran sinyal noise dan dasar )
- (c) Produk mungkin dapat dipasang pendingin pada filamen untuk menyeimbangkan daerah panas
- (d) Hindari HCl, Cl<sub>2</sub>F, alkilhalida organofluorida karena bahan tersebut dapat merusak filamen.
- (e) Sensitif terhadap aliran, aliran gas yang konstan sangat diperlukan
- (f) Udara mungkin masuk ke dalam detektor, maka penyekat perlu dicek

Gambar 18.15 menunjukkan Jembatan *Wheatstone* untuk mengukur perubahan resistan pada *thermister*; filamen pada masukan analit yang dibandingkan ke gas pembawa. Tabel konduktivitas menunjukkan bahwa helium dan hidrogen merupakan gas pembawa terbaik sehubungan dengan konduktivitas termal-nya yang tinggi. Helium biasanya digunakan sebagai hidrogen untuk

alasan keamanan sehubungan dengan mudah terbakarnya gas tersebut.



Gambar 18.16. Jembatan Wheatstone pada GC

### Sensitivitas (Minimum Detectable Quantity)

Batas lebih rendah yang layak ialah  $10^{-7}$  hingga  $10^{-8}$  g. Hal ini mengasumsikan laju aliran kecil, dan puncak lebih awal dan tajam. Ini sensitivitas menengah karena *ionization detectors* akan jauh lebih sensitif. Bahkan dengan ukuran sampel besar, 10 hingga 25  $\mu$ l kita biasa membicarakan” paling baik pada MDQ 50-100 ppm “.

### **Kisaran Linier**

Detektor TCD memiliki linear range sekitar  $10^{-4}$ . Ini merupakan range terbatas, tetapi sangat berguna pada konsentrasi yang jauh lebih tinggi dibandingkan FID.

### **Selektivitas**

Detektor TCD adalah universal, memberi respon terhadap semua senyawa kecuali gas pembawa itu sendiri. Digunakan secara luas untuk gas-gas ringan dan yang telah ditetapkan. Karena detektor FID tidak menghasilkan sinyal dengan sampel-sampel tersebut, maka juga digunakan untuk analisa air dan senyawa anorganik.

### **Persyaratan**

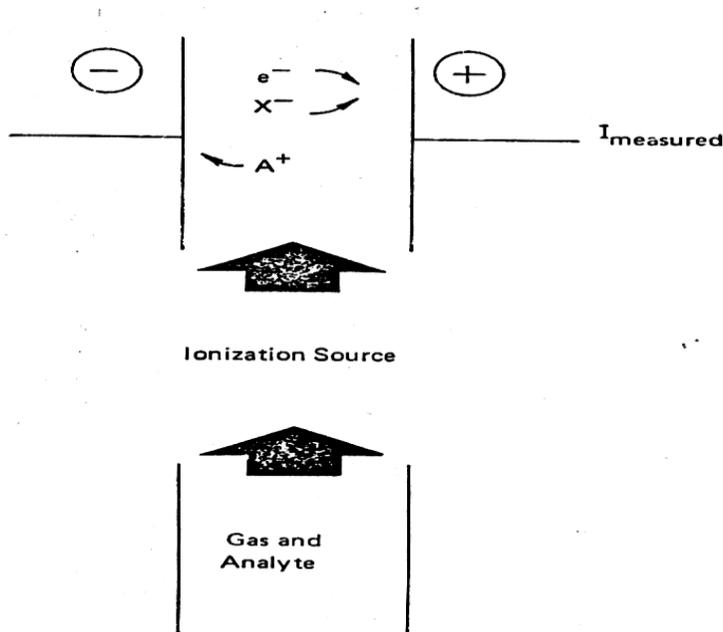
Detektor TCD memerlukan pengatur temperatur yang baik, pengatur aliran yang baik, gas pembawa murni dan power supply yang teratur.

### **Detektor Ionisasi**

Sejumlah besar detektor dalam kromatografi gas diklasifikasikan sebagai *Ionization Detectors*. Dalam *ionization detectors*, konduktivitas elektrik dari gas diukur pada kehadiran komponen analit. Konduktivitas elektrik dapat meningkat sebagai hasil dari analit yang terionisasi dalam aliran gas atau menurun sebagai hasil dari analit yang menyerap elektron dari gas yang terionisasi. Sumber ionisasi ditentukan dari jenis *ionization detector* yang termasuk di dalamnya adalah :

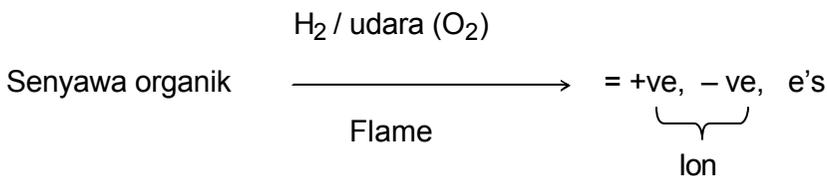
- (a) Flame Ionization Detector (F.I.D.)
- (b) Electron Capture Detector (E.C.D.)
- (d) Thermionic Specific Detector N, P specific (T.S.D.)
- (e) Photo Ionization Detector (P.I.D.)

Konduktivitas elektrik diukur dengan cara monitoring arus antara celah elektroda sebagai hasil dari partikel bermuatan (ion positif, ion negatif, elektron) yang dihasilkan oleh sumber ionisasi.



### Flame Ionization Detector (F.I.D.)

Pada F.I.D, sumber ionisasi adalah pembakaran biasanya berasal dari hidrogen dan udara atau oksigen. Untuk sensitivitas maksimum kondisi pembakaran memerlukan optimisasi. Untuk menentukan volume gas yang tidak tertahan (waktu gas yang tertahan mis: puncak udara) digunakan *methane* selama detektor tidak sensitif terhadap udara. FID ini sempurna dan mungkin merupakan detektor yang paling banyak digunakan. Bersifat sensitif dan digunakan secara ekstensif dengan kolom kapiler.

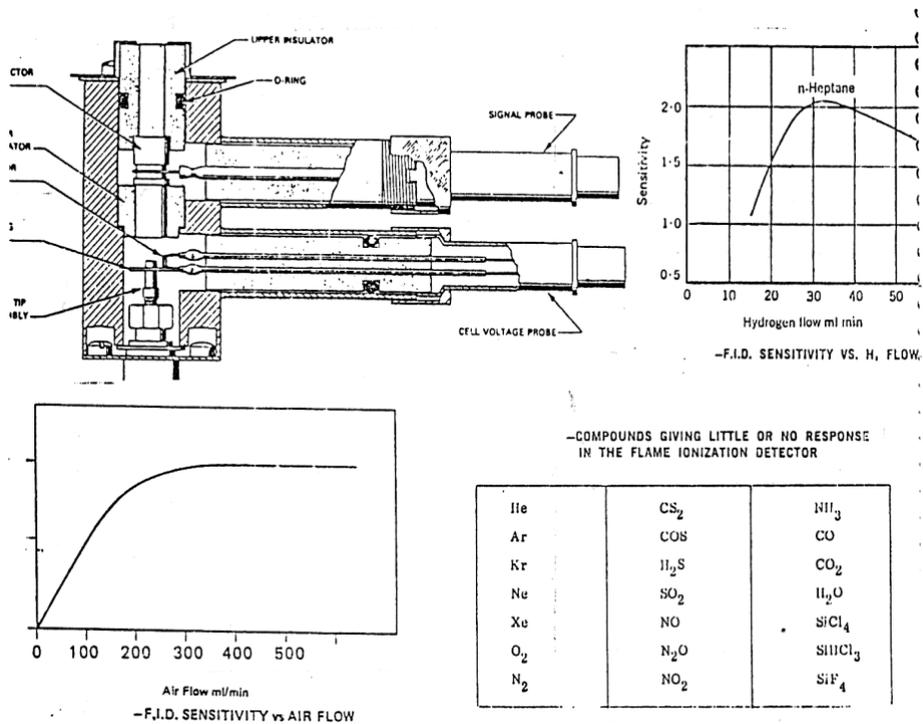


## Sensitivitas (Minimum Detectable Quantity)

Beberapa perusahaan pembuat menunjukkan kromatogram dari  $10^{-10}$ , bahkan  $10^{-11}$  g untuk hidrokarbon sederhana. Ini merupakan detektor yang sangat sensitif untuk senyawa organik, tetapi quantitas minimal yang dapat terdeteksi dari beberapa sampel sebenarnya pada temperatur tinggi mungkin mendekati  $10^{-9}$  g.

## Kisaran Linier

*Linear Dynamic range*  $10^6$  dan  $10^7$  sering menjadi keluhan. Dalam beberapa kasus parameter detektor yang dioptimalkan sensitivitasnya (laju aliran hidrogen, laju aliran udara, diameter jet, dll) tidaklah optimal untuk sampel berukuran besar. *Linear range* akan bergantung pada sampel; kita jarang menemukan *linear range* lebih besar dari  $10^4$  untuk steroids atau beberapa obat-obatan. Ini merupakan fungsi dari zat pencemar sampel, adsorpsi kolom seperti halnya karakteristik detektor.



Gambar 18.17. Detektor FID

## Selektivitas

FID akan memberi respon hanya terhadap senyawa organik, tidak pada udara atau air atau gas ringan yang telah ditetapkan. Pada senyawa-senyawa organik, selektivitas sangat kecil.

## Persyaratan Operasional

FID memerlukan tiga persediaan gas bersih, hidrogen, udara dan gas pembawa. Harus ada elektrometer untuk menguatkan sinyal yang sangat kecil yang dihasilkan dari pembakaran. Harus dipanaskan untuk menghindari kondensasi air atau fase cair dari kolom

## Electron Capture Detector (E.C.D.)

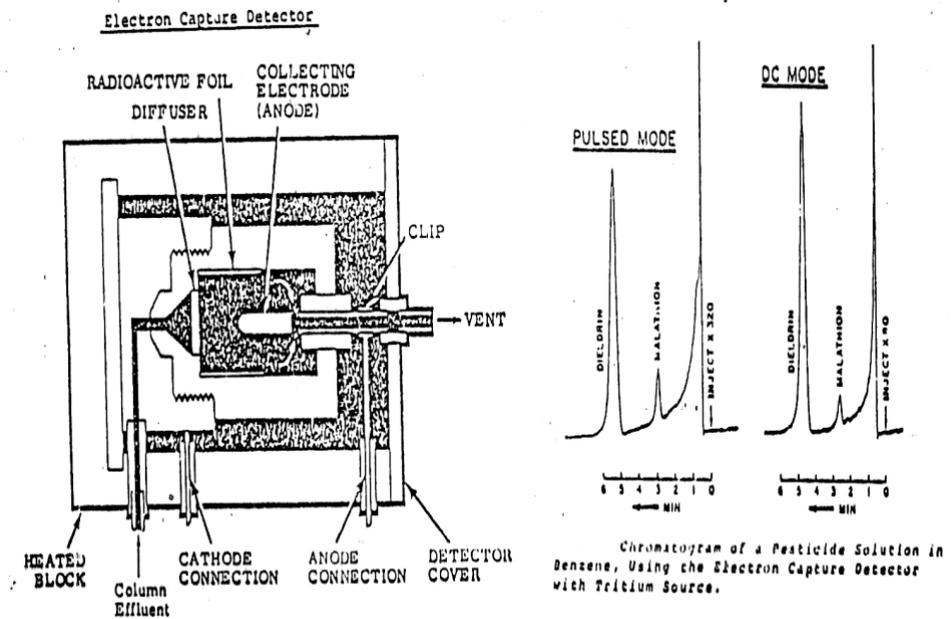
*Electron capture detector* beroperasi pada prinsip *electrons attachments* oleh molekul analit. Nitrogen sebagai gas pembawa mengalir melalui detektor dan terionisasi oleh sumber elektron biasanya tritium yang teradsorpsi pada Titanium atau Scandium ( $TiH^3$ ,  $ScH^3$ ) atau Nickel 63 ( $Ni^{63}$ ). Nitrogen terionisasi akan membentuk arus antar elektroda-elektroda.



Analit tertentu masuk ke detektor akan bereaksi dengan elektron-elektron untuk membentuk ion negatif.



Pada saat ini terjadi, arus akan berkurang sebagai respon negatif. Detektor akan sangat sensitif terhadap molekul yang mengandung atom-atom elektronegatif. ( N, O, S, F, Cl)



Gambar 18.18. Detektor ECD

Detektor dapat dioperasikan dalam D.C. maupun *mode pulsa* dengan 1 us 50v. Mode pulsa terjadi pengumpulan elektron-elektron yang bergerak bukan ion negatif yang lebih lambat dan lebih berat, untuk menghasilkan sensitifitas yang lebih besar.

*Electron capture detector* sangat sensitif terhadap molekul tertentu, yaitu :

- (a) Alkil halida
- (b) Conjugated carboxyl
- (c) Nitrit
- (d) Nitrat
- (e) Organometals

Tetapi tidak sensitif terhadap :

- (a) Hydrocarbons
- (b) Akcohols
- (c) Ketones

Sebagai akibat dari sensitivitasnya terhadap alkil halida, ECD ini telah digunakan secara ekstensif dalam analisa pestisida dan obat-obatan dimana alkil halida telah didegradasi. Pestisida tertentu telah terdeteksi pada *sub picogram level*. Karena tingginya sensitivitas, ECD ini telah digunakan secara ekstensif pada kolom kapiler.

### **Sensitivitas**

Bergantung pada jumlah, jenis dan posisi kehadiran atom elektronegatif, ECD dapat mendeteksi  $10^{-9}$  hingga  $10^{-12}$  g. Untuk beberapa pestisida ini merupakan detector yang sangat sensitif.

ECD memiliki *linear range*  $10^2$  hingga  $10^3$ . Hal ini memerlukan penggunaan kurva kalibrasi, sering dibersihkan dan teknik analisa yang baik jika mengharapkan hasil kuantitatif.

### **Selektivitas**

ECD sangat selektif. Hampir semua senyawa organik tidak merespon, dan responnya yang tinggi terhadap senyawa terpilih (pestisida) membuat ECD menjadi detektor sempurna untuk *trace analysis*.

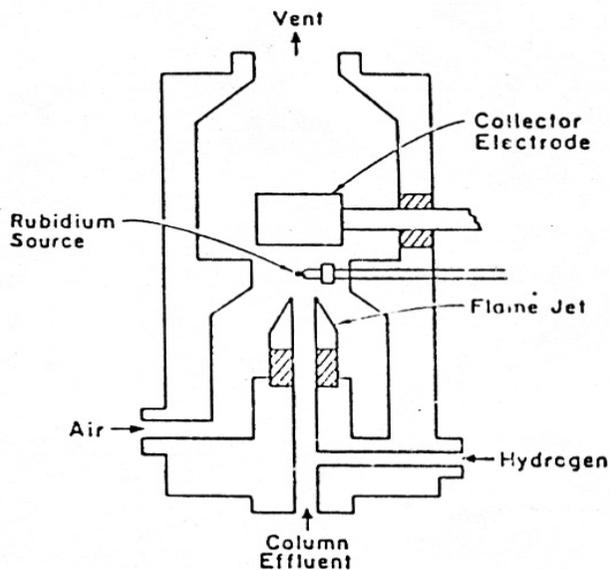
### **Persyaratan**

Sumber-sumber radioaktif digunakan (kecuali Beckman) untuk mengawali respon ionisasi. Hal ini memerlukan ijin AEC di USA dan tindakan pencegahan khusus pada saat membersihkan atau mengganti detektor. Gas pembawa yang sangat bersih sangat dibutuhkan dan dalam model plat paralel gas pembawa khusus dan *pulsed power supply* sangat dianjurkan. Kalibrasi yang ekstensif dan kontinyu (terus-menerus) perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil kuantitatif

### **Thermionic Specific Detector untuk Nitrogen dan Phosphorus**

Dengan mengoperasikan *flame ionization detector* pada temperatur lebih rendah dan memasukkan atom-atom logam alkali

ke dalam *resulting plasma*, maka detektor dapat dibuat selektif terhadap nitrogen dan phosphorus.



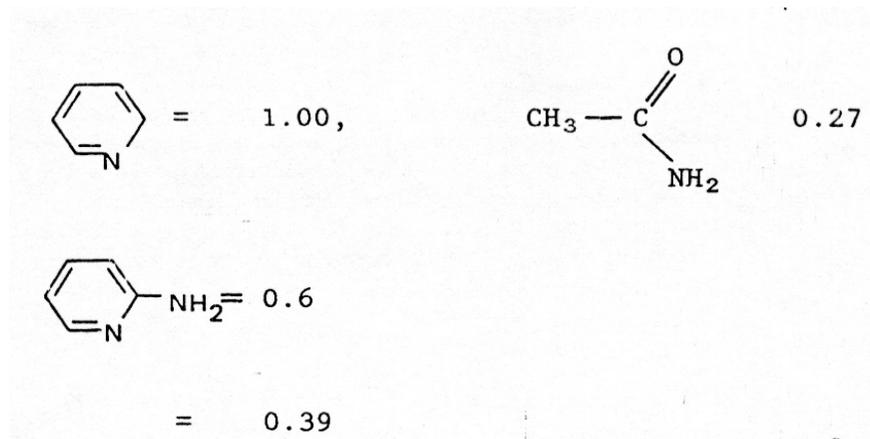
Gambar 18.19. Detektor TSD

Versi modern dari detektor, *Thermionic Spesific Detector* untuk Nitrogen dan fosfor menggunakan ujung keramik yang dipanaskan secara elektrik yang terdiri dari logam alkali-Rubidium yang dioperasikan dalam lingkungan hidrogen-udara. Sebuah potensial dipasang pada sistem dan menghasilkan arus yang sebanding dengan konsentrasi nitrogen atau fosfor yang ada. Mekanisme yang pasti pada operasional ini masih belum jelas. *Thermionic Spesific Detector* digunakan secara ekstensif dalam analisa obat-obatan dan pestisida.

Walaupun mekanisme masih belum jelas. Data menunjukkan hal tersebut berikut mengenai operasionalnya :

- (a) Tidak adanya karbon dalam molekul yang mengandung nitrogen akan sangat mengurangi respon

- (b) Dalam bahan yang mengandung nitrogen organik, respon lebih rendah sebagai perbandingan karbon – nitrogen mendekati satu.
- (c) Adanya oksigen dalam gugus fungsional nitrogen akan mengurangi respon

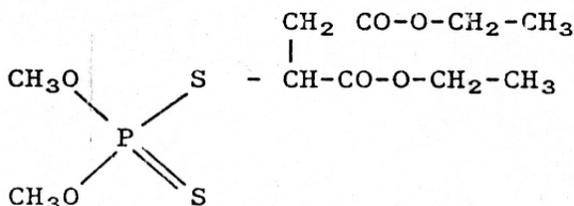


- (d) Dibandingkan dengan Flame Ionization Detector, T.S.D. 50 kali lebih sensitif untuk senyawa nitrogen 500 kali lebih sensitif untuk phosphorus. Dibandingkan dengan Flame Photometric Detector, T.S.D. kira-kira 100 kali lebih sensitif.

### Linear Range

$10^5$  for azobenzene c1ccc(cc1)/N=N/c2ccccc2

$10^4$  for malathion

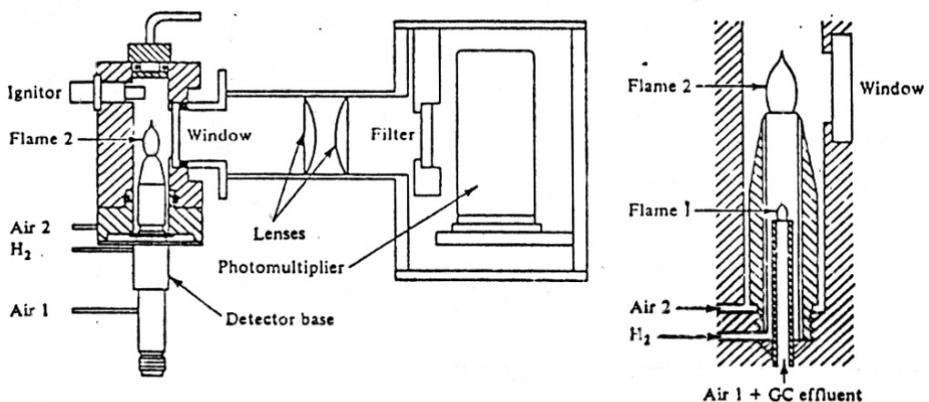


Detektor PID mempunyai linear range  $10^7$  berkembang dari 2 pg sampai 30 ug.

## Flame Photometric Detector

Flame Photometric Detector dapat melakukan pengukuran yang sensitif dan selektif terhadap senyawa yang mengandung sulphur atau phosphorus. Jenis  $S_2^*$  dan jenis  $HPO^*$  yang dibentuk dalam pengurangan karakteristik bakar *Chemiluminescence emission*, bisa di ukur dari jenis ini, dengan *photomultiplier tube*. Filter optik dapat diganti dalam detektor untuk memperlihatkan cahaya 394 nm yang dihasilkan dari sulphur atau 526 nm untuk cahaya dari phosphorus.

Kolom effluen dicampur dengan oksigen dan dimasukkan dalam kelebihan hidrogen. (dalam beberapa desain, digunakan udara sebagai pengganti oksigena<sub>0</sub> yang mana memerlukan optimisasi.



Gambar 18.20. Flame Photometric Detector

Walaupun F.P.D. utamanya digunakan untuk P dan S, telah ditunjukkan bahwa dengan mengganti kondisi pembakaran, F.P.D. dapat memberi respon terhadap nitrogen, halogen, boron, chromium, solenium, tellurium, dan germanium.

Respon terhadap phosphorus telah ditemukan linier diatas dynamin range  $10^3$ .

Respon terhadap sulphur telah ditemukan menjadi fungsi yang kompleks dari jenis

$$I_{S_2} = A [S]^n$$

**dimana** :  $I_{S_2}$  adalah respon spontan (instan)

$[S]$  = konsentrasi senyawa belerang yang masuk ke detektor

**A dan n adalah konstan, harga n 1,5 hingga 2 tergantung pada senyawa.**

Nilai n dapat ditentukan dengan mengekstrapolasikan pada grafik hubungan Log (respon) vs log (masa belerang yang diinjeksikan). Dimana kemiringan sama dengan n.

#### **Quenching dapat terjadi**

Pengurangan respon terhadap belerang dapat terjadi bila komponen organik senyawa yang mengandung non-sulphur ikut larut bersama belerang. Pengaruh yang tidak dapat diperkirakan ini bermacam-macam baik level belerang maupun *quenching agent*. Response terhadap belerang dapat benar-benar tertekan. F.P.D sangat baik untuk *trace* gas belerang, pestisida dan sampel petroleum. Telah ditunjukkan potensi yang lebih besar dengan GC kapiler dimana komponen-komponen terpisah secara efektif dan detektor memiliki volume mati yang rendah.

### **18.4.9. ANALISIS DENGAN KROMATOGRAFI GAS**

#### **Analisis Kualitatif**

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang dapat menghasilkan identifikasi kualitatif. Bagaimanapun juga seorang analis harus dapat memastikan bahwa hasil yang diperoleh adalah benar seperti yang ditunjukkan oleh contoh di bawah.

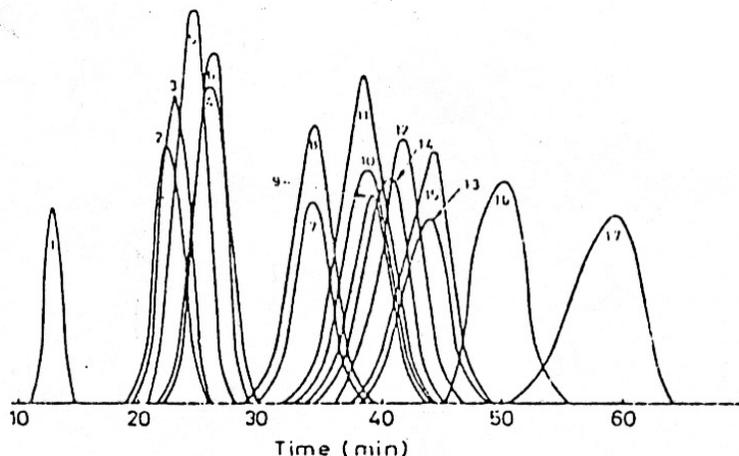


Figure 2. A composite chromatogram: peaks for hexenes in di-n-decylphthalate at 20°C. The numbers within the peaks correspond to the numbers in Table 8.2 (From SULLIVAN, E. J., LOIZ, J. R., and WILLINGHAM, C. H.<sup>7</sup> by courtesy of the American Chemical Society)

RETENTION VOLUMES OF HEXENES AND HEXANES RELATIVE TO N-PENTANE ON COLUMNS CONTAINING DI-N-DECYLPHTHALATE AT 20°C

Substance	Boiling point (°C)	Relative retention
(1) 3,3-dimethyl-1-butene	41.2	1.20
(2) 4-methyl-1-pentene	53.9	2.05
(3) 3-methyl-1-pentene	54.1	2.10
(4) 2,3-dimethyl-1-butene	55.7	2.40
(5) 4-methyl- <i>cis</i> -2-pentene	56.3	2.25
(6) 4-methyl- <i>trans</i> -2-pentene	58.6	2.40
(7) 2-methyl-1-pentene	60.7	3.10
(8) 1-hexene	63.5	3.20
(9) 2-ethyl-1-butene	64.7	3.60
(10) <i>cis</i> -3-hexene	66.4	3.50
(11) <i>trans</i> -3-hexene	67.1	3.50
(12) 2-methyl-2-pentene	67.3	3.85
(13) 3-methyl- <i>trans</i> -2-pentene	67.6	4.00
(14) <i>trans</i> -2-hexene	67.9	3.70
(15) <i>cis</i> -2-hexene	68.8	4.10
(16) 3-methyl- <i>cis</i> -2-pentene	70.5	4.55
(17) 2,3-dimethyl-2-butene	73.2	5.40
2,2-dimethylbutane	49.7	1.45
2,3-dimethylbutane	58.0	2.10
2-methylpentane	60.3	2.15
3-methylpentane	63.3	2.60
n-hexane	68.7	3.10

Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis karena retensi bersifat karakteristik pada tiap senyawa. Identifikasi puncak dapat diperoleh dengan menggunakan inframerah atau spektrometri massa akan tetapi teknik sering tidak ada atau biaya sangat mahal.

Sampel yang paling sulit dianalisis adalah sampel yang komponen-komponennya benar-benar tidak diketahui. Dalam hal ini konsultasi data retensi terkadang tidaklah cukup.

### **Penambahan Unsur ke dalam Sampel (Spiking)**

Metode percobaan yang paling mudah untuk identifikasi puncak adalah dengan menambahkan komponen ke dalam sampel dan mencoba untuk mengamati perubahan sebagai respon didalam *spiked* sampel.

- (a) Metode mudah
- (b) tidak mudah jika komponen yang lain mungkin memiliki waktu retensi yang sama.
- (c) Dapat digunakan untuk menunjukkan ketidakhadiran dari suatu unsur dengan menampakkannya pada waktu retensi yang benar-benar berbeda.
- (d) Kemurnian *spike* harus diketahui karena ketidakmurnian dapat memberikan petunjuk yang salah.

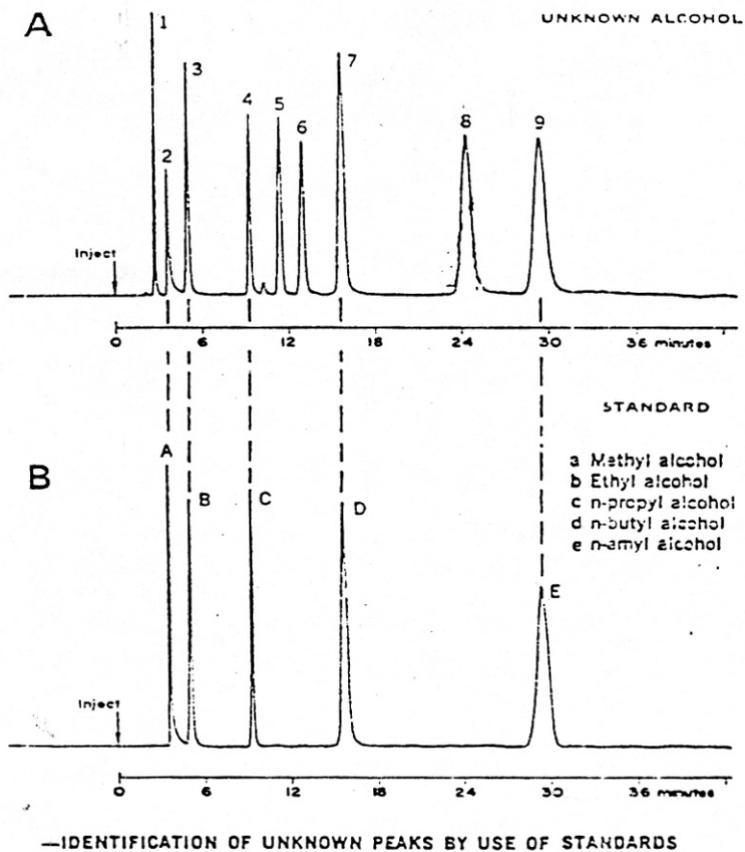
### **Perbandingan Data Retensi**

Volume retensi suatu komponen adalah karakteristik sampel dan fase cair. Ini dapat digunakan untuk identifikasi komponen-komponen dalam sampel. Data retensi yang belum terkoreksi biasanya tidak digunakan mengingat volume retensi tergantung pada :

- (a) Kolom
- (b) Fase cair
- (c) Temperatur kolom

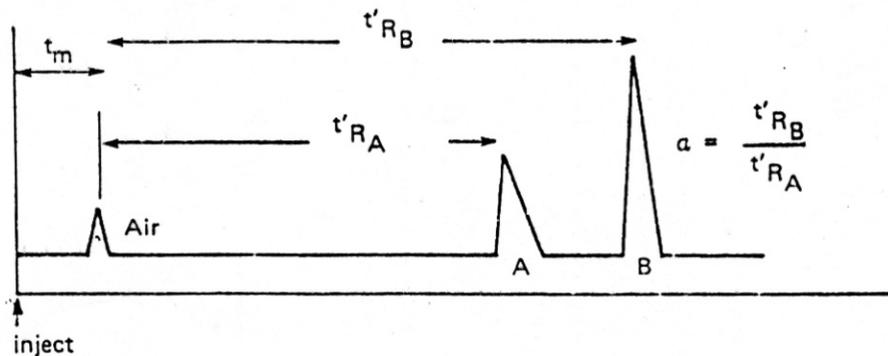
- (d) Kecepatan aliran
- (e) Jenis gas pembawa
- (f) Volume mati instrumen
- (g) Penurunan tekanan *across* kolom

Akan tetapi hal itu dapat digunakan pada sampel yang sudah diketahui informasinya dan tersedia standarisasinya. Kemampuan instrumen dalam menghasilkan data di perlukan dalam operasional isothermal maupun terprogram. Jika semua parameter operasional dapat konstan berulang-ulang maka perbandingan data retensi sampel dapat dibuat terhadap standar.



Gambar 18.19. Perbandingan kromatogram larutan standar (B) dengan larutan sampel (A)

Retensi Relatif  $\alpha$  sebagai Data Retensi yang direkomendasikan untuk Identifikasi sampel yang tidak diketahui. Retensi relatif  $\alpha$  adalah yang direkomendasikan untuk indentifikasi puncak sebagai sesuatu yang relatif terhadap standar dan juga diperoleh dari data retensi yang disesuaikan. Ini lebih mudah diperoleh dan hanya bergantung pada jenis fase cair dan temperatur kolom.



### Identifikasi dengan Logaritma Retensi

Mengambarkan grafik dari data retensi relatif atau yang disesuaikan terhadap berbagai parameter fisik senyawa atau serangkaian homologi dapat memberikan petunjuk dari identitas sampel yang belum diketahui.

### Identifikasi dengan Menggunakan Retention Index

Konstanta bahan terlarut Kovats Indices dan Rohschneider dapat memberikan petunjuk yang baik mengenai identitas atau jumlah karbon untuk beberapa senyawa. Data ini tersedia dalam Jurnal Kromatografi dan publikasi ASTM. Metode pergeseran puncak juga merupakan alat yang baik untuk identifikasi kualitatif.

## Identifikasi dengan Menggunakan Dua Detektor

Perbandingan rasio respon dari senyawa yang dianalisa oleh dua detektor yang berbeda dibawah kondisi yang telah ditetapkan bersifat karakteristik pada senyawa tersebut.

Sampel biasanya dikromatografikan pada satu kolom dan kolom dibagi untuk dua detektor yang berbeda dengan yang masing-masing di rekam ke kromatogram secara bersamaan.

Kedua detektor tersebut spesifik seperti detektor "*flame photometric detector* (FPD)" akan memberi respon pada senyawa-senyawa sulfur dan phosporus, detektor "*electron captive detector* (ECD)" akan memberi respon pada senyawa-senyawa halogen, sementara thermionic spesifik detector (TSD) akan memberi respon pada senyawa-senyawa nitrogen dan phosphorus. Detektor-detektor tersebut diterapkan secara luas dalam analisa obat-obatan dan pestisida.

Pendekatan ini umumnya direkomendasikan untuk deteksi senyawa spesifik dibandingkan *general qualitative* digunakan sebagai kromatogram yang sulit untuk diinterpretasikan.

Identifikasi dengan Penggabungan dengan Metode penentuan Fisik lainnya

Pada saat fraksi dari senyawa yang dielus telah dikumpulkan ini memungkinkan untuk diidentifikasi oleh teknik fisik lainnya. Teknik ini termasuk :

- (a) Mass Spectrometry – Berhubungan langsung dengan kolom kapiler
- (b) Infra red spectrometry – langsung ke dalam *cell* sampel gas atau cair
- (c) Nuclear Magnetic Resonance
- (d) Coulometry
- (e) Polarography
- (f) UV Visible Spectroscopy

- (g) Atomic absorption
- (h) Inductively coupled plasma
- (i) Flamephotometry

### Uji Kimia

Effluen gas dapat bergelembung pada saat meewati tabung yang berisi reagen-reagen dan rekasi dapat teramati untuk memberikan petunjuk untuk mengidentifikasi senyawa seperti yang ditunjukkan pada tabel di bawah ini. Metode ini mahal dan diterapkan dengan cepat.

### GAS CHROMATOGRAPHY

#### FUNCTIONAL GROUP CLASSIFICATION TESTS

<i>Compound type</i>	<i>Reagent</i>	<i>Type of positive test</i>	<i>Minimum detectable amount (µg)</i>	<i>Compounds tested</i>
alcohols	$K_2Cr_2O_7-HNO_3$ ceric nitrate	blue colour amber colour	20 100	$C_1-C_8$ $C_1-C_8$
aldehydes	2,4-DNP Schiff's	yellow ppt. pink colour	20 50	$C_1-C_6$ $C_1-C_6$
ketones	2,4-DNP	yellow ppt.	20	$C_3-C_8$ (methyl ketones)
esters	ferric hydroxamate	red colour	40	$C_1-C_5$ acetates
mercaptans	sodium nitroprusside isatin $Pb(OAc)_2$	red colour green colour yellow ppt.	50 100 100	$C_1-C_9$ $C_1-C_8$ $C_1-C_9$
sulfides	sodium nitroprusside	red colour	50	$C_7-C_{12}$
disulfides	sodium nitroprusside isatin	red colour green colour	50 100	$C_2-C_6$ $C_2-C_6$
amines	Hinsberg sodium nitroprusside	orange colour red colour. 1 <sup>o</sup> blue colour. 2 <sup>o</sup>	100 50	$C_1-C_4$ $C_1-C_4$ diethyl and diamyl
nitriles	ferric hydroxamate- propylene glycol	red colour	40	$C_2-C_3$
aromatics	$HCHO-H_2SO_4$	red-wine colour	20	$\phi H-\phi C_4$
aliphatic un- saturation	$HCHO-H_2SO_4$	red-wine colour	40	$C_2-C_8$
alkyl halide	Alc. $AgNO_3$	white ppt.	20	$C_1-C_5$

#### 18.4.10. Analisa Kuantitatif

##### Hubungan Dasar

Dengan kromatogram yang diperoleh dari detektor diferensial yang mana memiliki respon linier, penggantian/jarak dari garis belakang pada saat tertentu adalah suatu ukuran konsentrasi dari komponen dari gas pembawa di saluran keluar kolom.

Kurva integral dihasilkan yakni area puncak dari puncak adalah sebanding dengan jumlah komponen yang ada. Dalam kromatogram yang ideal dimana puncak merupakan kurva Gaussian simetrik lalu ketinggian puncak akan sebanding dengan

Area puncak adalah konsentrasi komponen bila Gaussian maka area akan ke tinggi puncak.

##### Kalibrasi

Oleh karena itu kalibrasi dapat dicapai dengan menjalankan satu rangkaian standar yang diketahui konsentrasinya dan membandingkan respon area yang dihasilkan antara standar dan sampel.

Sejumlah metode lainnya digunakan oleh para peneliti dalam menghitung kuantitas komponen dalam sampel. Hal ini termasuk -

##### Normalisasi Internal

Area dari setiap puncak sesuai dengan komponen spesifik dalam sampel telah terbentuk kemudian ditambahkan untuk memberi suatu total area yang ditetapkan pada 100%. Masing-masing area komponen kemudian dinyatakan sebagai persen dari nilai ini.

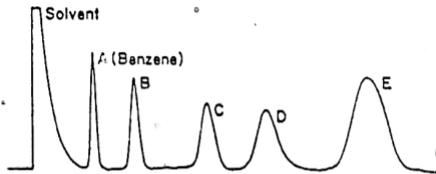
$$\% A = \frac{\text{Area A}}{\text{Total Area}} \times 100 \%$$

Akan tetapi senyawa-senyawa yang berbeda akan memberikan respon berbeda terhadap detektor, oleh karena itu perlu ditentukan faktor koreksi. Karena detektor yang berbeda akan beroperasi pada

prinsip yang berbeda maka perlu dihitung faktor yang berbeda untuk tiap detektor yang berbeda.

$$\% A = \frac{\text{Area } A / F_A}{\sum \text{Area} / \text{Faktor}} \times 100$$

Faktor dapat ditentukan berdasarkan berat atau molar.



—CALCULATION OF FID RESPONSE FACTORS

The ratio  $A/W$  is calculated for each peak. The correction factor "F" is calculated by dividing the  $A/W$  of each peak by the benzene  $A/W$ . These factors are relative to benzene, i.e., the benzene factor is arbitrarily set equal to 1.00.

—PROCEDURE FOR CALCULATION OF FID FACTORS

Peaks	Wt. Injected %	A Area cm <sup>2</sup>	A/W	F Correction Factors
a (benzene)	.435	4.0	9.19	1.00
b	.553	6.5	9.95	1.08
c	.664	7.6	8.79	.96
d	.664	6.1	9.38	1.02
e	1.760	15.0	6.52	.93

Under the same detector conditions, these factors can be used time and time again to calculate the weight percent of "b", "c", "d", and "e" relative to "a" (benzene).

From these results the weight of an unknown "b" can be calculated:

$$W_b = \frac{W_a \cdot A_b}{F_b \cdot A_a}$$

where:

$W_b$  = weight of component b

$W_a$  = weight of standard a

$A_a$  = measured area of standard a

$A_b$  = measured area of component b

$F_b$  = correction factor of compound "b" relative to compound "a" at equal weights.

The response of a FID is independent of temperature, carrier gas, and flow rate. This makes it well suited, possibly the best detector, for quantitative analysis.

An excellent reference for response factors for both flame ionization and thermal conductivity detectors is the article by Dietz (1).

—FID RELATIVE SENSITIVITIES (1)

COMPOUND	RELATIVE SENSITIVITY	COMPOUND	RELATIVE SENSITIVITY
<u>Normal Paraffins</u>		<u>Aldehydes (cont.)</u>	
Methane	0.97	Octaldehyde	0.78
Ethane	0.97	Capric aldehyde	0.80
Propane	0.95	<u>Aromatics</u>	
Butane	1.09	Benzene	1.12
Pentane	1.04	Toluene	1.07
Hexane	1.03	Ethylbenzene	1.03
Heptane	1.00	para-Xylene	1.00
Octane	0.97	meta-Xylene	1.04
Nonane	0.95	ortho-Xylene	1.02
<u>Aldehydes</u>		1M2-Ethylbenzene	1.02
Butyraldehyde	0.62	1M3-Ethylbenzene	1.01
Heptanoic aldehyde	0.77	1M4-Ethylbenzene	1.00
		1,2,3-Tri-	
		methylbenzene	0.98

## 18.5. KROMATOGRAFI CAIR (LIQUID CHROMATOGRAPHY)

### 18.5.1. Model Kerja.

Terdapat dua model operasional yang didasarkan pada polaritas relatif dari fase diam dan fase bergerak.

a. Normal phase Chromatography :

Fase diam bersifat polar kuat dan fase gerak bersifat non-polar

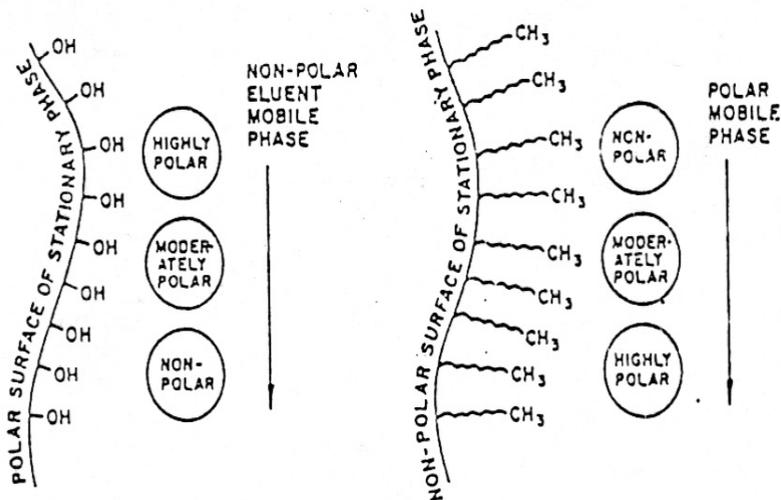
Misalnya : Silika = fase diam , n-hexane = fase gerak

b. Reversed phase Chromatography:

Fase diam bersifat non-polar dan fase gerak bersifat polar.

Misal : Hydrocarbon = fase diam, air = fase gerak

Gambar 18.21. menggambarkan kedua teknik tersebut menunjukkan elusi komponen sampel dengan polaritas berbeda.



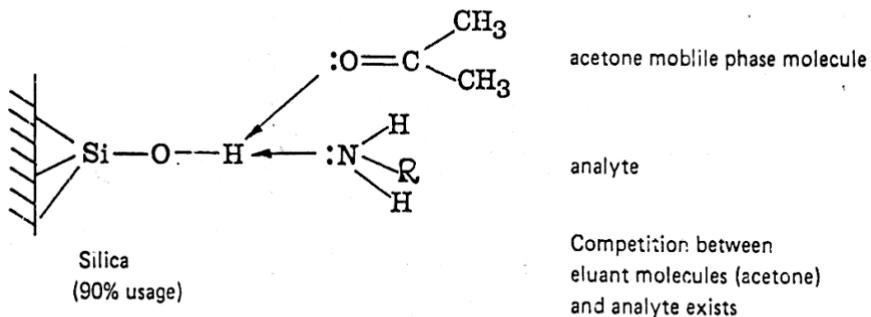
Gambar 18.21. Ilustrasi kromatografi cair yang normal dan "reversed phase".

Fase gerak dapat dipompakan ke dalam kolom dengan tiga cara :

- 1 Isokratik : aliran tetap (konstan) dan ketetapan komposisi dari fase gerak tetap berlaku.
- 2 Gradient Elution : aliran konstan dan perubahan komposisi dari fase gerak terjadi.
- 3 Flow Program : aliran bervariasi dan ketetapan komposisi dari fase gerak terjadi.

## 18.5.2. Kromatografi Padat Cair (Adsorpsi) (Liquid Solid Chromatography)

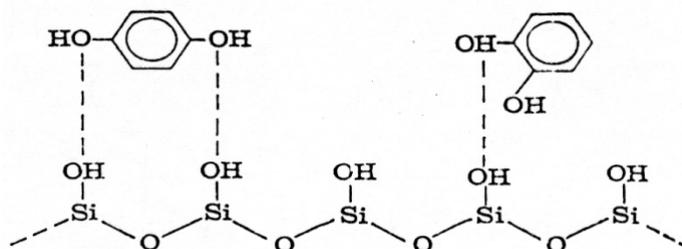
Fase diam adalah adsorben dan pemisahan didasarkan pada adsorpsi berulang dan desorpsi bahan terlarut (analit). Bahan terlarut ditambahkan ke sistem padat (misal silika) cair (misal aseton).



### Skala Polaritas Jenis-jenis Senyawa

(didasarkan pada kenaikan retensi)

- Fluorocarbon
- Hidrokarbon jenuh (saturated hydrocarbon)
- Olefins
- Aromatik
- Senyawa halogen
- Eter
- Senyawa nitro
- Ester = keton = aldehid
- Alkohol = amina
- Amida
- Asam karbositat (Carboxylic Acids)



Keseimbangan  $A_m + nE_{ads} \rightleftharpoons A_{ads} + nE_m$       A = analit

E = eluan

$$k_{ads} = \frac{[A_{ads}][E_m]^n}{[A_m][E_{ads}]^n}$$

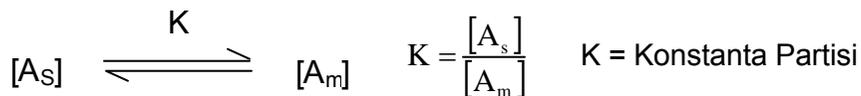
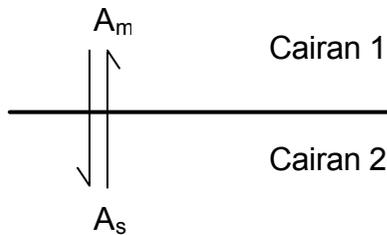
m = fase gerak

ads = adsorbed

### 18.5.3. Kromatografi Cair Cair (Liquid Liquid Chromatography)

Fase diam merupakan cairan (lebih baru-baru ini *bonded phase*) yang dilapiskan pada patana inert (bahan pendukung).

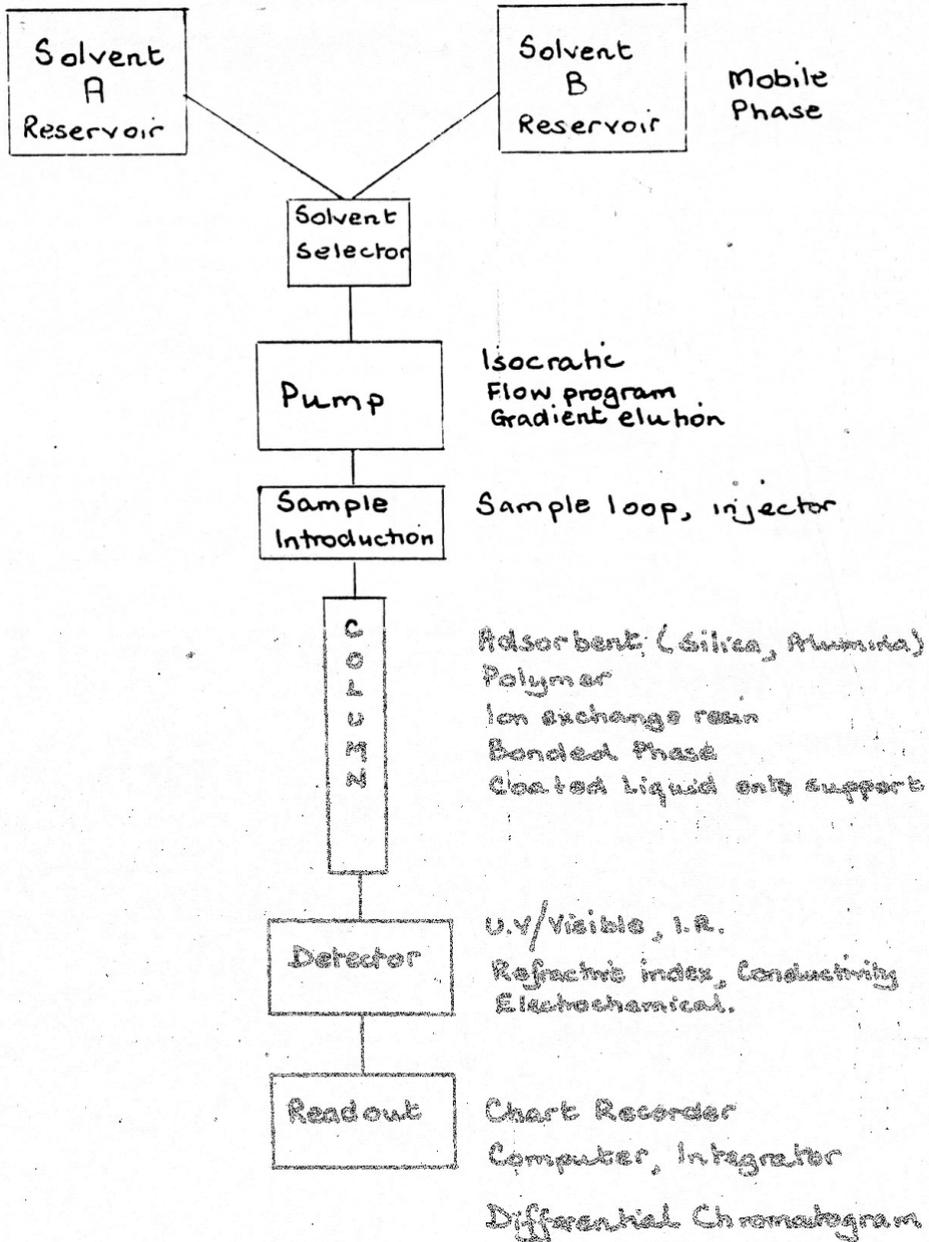
Bahan terlarut ditambahkan ke dalam sistem yang mengandung dua pelarut yang tidak dapat dicampur dan memenuhi keseimbangan



Konstanta Partisi dihubungkan pada rasio partisi  $k'$  via volume tiap fase oleh persamaan

$$k' = K \frac{V_s}{V_m} \quad V = \text{Volume}$$

# High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)

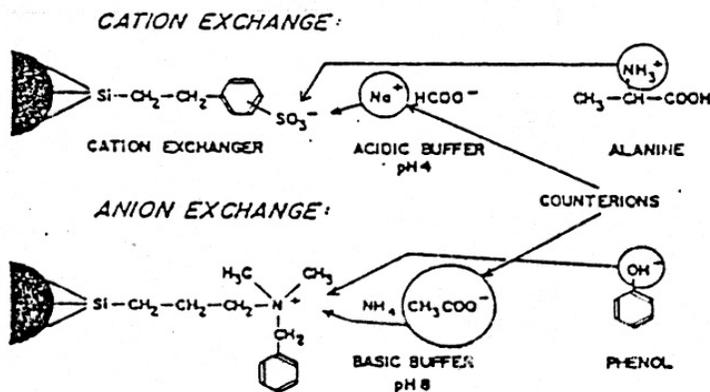


### 18.5.4. Kromatografi Penukar Ion (Ion Exchange Chromatography)

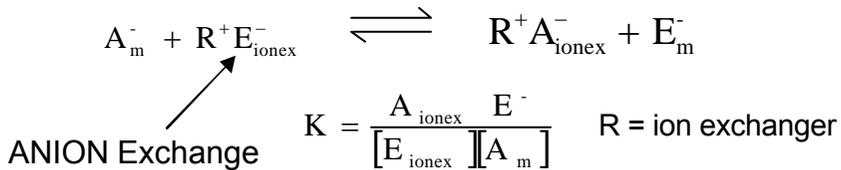
Fase diam berupa penukar kation maupun anion yang terdiri atas gel silika atau polimer dengan berat molekul tinggi dimana merupakan gugus ionik berikatan kimia,

Bahan terlarut (bersifat ionik) ditambahkan pada sistem pertukaran kation atau anion dengan polar eluan (misal air).

Mekanisme pemisahan berdasarkan pada daya tarik elektrostatis.



Structure of characteristic ion-exchange packings and the ion-exchange mechanism.

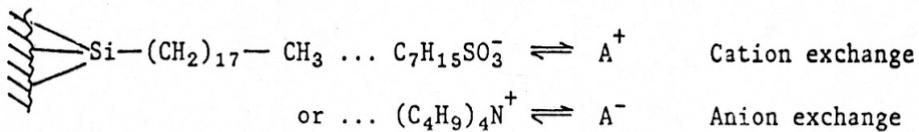


### 18.5.5. Kromatografi Pasangan Ion (Ion Pair Chromatography)

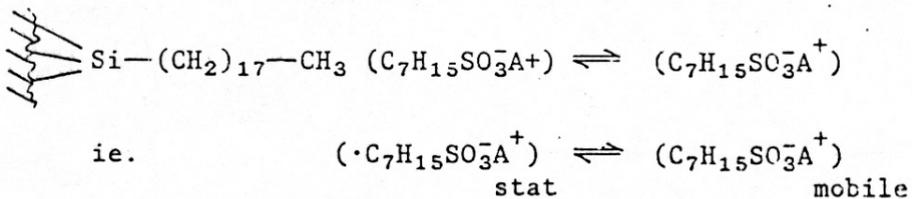
Dalam Ion Pair Chromatography dipilih sistem normal atau reversed phase dan *counter ion* ditambahkan pada eluan. Dalam kebanyakan kasus sistem reversed phase lebih disukai. Ion Pair Chromatography telah digunakan untuk memisahkan sampel yang mengandung komponen ionik maupun non-ionik.

Saat ini terdapat dua kontroversi mengenai mekanisme pemisahan dan ada dua kubu kontroversi mendera satu mekanisme berikut:

- a. Bagian akhir *counter-ion* lipophilic diadsorbpsi ke fase diam dan pertukaran ion terjadi dalam cara normal (lihat atas)



- b. Analit dikombinasikan dengan *counter ion* dan mengambil bagian dalam kromatografi sebagai pasangan ion



### Size Exclusion Chromatography

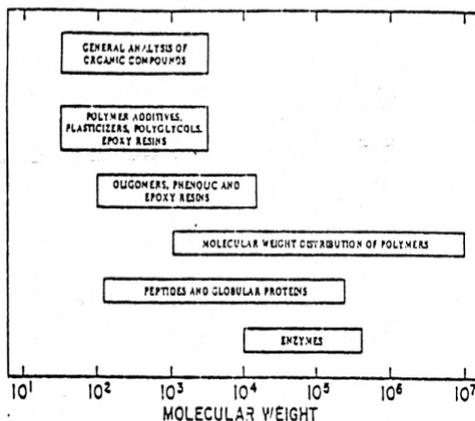


Fig. 3-22. Molecular weight distribution of samples most frequently analyzed by size-exclusion chromatography.

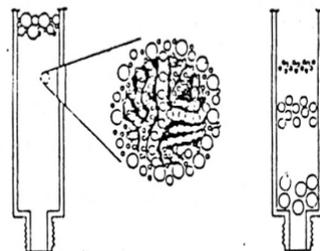


Fig. 3-23. Visualization of the separation process in size exclusion chromatography. The molecules of the sample components can only enter those pores the diameter of which is larger than the cross-section of the molecules. Thus, the smallest molecules spend the longest time in the particles since they can enter all the pores while the molecules having a cross-section larger than the diameter of the largest pores will pass by without entering any pore. Therefore, the large molecules will elute first off the column while the smallest molecules will be the last.

The idealized drawing in the middle shows one particle with pores of different diameters. The individual molecules are represented by the circle

## 18.6. INTERAKSI SOLVEN-SOLUT DALAM KROMATOGRAFI

Terdapat empat interaksi utama yang terjadi antar solven/ pelarut (fase cair) dan solut (analit).

- a. Interaksi Dispersi
- b. Interaksi Dipol
- c. Interaksi ikatan hidrogen
- d. Interaksi dielektrik

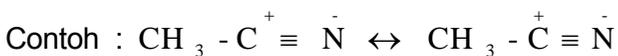
### Interaksi Dispersi

Distribusi elektron dalam solut (analit) pada saat tertentu adalah asimetris mengarah pada momen dipol temporari dalam solut. Temporari dipol dalam solut mempolarisasi elektron dalam molekul solven bersebelahan. Hasil distribusi elektron menyebabkan daya tarik elektrostatik anatar solven dan solut (analit)

Kekuatan dispersi semakin kuat, untuk memudahkan polarisasi elektron dalam molekul analit dan solven. Kemampuan polarisasi elektron meningkat dengan *refractive index* senyawa. Oleh karena itu solven dengan *refractive index* tinggi akan lebih suka melarutkan analit dengan *refractive index* tinggi. Sampel dengan *refractive index* tinggi termasuk aromatik dan senyawa dengan multiple substituen atau atom dari pojok kiri atas dari tabel periodik seperti -Cl, -Br, -I, -S dan lainnya. Semakin besar jumlah elektron dalam atom atau molekul maka semakin kuat interaksinya. Kekuatan dispersi terjadi antar semua atom dan molekul.

### Interaksi Dipol

Baik solven (fase cair) maupun analit mungkin momen dipol permanen, menghasilkan kelurusan solven dan analit dalam konfigurasi linier.



Interaksi dipol ini biasanya terjadi antara gugus fungsional individual dari dua molekul yang menyebabkan interaksi selektif

antara solven dan solut (analit). Semakin besar momen dipol semakin besar pula interaksi yang terjadi.

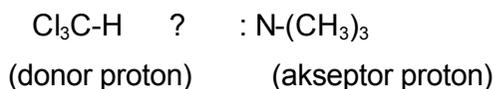
**Tabel 18.5. Harga momen dipol dari sejumlah gugus fungsional**

Gugus fungsi	Momen dipol	Gugus fungsi	Momen dipol
Amina -N	0,8 – 1,4	Ester -COO-	1,8
Eter -O-	1,2	Aldehid -CHO	2,5
Sulfida -S-	1,4	Keton -C=O	2,7
Thiol -SH-	1,4	Nitro -NO <sub>2</sub>	3,2
Asam karboksilat -COOH	1,7	Nitrit -C=N	3,5
Hidroksi -OH	1,7	Sulfoksida -SO-	3,5
Halogen -F, -Cl, -Br, -I	1,6 – 1,8		

Momen dipol (Debyes)

### Interaksi Ikatan Hidrogen

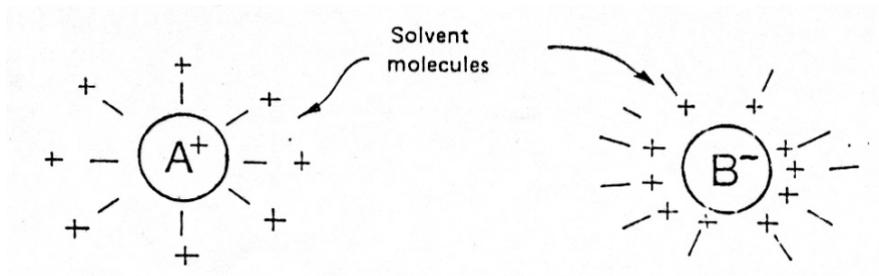
Interaksi ikatan hidrogen terjadi antara molekul donor proton dan akseptor proton seperti yang digambarkan oleh interaksi antara kloroform (molekul donor) dan trimetilamina (molekul akseptor)



Ikatan hidrogen menjadi lebih kuat selama donor semakin mampu memrikan proton dan akseptor semakin mampu untuk menerima proton. Akseptor proton dapat diklasifikasikan menurut kekuatan basa atau kekuatan menerima, yang dapat ditentukan secara eksperimen. Solven donor yang kuat lebih suka berinteraksi dan melarutkan senyawa analit akseptor kuat.

## Interaksi Dielektrik

Dielectric interactions mengarah pada interaksi dari ion-ion analit dengan cairan dengan konstanta dielektrik  $E$  tinggi (misal air atau metanol). Ion analit yang terionisasi mempolarisasi molekul solven yang bersebelahan. Interaksi jenis ini cukup kuat dan menyokong pemutusan istimewa dari sampel ionik atau yang ionisable.



## Interaksi Keseluruhan “Polaritas”

Semakin besar dispersi, dipol, ikatan hidrogen, interaksi dielektrik dalam kombinasi, maka semakin besar pula atraksi molekul –molekul solven (fase cair) dan solut (analit). Kemampuan sampel (analit) atau solven (pelarut) untuk berinteraksi dalam keempat cara tersebut diatas disebut sebagai polaritas. Semakin besar interaksi mak semakin polaritas dari suatu senyawa atau sampel.

## 18.7. FASE GERAK UNTUK KROMATOGRAFI CAIR

Sifat-sifat berikut diperlukan untuk fase gerak dalam Kromatografi Cair.

- a. Solven (pelarut) harus siap tersedia
- b. Pelarut harus sesuai dengan detektor yang digunakan dengan mempertimbangkan :
  - Deteksi Photometric – UV
  - Deteksi Refractive Index – ?RI pelarut dan analit

- Ketidakmurnian yang memiliki extinction coefficient tinggi, yaitu mengabsorpsi dengan kuat.
- c. Reaktivitas Pelarut. Pelarut sebaiknya tidak bereaksi dengan sampel atau polimerisasi dengan fase diam. Hal ini meniadakan aldehid, olefin dan senyawa sulphur (kecuali DMSO) ( misal pH dikontrol untuk kolom basa silika antara 2-8)
- d. Pelarut sebaiknya tidak terlalu kental. Viskositas tinggi (menimbulkan tekanan operasional) mengurangi efisiensi pemisahan. Tiik didih dapat menjadi petunjuk viskositas, senyawa dengan titik didih yang rendah lebih kurang kental. Pelarut sebaiknya mendidih pada 20<sup>o</sup>-50<sup>o</sup> diatas temperatur pemisahan
- e. Untuk Kromatografi Cair Partisi dengan fase diam mekanik, fase gerak harus tidak dapat dicampur dengan fase diam.
- f. Keamanan dalam penggunaan pelarut harus dipertimbangkan terutama kemungkinan timbulnya pembakaran atau keracunan.

### **Pemilihan Fase Gerak dalam Kromatografi Padat Cair Kekuatan Pelarut (Solvent Strength)**

Pemilihan fase gerak dalam kromatografi padat cair (adsorpsi) akan dengan baik tercapai dengan menggunakan parameter kekuatan pelarut  $e^0$  berdasarkan pada pekerjaan Hildebrand dan baru-baru ini diubah oleh Snyder.

Kekuatan pelarut ditemukan dengan mengukur panas yang dihasilkan oleh pelarut per unit area materi pengadsorpsi (adsorbat) selama pelarut teradsorpsi pada adsorbat.

Semakin aktif suatu pelarut maka semakin tinggi level panas yang dihasilkan (atau energi bonding pelarut untuk adsorbat) dan secara konsekuen kekuatan pelarut semakin tinggi. Oleh karena itu pelarut non-polar seperti alkana sederhana memiliki kekuatan pelarut yang sangat rendah. Pentana dalam skala kekuatan pelarut Snyder adalah nol. Tabel kekuatan pelarut ( $e^0$ ) disusun dengan

urutan meningkat, berdasarkan pada deret *Eluotropic*. Alkohol dan air memiliki nilai kekuatan pelarut yang tinggi berkaitan dengan gugus hidroksil aktif yang tinggi.

Kekuatan pelarut mengontrol rasio partisi  $k'$ . Peningkatan  $\epsilon^0$  berarti pelarut lebih kuat dan nilai  $k'$  semakin kecil untuk semua pita sampel.

Campuran biner digunakan pada hampir semua kasus untuk menyediakan kekuatan pelarut yang tepat sehingga dapat memberikan nilai rasio partisi  $k'$  yang tepat.

**Tabel 18.6. Beberapa pelarut sebagai fase gerak**

Solvent	Solvent strength $\epsilon^0$		Selectivity group
	Silica	Alumina	
3-M Fluorochemical FC-78	-0.2	-0.25	-
<i>n</i> -Hexane } <i>n</i> -Heptane } Isooctane }	0.01	0.01	-
1-Chlorobutane	0.20	0.26	V
Chloroform	0.26	0.40	VIII
Methylene chloride	0.32	0.42	V
Isopropyl ether	0.34	0.28	I
Ethyl acetate	0.38	0.58	VI
Tetrahydrofuran	0.44	0.57	III
Propyl amine	~0.5		I
Acetonitrile	0.50	0.65	VI
Methanol	~0.7	0.95	II

## Selektivitas

Selektivitas diukur dengan retensi relatif dalam LSC dapat diubah dengan memilih campuran biner baru seperti yang ditunjukkan gambar berikut.

### Aturan konsentrasi B

Seperti aturan umum untuk perubahan besar dalam  $\alpha$  pada LSC larutan sangat encer atau konsentrasi tinggi dari B dari pelarut lemah A sebaiknya digunakan.

### Aturan Ikatan Hidrogen

Perubahan apapun dalam fase gerak yang menghasilkan perubahan pada ikatan hidrogen antara molekul sampel dan molekul fase gerak umumnya menimbulkan perubahan pada  $\alpha$ .

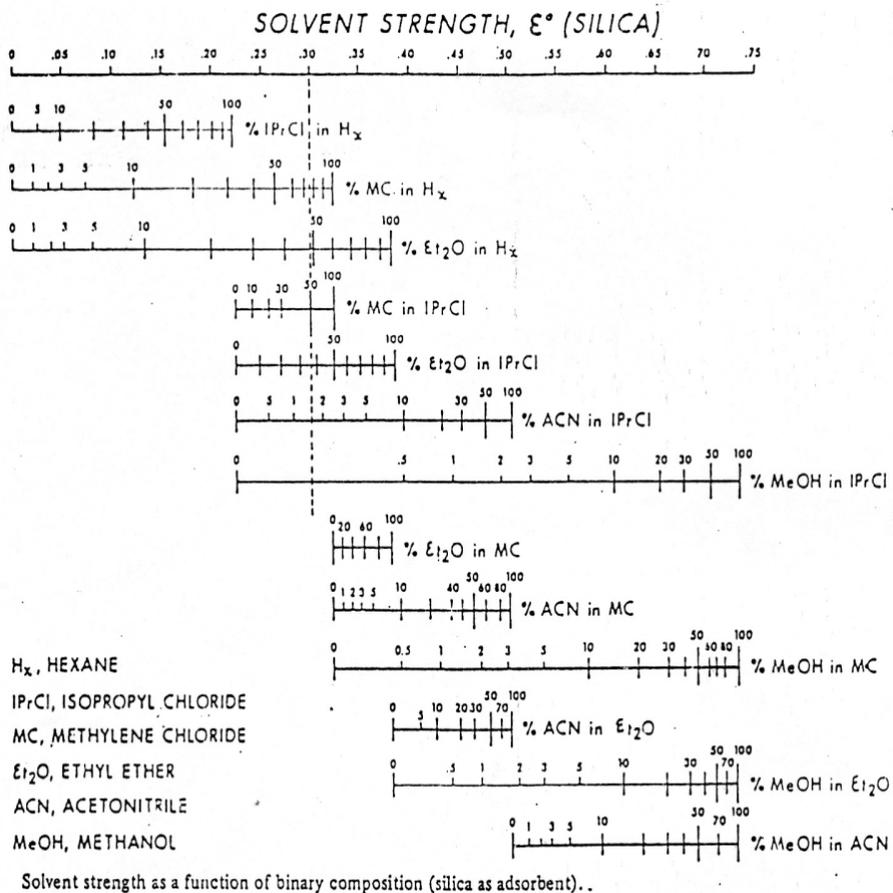


Table 2. Solvent selectivity in LSC; the "B-concentration" effect.

Solvent (pentane solution) *	$k'$		$\alpha$
	<chem>CC(=O)c1ccc2ccccc2c1</chem>	<chem>O=[N+]([O-])c1ccc2ccccc2c1</chem>	
50% Benzene	5.1	2.5	0.5
25% Ethyl ether	2.5	2.9	0.8
23% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	5.5	5.8	0.95
4% Ethyl acetate	2.9	5.4	1.8
5% Pyridine	2.3	5.4	2.4
0.05% Dimethylsulfoxide	1.0	3.5	3.5

Source: Data from (7).

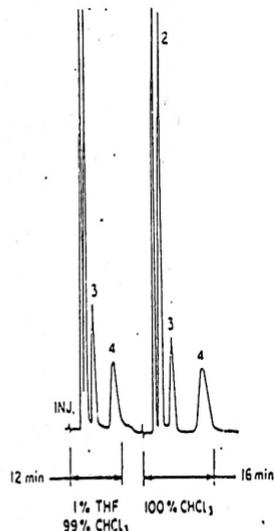


Table 3. Solvent selectivity in LSC; the "hydrogen-bonding" effect.

Mobile phase <sup>a</sup>	Solvent selectivity group	$k'$ values <sup>b</sup>		$\alpha$
		(1)	(2)	
5% ethyl ether	I	5.5	4.0	1.5
5% triethylamine	I	4.4	3.0	2.2
23% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	V	2.2	2.3	1.05
15% CH <sub>2</sub> ClCH <sub>2</sub> Cl	V	3.2	2.9	1.10
30% CHCl <sub>3</sub>	VIII	2.0	2.6	1.30

Source: Data from (7).

<sup>a</sup> % v/v (pentane sat. A).

<sup>b</sup> (1) refers to *N*-methylquinoline, (2) to 2-chloroquinoline.

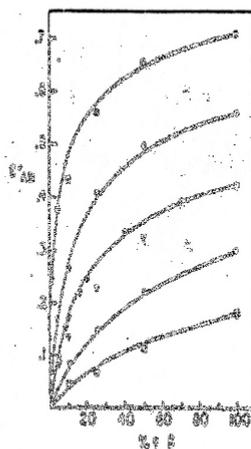
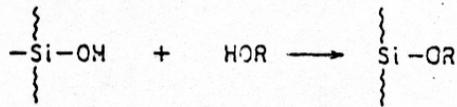


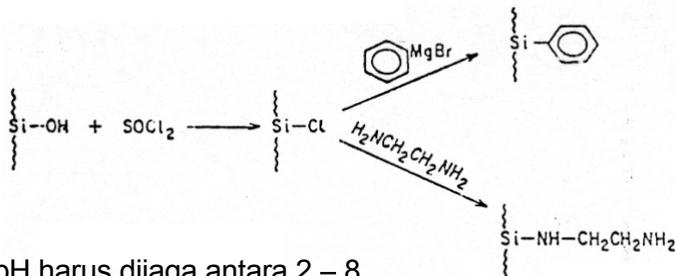
Figure 2. Variation of solvent strength in LSC as a function of binary composition. Binary solvent  $k'$  values versus solvent composition for adsorption onto aluminum oxide, pentane (A) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (B) *n*-pentane (C) *n*-propyl chloride (D) *n*-pentane (E) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (F) *n*-pentane (A) *n*-pentane (B) *n*-pentane (C) pyridine (D). Solid lines calculated from Eq. 9.1.1.

## Fase "Silica Bonded"

(a) Silicate ester

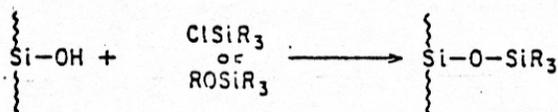


(b) Silica-carbon dan Silica-nitrogen



pH harus dijaga antara 2 – 8  
atau silika akan *degrade*

(c) Siloxanes



## 18.8. PEMISAHAN DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN KROMATOGRAFI KOLOM

### a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa yang hidrofobik seperti lemak dan karbohidrat. KLT dapat digunakan untuk menentukan eluen pada analisis kromatografi kolom dan isolasi senyawa murni dalam skala kecil.

Pelarut yang dipilih untuk pengembang pada KLT disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Sebagai fase diam digunakan silika gel, karena tidak akan bereaksi dengan senyawa atau pereaksi yang reaktif.

Data yang diperoleh dari analisis dengan KLT adalah nilai  $R_f$ , nilai  $R_f$  berguna untuk identifikasi suatu senyawa. Nilai  $R_f$  suatu senyawa dalam sampel dibandingkan dengan nilai  $R_f$  dari senyawa murni.

Nilai  $R_f$  didefinisikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut sebagai fase gerak.

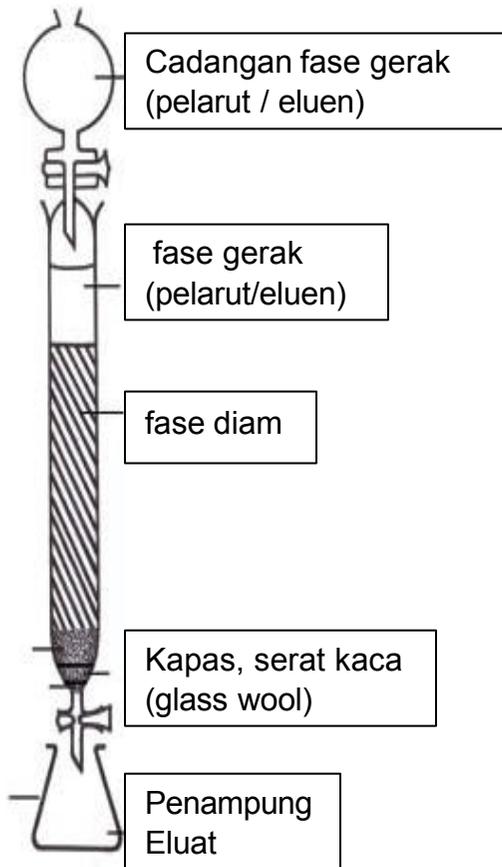
### b. Kromatografi Kolom.

Kromatografi kolom digunakan untuk digunakan untuk memisahkan suatu campuran senyawa. Kolom yang terbuat dari gelas diisi dengan fase diam berupa serbuk penyerap (seperti selulosa, silika gel, poliamida). Fase diam dialiri (dielusi) dengan fase gerak berupa pelarut.

Sampel yang mengandung campuran senyawa dituangkan ke bagian atas dari kolom, kemudian dielusi dengan pelarut sebagai fase gerak. Setiap senyawa/komponen dalam campuran akan

didorong oleh fase gerak dan sekaligus ditahan oleh fase diam. Kekuatan senyawa ditahan oleh fase diam akan berbeda dengan senyawa lainnya.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pemisahan dengan kromatografi kolom adalah fase diam yang digunakan, kepolaran pelarut (fase diam), ukuran kolom (diamter dan panjang kolom), kecepatan alir elusi.



**Gambar 18.22. Kolom kromatografi**

## **Tutorial : Kromatografi Cair**

1. Garis besar syarat-syarat instrumental dari High Performance Liquid Chromatograph modern
2. Apa yang Anda ketahui tentang istilah-istilah berikut :
  - (a) Normal Phase Chromatography
  - (b) Reverse Phase Chromatography
  - (c) - Isocratic Operation  
- Gradient Elution  
- Flow Programming
  - (d) - Porous  
- Pellicular  
- Hydrophilic  
- Lipophilic
3. Garis besar mekanisme yang merupakan dasar pemisahan dalam bentuk kromatografi berikut :
  - (a) Kromatografi Cair Padat (Adsorpsi)
  - (b) Kromatografi Cair Cair ( utamannya bonded phase)
  - (c) Kromatografi Pasangan Ion
  - (d) Kromatografi Pertukaran Ion
  - (e) Size Exclusion Chromatography

## **PRAKTIKUM KROMATOGRAFI**

### **Catatan Praktikum dan Tugas**

#### **Persyaratan Pendahuluan**

Sebelum memulai beberapa latihan harus dilakukan pengenalan terhadap instrumen lebih dahulu.

Untuk Kromatografi Gas aspek-aspek berikut harus terpenuhi.

#### **(1) Logistical Set up**

##### **Fase Gerak**

Kromatografi gas tidak dapat dioperasikan tanpa pendukung yang mencukupi terutama persiapan untuk fase gerak.

- (a) Tunjukkan
  - (i) silinder penyimpanan gas
  - (ii) bermacam gas yang dibutuhkan
  - (iii) gas lines untuk menjalankan sejumlah units
  - (iv) regulator gas yang dibutuhkan pada sumber dan bermacam instrumen
- (b) Sebutkan
  - (i) Supplier gas (CIG)
  - (ii) Safe handling of Gases
  - (iii) Kegunaan dari kondisi yang direkomendasikan oleh pabrik dan petunjuk
  - (iv) Bagian yang habis pakai dan alat yang bisa diganti.

Kromatografi gas memiliki sejumlah bagian yang dapat diubah dan diganti, yaitu :

- (a) Syringe (bermacam volume, gas dan cairan)
- (b) Sekat kolom (gunakan larutan sabun untuk mendeteksi kebocoran sekat)
- (c) Kolom (dapat diubah sesuai dengan kegunaannya)
- (d) Fuses / sekering

Tunjukkan katalog (J & W). Garis bawahi bahwa hal diatas diperlukan untuk penggunaan rutin.

## **(2) Set up Instrumen Awal**

- (a) Deskripsi instrumen dan bermacam bagian termasuk alat output data.
  - (i) Unit FID
  - (ii) Unit TCD
- (b) Start up awal
  - (i) Alirkan gas (gas pembawa melalui kolom dan TCD untuk mencegah pembakaran kolom dan kawat yang terbakar)
  - (ii) Power
  - (iii) Pengaturan kondisi dan instrumen
  - (iv) Pencahayaan FID dan deteksi operasinya dengan potongan logam dingin

### **Tugas 1 Set up instrumen Awal**

Reagen : pelarut organik yang dapat dideteksi

Misal n-propanol, MIBK

Alat : syringe 1  $\mu$ L

#### **Prosedur :**

- (1) Nyalakan Flame Ionization Detector dan tes apakah dapat beroperasi
- (2) Ambil 1  $\mu$ L pelarut organik dengan menggunakan syringe 1  $\mu$ L
- (3) Balikkan syringe dan keluarkan 0,8  $\mu$ L sehingga hanya tertinggal 0,2  $\mu$ L dalam syringe. Periksa bahwa syringe tidak tersumbat dengan mengamati tetesan yang terjadi pada ujung jarum selama mengeluarkan 0,8  $\mu$ L. Bersihkan jarum dengan tissue
- (4) Injeksikan pelarut dengan cara memasukkan jarum syringe melalui sekat dan tekan ke bawah penghisapnya
- (5) Tarik syringe

(6) Tunggu hingga puncaknya muncul dan kemudian atur integrator untuk mendapatkan puncak yang paling tidak setengah dari range

**Pertanyaan :**

Bagaimana integrator menunjukkan nyala dalam FID kemungkinan padam?

**Hasil :**

Tulis kondisi operasional, nama instrumen, dan beri nama data Anda dengan Tugas 1 dan tanggal

Nama Instrumen : \_\_\_\_\_

Tanggal : \_\_\_\_\_

Kondisi detektor : Tipe \_\_\_\_\_

Gas pembawa : \_\_\_\_\_

Kondisi temperatur : \_\_\_\_\_

Temperatur injektor : \_\_\_\_\_

Temperatur detektor : \_\_\_\_\_

Attenuation Kondisi Range GC : \_\_\_\_\_

Pelemahan Integrator : \_\_\_\_\_

Kondisi lain : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Tugas 2 Pemasukkan Sampel**

Sampel yang akan dianalisa yang mana biasanya merupakan larutan atau cairan murni, dimasukkan ke dalam kolom melalui sistem inlet, dengan menggunakan syringe. Aliquot sampel yang diinjeksikan berkisar antara  $10^{-6}$  liter ( $\mu\text{L}$ ) atau kurang. Ini memerlukan syringe yang presisi agar dapat menghasilkan volume

kecil berulang-ulang. Syringe ini sangat mahal dan harus digunakan dengan hati-hati.

(a) Teknik Injeksi

Prosedur berikut sebaiknya digunakan pada saat menginjeksikan sampel pada kromatografi gas.

Benamkan ujung syringe dalam sampel, bilas syringe dengan cara memindahkan penghisapnya ke belakang dan ke depan beberapa kali dan kemudian tarik melebihi dari yang dibutuhkan sebenarnya. Pindahkan dan balik syringe dan tekan penghisap hingga indikator volume menunjukkan ke posisi yang diperlukan, bersihkan jarum dengan tissue dan tarik kembali penghisap untuk memasukkan celah udara yang volumenya kira-kira sama dengan volume sampel (jika kapasitas syringe memungkinkan). Masukkan jarum melalui injection port dan segera tekan penghisap ke bawah dan secara bersamaan strat integrator. Setelah sekitar 30 detik, pindahkan syringe dan uapkan sisa sampel dengan cara memindahkan penghisap ke belakang dan ke depan beberapa kali sehingga benar-benar bersih.

(b) Ketelitian Injeksi Sampel

Injeksikan 0,1  $\mu\text{L}$  n-propanol dengan menggunakan prosedur di atas dan gunakan kontrol pelemahan pada integrator untuk mengatur tinggi puncak antar 40% dan 100% dari pembelokan skala penuh. Buat beberapa injeksi agar menjadi biasa dengan syringe dan kemudian injeksikan lima 0,1  $\mu\text{L}$  aliquot n-propanol, beri jarak waktu antar injeksi 30 detik. Jangan sampai terjadi overlap antar puncak.

Naikkan pelemahan dengan faktor 8 (yakni 2/3) dan injeksikan 1,0  $\mu\text{L}$  aliquot n-propanol.

Untuk setiap set hasil ukur tinggi puncak dan hitung rata-rata, standar deviasi dan relatif standar deviasi. Beri komentar.

(c) Naikkan attenuation dengan faktor 2, injeksikan 1,0  $\mu\text{L}$  propanol dan catat tinggi puncak dan atau area. Bandingkan hasil ini dengan nilai yang diperoleh pada (c) di atas.

Ganti parameter kemiringan dan lebar (konsultasikan dengan asisten lab) dan re-injeksikan 0,1  $\mu\text{L}$  propanol. Re-injeksikan beberapa 1,0 aliquot  $\mu\text{L}$  propanol dengan nilai kemiringan dan lebar yang berbeda untuk mempelajari mana yang mempunyai pengaruh terhadap kemampuan integrator untuk mendeteksi dan mengukur puncak.

### Tugas 3 Prekondisi

Dalam tugas 1 kita melihat bahwa pada hasil akhir injeksi sampel ke dalam kromatografi gas merupakan jejak terekam yang menunjukkan garis dasar yang lurus dan sebuah puncak. Hasil ini disebut kromatogram, yang berisi informasi tentang karakteristik retensi dan kuantitas unsur yang diinjeksikan sebaik seperti kolom melakukan pemisahan. Kromatogram menunjukkan beberapa sifat dasar dalam gambar.

(a) Kondisi Instrumen

	3920	GC-8A
Attenuation, GC ;	4 lalu 32	
Attenuation, Integrator	5	2 lalu 5
Kecepatan tabel	6,0 cm/min	6,0 cm/min

(b) Prosedur

Siapkan 0,2  $\mu\text{L}$  n-propanol dan 0,8  $\mu\text{L}$  metana (jika menggunakan 3920) atau udara (jika menggunakan GC-8A) Injeksikan campuran tersebut pada kolom polar dengan menggunakan attenuation lebih rendah. Pada saat puncak

pertama telah tampak, ganti attenuation untuk puncak propanol dan pada sat puncak ini telah tampak matikan integrator.

Reset attenuation dan ulangi injeksi untuk memperoleh kromatogram duplikat.

Dari masing-masing kromatogram tentukan parameter-parameter berikut :

$$t_R, t_M, t'_R, W_b, W_h$$

Kemudian hitung  $n$ ,  $h$  dan  $u$  dari persamaan yang diberikan dibawah gambar dan tabulasikan hasil (data) yang diperoleh.

#### **Tugas 4 Parameter Kolom, Temperatur dan Laju aliran**

Pemisahan suatu unsur dalam sebuah kolom bergantung pada sejumlah faktor yang berbeda. Dua faktor penting yaitu temperatur dan laju aliran gas pembawa.

##### Prosedur

Lanjutkan tugas ini segera setelah tugas 2 diselesaikan. Biarkan 5 menit waktu equilibrasi setelah membuat beberapa perubahan.

Ambil kondisi pada tugas 2 sebagai dasar pengaturan dan catat :

- (1) temperatur dan selesaikan prosedur eksperimen pada tugas 2
- (2) aliran gas pembawa setelah kembali pada temperatur awal pada tugas 2 dan menyelesaikan prosedur pada tugas 2

Hitung  $k'$  untuk setiap set kondisi termasuk  $k'$  tugas 2

Beri komentar tentang pengaruh temperatur dan aliran dan pengaruhnya pada  $k'$  Rasio Partisi.

#### **Tugas 5 Pemrograman Temperatur**

Acuan : Ettre, pp 5-16 sampai 5-21, 6-6

Rowland, pp 7-3 sampai 7-8

Tujuan : Untuk mendemonstrasikan penggunaan pemrograman temperatur dalam analisa kualitatif

### **Kondisi Instrumen**

Instrumen : Shimadzu GC-8A  
Kolom : 10% Apiezon L, Chromasorb WHP 100-200 mesh, 2m Non polar  
Kondisi operasional : 80<sup>o</sup>C temperatur awal  
200<sup>o</sup>C Temperatur akhir  
80<sup>o</sup>C/menit laju program  
Gas pembawa : Nitrogen, GC2 1,25 Primary 4,5  
Detektor : FID, H<sub>2</sub> 1,0 , udara 0,3  
Injektor interface : 220<sup>o</sup>C  
Range : 10 ^2 Attenuation 1  
Data output : HP 3390A Chart speed : 0,5 Atten : 4

### **Larutan :**

Larutan hidrokarbon : C7 hingga C10 dalam heksana  
(500 µL n-heptana, n-oktana, n-nonana, n-dekana dalam 10 mL n-heksana)

Larutan hidrokarbon :C8 hingga C13 dalam heksana  
(500 µL n-oktana, n-nonana, n-dekana , 750 µL n-undekana, n-dodekana, n-tridekana)

Botol kecil berisi metana (100 ml)

Larutan hidrokarbon : C10 dalam heksana  
(500 µL n-dekana dalam 10 mL n-heksana)

### **Prosedur :**

- (1) Atur kondisi batas atas pada Kromatografi Gas untuk menjalankan pemrograman temperatur
- (2) Ubah attenuation pada HP3390A ke 2

- (3) Injeksikan 1  $\mu\text{l}$  metana tekan start pada integrator dan stop integrator pada saat puncak metana telah terekam.  
Ubah attenuation pada HP3390A ke 5
- (4) Injeksikan 0,2  $\mu\text{l}$  larutan C3 hingga C13 dan 0,8  $\mu\text{l}$  metana dan start integrator dan program start pada GC-8A
- (5) Stop integrator setelah mencapai 200 $^{\circ}\text{C}$
- (6) Dinginkan oven kembali pada 80 $^{\circ}\text{C}$

Hasil :

Puncak utama yang terakhir pada kromatogram adalah C13. Identifikasikan puncak C3 hingga C13 metana dan tabulasikan data waktu retensi relatifnya.

Jika menemui kesulitan dalam mengidentifikasi puncak, running C10 untuk menentukan identitasnya.

Perhitungan dan Grafik

Tentukan waktu retensi yang disesuaikan ( $t'_R$ ) dari tiap puncak dan buatlah grafik dari

$$T'_r \text{ vs jumlah karbon} * 100$$

Diskusi

Beri komentar pada kromatogram dan grafik dan diskusikan keuntungan dari pemrograman temperatur. Anda mungkin dapat mengamati bahwa garis dasar kromatogram mulai bergeser semakin naik sampai pada bagian akhir dari pemrograman temperatur. Jelaskan mengapa ini terjadi dan bagaimana pengaruhnya dapat diminimalisasi.

**Tugas 6      Analisa Kualitatif : Sistem Indeks Retensi**

**Pendahuluan**

Cara umum menunjukkan data retensi adalah untuk memberi retensi relatif. Relatif retensi ditunjukkan sebagai :

$$\alpha_{i, s} = \frac{t'_{R(i)}}{t'_{R(s)}} \dots\dots\dots(1)$$

Dimana i adalah komponen yang dimaksud dan s adalah standar.

Alternatif penting dari persamaan di atas untuk data retensi adalah sistem yang diusulkan oleh KOVATS. Sistem ini dikenal sebagai sistem Retention Index(I), menghubungkan perilaku retensi dari unsur terhadap hidrokarbon normal.

Retention Index dari n-hidrokarbon ditunjukkan sebagai jumlah karbon dikali 100 (misal heksana memiliki I =600)

Retention Index dari suatu unsur yang diberikan I, dapat dihitung dari persamaan berikut

$$I = 100 \frac{\log t'_{Ri} - \log t'_{Rc(n)}}{\log t'_{Rc(n+1)} - \log t'_{Rc(n)}} + 100 n \dots\dots\dots(2)$$

Dimana C(n) adalah n-hidrokarbon dengan jumlah karbon n dan C(n+1) adalah n-hidrokarbon dengan jumlah karbon n+1.

Dengan definisi  $t'_{Rc(n)} < t'_{Ri} < t'_{Rc(n+1)}$

Retention Index dari suatu unsur dapat juga ditentukan dari grafik  $\log t'_{Rc(n)}$  vs  $n \times 100$ .

Nilai Retention Index bergantung pada temperatur kolom, tetapi hubungannya adalah linier, ini berarti bahwa ini hanya perlu diketahui I pada dua temperatur pemisahan yang layak (katakan berbeda 40°C) dapat dihitung I pada salah satu temperatur.

## Tugas 7 Retention Index (Operasi Isotermal)

### Kondisi Instrumen :

Atur GC-8A seperti yang diberikan pada tugas Pemrograman Temperatur dan atur untuk operasional Isotermal pada 90°C.

### Prosedur :

- (1) Injeksikan 1,0 µL metana tekan start pada integrator dan stop integrator pada saat puncak metana telah muncul.
- (2) Injeksikan 0,2 µL larutan C10 dan 0,8 µL metana dan start integrator. Stop integrator setelah puncak C10 muncul.
- (3) Injeksikan 0,2 µL larutan C7 –C10 dan 0,8 µL metana dan tekan start integrator. Stop integrator setelah puncak C10
- (4) Injeksikan sampel yang tidak diketahui (0,2 µL) dan metana (0,8 µL) start integrator. Stop integrator setelah waktu retensi C10 terlewati.

### Hasil :

Tabulasikan hasil waktu retensi ( $t_R$ ) dari hidrokarbon C7 sampai C10, metana dan sampel yang tidak diketahui dan tentukan waktu retensi yang disesuaikan ( $t'_R$ ) pada setiap komponen.

### Perhitungan dan Grafik

- (1) Buatlah grafik  $\log t'_R$  vs jumlah karbon x 100
- (2) Tentukan Retention Index dari tiap komponen dalam sampel yang tidak diketahui dan tentukan seperti identitas dari tabel data ( )
- (3) Pilih puncak dari sampel tidak diketahui dan hitung Retention Index-nya dan bandingkan nilai ini dengan nilai yang didapat dari grafik.

## Tugas 8 Retensi Relatif

Tugas ini dapat dilakukan dalam penggabungan dengan tugas Retention Index.

Kondisi Instrumen : Seperti dalam Retention Index

Larutan : Toluene, sampel tidak diketahui yang mengandung toluene

### Prosedur :

- (1) Injeksikan 0,02  $\mu\text{L}$  toluene dengan 1  $\mu\text{L}$  metana dan start integrator. Stop integrator pada saat puncak toluene muncul.
- (2) Injeksikan 0,2  $\mu\text{L}$  sampel yang tidak diketahui dan 0,8  $\mu\text{L}$  metana dan start integrator. Stop integrator pada saat kromatogram selesai

### Hasil :

Berilah nomor pada puncak dan tabulasikan waktu retensi dari puncak. Identifikasi puncak toluene dalam sampel yang tidak diketahui.

### Perhitungan

- (1) Hitung dan tabulasikan Waktu Retensi yang disesuaikan ( $t'_R$ ) untuk tiap puncak dan bagi nilai ini dengan waktu retensi yang disesuaikan dari toluene untuk mendapatkan retensi relatif dari toluene

$$= \frac{t'_R (\text{tidak diketahui})}{t'_R (\text{toluene})}$$

- (2) Dari Retensi Relatif dan tabel data ( ), identifikasi komponen dalam sampel
- (3) Beri komentar tentang bagaimana tabel data menggunakan retensi relatif untuk mengidentifikasi komponen dapat disediakan.

## Praktikum Kromatografi Gas

### Praktikum 1 :

#### Analisa Asam Karboksilat (Asam Lemak) Rantai Panjang

Acuan : Smith, A.W. *Education in Chemistry*, 14 (3), 74 (1977)  
Grob, R.L., *Modern Practice of Gas Chromatography*,  
Ch.9, pp 451-463

#### Tujuan :

Untuk menganalisa komposisi asam lemak dari lemak atau minyak tertentu, secara alami terjadi, dengan menggunakan teknik derivatisasi sederhana, dalam rangka :

- (i) Identifikasi kualitatif dari beberapa asam yang ada
- (ii) Menentukan komposisi persen-berat relatif dari asam yang ada

#### Pendahuluan

Asam (lemak) Karboksilat rantai panjang terjadi dalam lemak dan minyak seperti ester dari alkohol, gliserol. Ester-ester ini dikenal sebagai gliserida atau lebih umum lipid.

Untuk menganalisa kandungan asam lemak dari lemak atau minyak, pertama kali diperlukan adalah membebaskan asam dari ester. Hal ini akan dicapai dengan cara hidrolisa basa (saponifikasi).

Akan tetapi hidrolisis akan menghasilkan formasi campuran garam asam yang mana tidak sesuai untuk analisa oleh kromatografi cair gas (GLC). Oleh karena itu, perlu untuk mengubah garam-garam ini menjadi derivatif yang sesuai.

Derivatif yang paling umum digunakan adalah metil ester dan ada beberapa metode yang tersedia untuk menghasilkan derivatif tersebut. Salah satu metode yang paling sederhana, cepat dan paling populer melibatkan reaksi campuran hidrolisis dengan triflouride dalam metanol. Begitu terbentuk, metil ester akan terekstraksi ke dalam pelarut organik dan siap untuk dianalisa.

Pilihan lain, metil ester mungkin diproduksi langsung dengan cara transesterifikasi katalis-basa dari gliserida dengan menggunakan potassium hidroksida dalam metanol kering.

Dalam analisa GLC metil ester asam lemak, data retensi umumnya diekspresikan dalam istilah equivalent chain length (ECL) atau jumlah carbon (carbon number / CN)

Nilai ECL menyerupai Retention Index Kovats dan dihitung dalam cara yang hampir sama. Dalam sistem ECL perilaku retensi dari metil ester tertentu dihubungkan pada rangkaian homologous metil ester dari asam jenuh rantai lurus.

Sebagai contoh, metil oktadekanoat (stearat) didefinisikan memiliki nilai Ecl 18,00.

Oleh karenanya, ester yang terelusi setelah metil oktadekanoat tetapi sebelum metil nonadekanoat akan memiliki nilai ECL antar 18,00 dan 19,00, katakan 18,30.

Dalam analisa kuantitatif lemak dan minyak, konsentrasi relatif (wt%) dari asm lemak dapat diambil langsung dari area puncak yang dinormalisasi dari ester yang bersangkutan. Hal ini tentu saja merupakan perkiraan dan keakuratan teknik bergantung pada cakupan (range) dan berat molekular sama yang terlibat. (Ref. Ettre, 6-17,18)

### **Kondisi Instrumen**

Instrumen : Becker 407

Temperatur kolom : 180°C

Temperatur detektor : 230°C

Temperatur atas : 260°C

Tekanan gas pembawa: 2,0

Range : 100

### **Catatan :**

1. Sampel dan standar akan disediakan oleh asisten lab
2. Peralatan gelas dan syringe tersedia dari ruang penyiapan

3. Kromatogram yang akan terekam menggunakan integrator.  
Periksa bersama asisten lab sebelum menggunakan instrumen.

**Metode :**

1. Timbang 150 mg sampel ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering dan tambahkan 3 mL n-heksana. Tambahkan 3 mL n-heksana ke dalam tabung reaksi kedua. Tabung ini akan berisi campuran "blank". Pada tiap tabung, tambahkan 1 mL KOH 2M dalam metanol dan kocok selama 30 detik. Biarkan beberapa menit sebelum dianalisa.
2. Kromatografikan 0,2  $\mu$ L lapisan heksana dari campuran "blank" dan amati jika terdapat ketidakmurnian. Jika ketidakmurnian tampak, konsultasikan dengan asisten lab. Kromatografikan 0,2  $\mu$ L lapisan heksana dari campuran sampel.  
Gunakan syringe yang berbeda, kromatografikan 0,2  $\mu$ L larutan standar metil ester jenuh.

**Hasil**

Tabulasikan semua data yang dihasilkan

Gunakan hasil ini untuk mengidentifikasi metil ester jenuh dalam sampel Anda

Dari data retensi buatlah grafik  $\log t'_R$  vs jumlah karbon dan gunakan grafik ini untuk memperkirakan nilai ECL dari sisa puncak pada kromatogram sampel.

**Praktikum 2 : Analisa Kuantitatif : Standarisasi Internal**

Acuan : Grob, R.L., *Modern Practice of Gas Chromatography*, pp 184-187, 199-210

Tujuan : Untuk menentukan konsentrasi etanol dalam sampel anggur tertentu dengan menggunakan propanol sebagai internal standar dan untuk membandingkan hasil dengan teknik eksternal standar.

### **Kondisi Instrumen**

Temperatur kolom	: 90 <sup>0</sup> C
Rotameter – polar	: 1,7
Range	: 1 K
Integrator - ATT 2	: 6
- CHT SP	: 1,00
- AR REJ	: 5000

### **Metode**

1. Siapkan larutan kalibrasi berikut terdiri dari etanol 0,0; 4,0; 8,0; 12,0; 16,0 vol%. Setiap larutan tersebut harus mengandung 20,0 vol% propanol
2. Gunakan 1.0 mikroliter syringe yang bersih, dapatkan kromatogram dari larutan-larutan di atas dengan menggunakan HP 3390A Reporting Integrator
3. Dari hasil yang diperoleh, buatlah dua grafik, satu adalah area puncak etanol vs konsentrasi etanol, dan yang lain adalah rasio area puncak etanol terhadap propanol vs konsentrasi etanol.
4. Dapatkan sampel anggur dan siapkan larutan anggur yang mengandung konsentrasi propanol yang sama seperti dalam larutan kalibrasi.
5. Kromatografikan larutan anggur rangkap tiga
6. Tentukan, dengan menggunakan grafik kalibrasi, konsentrasi (vol%) etanol dalam sampel anggur yang asli.
7. Jika Anda telah menentukan konsentrasi etanol, konsultasikan dengan asisten lab, kemudian analisa larutan anggur dengan menggunakan metode yang tersedia dengan integrator.

### **Diskusi**

Bandingkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan teknik standar internal dan standar eksternal dan perkirakan kesalahan dalam tiap kasus.

### Praktikum 3 : Kromatografi Gas Kapiler

**Tujuan** : untuk mempelajari sejumlah parameter yang dihubungkan dengan operasional kromatografi gas dengan kolom kapiler, dan melakukan sejumlah analisa

#### **Pendahuluan :**

Dalam eksperimen *packed-column GC*, beberapa sifat dari kromatografi gas telah dikemukakan, seperti respon detektor, perbedaan antara operasional isothermal dan temperatur-programmed, dan analisa kualitatif. Pengamatan dan kesimpulan yang diperoleh dari hal tersebut dapat diterapkan pada sistem *capillary GC*. Akan tetapi terdapat dua perbedaan utama yang mesti digaris bawahi :

- (1) Penggunaan kolom kapiler memberikan efisiensi yang jauh lebih besar pada proses kromatografi dan oleh karenanya secara significant plate-number lebih besar( yaitu puncak yang lebih sempit) dan resolusi yang lebih baik akan muncul. Hal ini merupakan konsekuensi dari kolom yang lebih panjang , terbuka yang digunakan.  
Untuk menjaga efisiensi kolom pada laju aliran gas pembawa yang lebih tinggi, biasanya digunakan gas pembawa helium atau hidrogen
- (2) Lubang sempit pada kolom membatasi aliran gas pembawa yang mana dapat diakomodasi, dan karenanya untuk mengirim bahan terlarut ke dalam kolom sebagai pita sempit mak diperlukan prosedur spesial injeksi. Rasio fase kolom juga jauh lebih besar.  
Kita seharusnya menguji beberapa parameter penting yang mana secara normal harus dihitung pada saat melakukan GC

kapiler. Prosedur injeksi akan dipelajari. Penerapan GC kapiler akan dilakukan.

### **Tugas : Prosedur Injeksi**

Terdapat tiga prosedur injeksi utama yang digunakan dalam kolom kapiler yaitu metode *split*, *splitless* dan *on-column*. Anda sebaiknya mengacu pada diagram skematik untuk setiap injektor. Dari tiap injektor, yang mana akan diuraikan dengan singkat berikut.

Split, Gas pembawa menyapu seluruh jarum syringe dan membawa vaporised solven dan sampel menuju ke kolom terbuka. Hanya sebagian kecil (katakan 1%) dari aliran masuk ke dalam kolom, sisanya keluar dengan cepat melalui jalur ventilasi. Rasio split adalah aliran kolom : aliran vent (misal 1:50, 1:100 dan lainnya). Oleh karena itu, sebagian besar sampel tidak masuk ke dalam kolom. Penguapan dan pembuangan sampel yang sangat cepat mengakibatkan berdiamnya (residence time) sampel dalam injektor adalah rendah, dan maka sampel masuk dalam kolom sebagai pita yang sangat sempit.

Splitless, Jika komponen sampel sedikit, maka mode split mungkin tidak memuaskan. Mode splitless akan mengalahkan problem pembuangan sebagian besar sampel pada ventilasi dan lakukan sebagai berikut :

Sebelum dilakukan injeksi, jalur ventilasi ditutup. Aliran yang diijinkan hanya menuju ke dalam kolom. Pada saat pelarut dan sampel diinjeksikan, akan menguap dan secara perlahan masuk ke dalam kolom (pada laju alir yang digunakan,  $1-2 \text{ cm}^3\text{min}^{-1}$ ). Oven kolom pada temperatur rendah untuk menkondensasi pelarut dan sampel pada kepala kolom. Setelah sekitar 45-60 detik, ventilasi dibuka

dan sisa pelarut dalam injektor akan terbuang. Dalam hal ini, sebagian besar sampel (dan pelarut) masuk ke dalam kolom.

On-culoumn, Sangatlah mungkin untuk mendesain sebuah injektor yang memperbolehkan sebuah jarum yang bagus untuk melewati kolom kapiler dan deposit pelarut dan sampel langsung pada dinding dalam kolom

**Latihan :**

- (i) Diskusikan dengan asisten lab, prosedur untuk mengatur injektor untuk operasional split dan splitless (catatan : biasanya kita akan menggunakan glass insert yang berbeda untuk dua mode ini)
- (ii) Set up injektor pada split mode dengan rasio split 1:100
- (iii) Injeksikan 0,5  $\mu\text{L}$  pelarut, dengan oven GC pada 60<sup>o</sup>C isothermal
- (iv) Tekan start dengan segera yang akan mengaktifkan computing recorder
- (v) Catat elution time dari puncak pelarut serta tinggi dan luasnya. Catat lebar puncak.
- (vi) Ubah setting injeksi ke splitless mode, yang akan melibatkan penyesuaian dan aktivasi splitless timing devices. Pilih 45 sekon seperti splitless tertunda (berarti sisa pelarut akan keluar memallui ventilasi setelah 45 detik)
- (vii) Injeksikan 0,5  $\mu\text{L}$  pelarut dan tekan start. Jika setting telah disesuaikan dengan benar, 45 sekon setelah start, solenoid akan mengubah jalur alir. Ini akan berbunyi “clang”
- (viii) Catat data seperti pada (v)
- (ix) Jika sisa pelarut tidak terbuang, puncak pelarut tidak akan kembali ke baseline dengan cepat. Untuk melihat efek ini,

atur splitless mode untuk menjaga konfigurasi splitless mode selama sekitar 10 menit.

(x) Injeksikan 0,5  $\mu\text{L}$  pelarut dan tekan start dan catat hasil anda.

Beri komentar hasil Anda dalam istilah pengiriman pelarut (dan oleh implikasi, sampel) ke dalam kolom.

Jika pelarut terdiri dari komponen yang elutes setelah pelarut, bandingkan waktu retensinya dan bentuk puncak dalam setiap mode injeksi

### **Tugas**                      **Catatan Parameter dalam GC Kapiler**

Pada saat melaporkan data GC, sangat penting untuk mencatat semua detail kondisi operasional. Hal ini termasuk : panjang kolom, diameter dalam kolom, ketebalan film fase, jenis kolom (jenis dan pabrik pembuat fase) jenis gas pembawa, percepatan aliran gas pembawa yang digunakan, dan kondisi temperatur analisa (analisa, temperatur terprogram, dll). Pastikan bahwa informasi diatas termasuk dalam laporan Anda.

#### **Latihan**

(i) Dengan menggunakan oven pada 80<sup>0</sup>C dan mode split injeksi, injeksikan gas metana untuk mendapatkan nilai  $t_R$ . hal ini dapat berlangsung antar 1-2 menit. Hitung rata-rata linear percepatan aliran gas pembawa,  $u$ , dalam  $\text{cm}^{-1}$ .

(ii) Injeksikan 0,5  $\mu\text{L}$  campuran hidrokarbon C7-C10 pada kondisi yang sama dengan (i). Hitung rasio partisi ( $k$ ) tiap hidrokarbon. Tentukan rasio fase,  $\beta$ , dari kolom dengan rumus yang tepat dan dengan demikian perkirakan koefisien partisi ( $K$  atau  $K_D$ ) dari tiap hidrokarbon.

Plot grafik  $\log t'_R$  vs jumlah karbon untuk hidrokarbon, dan pastikan berupa garis lurus.

Hitung jumlah teoritis plates ( $n$ ) dan plates efektif ( $N$ ) tiap hirokarbon, dan plot grafik  $n$  dan  $N$  vs  $k$  (buatlah dalam satu grafik. Tentukan tinggi plates,  $h$  dan  $H$  untuk  $n$ -dekana

(iii) Buat lima 0,5  $\mu\text{L}$  injeksi sampel MIBK dan perkirakan presisi dari prosedur injeksi split.

### **Tugas**

GC kapiler merupakan prosedur yang sempurna untuk analisa campuran kompleks senyawa volatil, khususnya minyak esensial, produk petroleum dan sejenisnya. Efisiensi tinggi dan resultan tinggi memberikan keuntungan maksimum, dimana dalam GC packed-column selektivitas fase diam perlu dioptimisasi untuk dapat memberikan hasil yang diinginkan dari pasangan senyawa.

Isomer geometris sering memiliki rasio partisi yang hampir sama, dan untuk pemisahannya memerlukan kolom resolusi tinggi. Sebagai contoh, isomer alkana, isomer cis/trans alkana (misal citral isomer neral dan geranial), dan cis/trans isomer beberapa senyawa kompleks logam volatil seperti chromium tris (trifluoroacetyl-acetate)

Anda akan melakukan salah satu tugas berikut untuk melaksanakan GC kapiler. Anda harus semua mencatat data yang berkaitan dengan analisa.

- (i) Sebuah sampel citral
- (ii) Chromium tris (trifluoroacetylacetate)
- (iii) Sampel kerosene atau gasoline
- (iv) Campuran  $\alpha$  dan  $\beta$  terpinene
- (v) Campuran polyaromatic hydrocarbon

### **Praktikum 4 : Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

**Tujuan** : Untuk mengenalkan teknik high performance liquid chromatography, termasuk operasional dasar

instrumen dan mempelajari pengaruh pengaturan sejumlah parameter.

## **Pendahuluan**

HPLC adalah metode kromatografi yang menggunakan fase gerak cair dan fase diam padat / bahan pendukung untuk melakukan pemisahan suatu jenis molekul. Terdapat dua variasi utama yaitu, HPLC yang terdiri dari eluen polar dan fase diam non-polar atau eluen non-polar dan fase diam polar. Keduanya diklasifikasikan sebagai metode reversed-phase dan normal-phase. Metode reversed-phase yang akan dipakai dalam eksperimen ini menggunakan kolom octadecylsilane (ODS) dan partisi absorptif (dapat menyerap) untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran.

Syarat pemilihan utama setelah memilih metode HPLC yang sesuai adalah menentukan sistem pelarut untuk analisa. Kriteria pemilihan melibatkan waktu analisa, ( $t_R$  atau  $k'$ ), efisiensi keseluruhan (jumlah plate,  $N$  atau  $n$ ), atau mungkin resolusi ( $R_s$ ). Percepatan aliran eluen akan memainkan peranan dalam parameter ini, akan tetapi pemilihan yang bijaksana atau optimisasi komposisi pelarut akan diperlukan.

Polaritas pelarut adalah dasar yang berguna untuk menentukan bagaimana nilai  $k'$  dapat diubah, dan tentunya akan mengubah waktu analisa. Untuk menggunakan parameter ini, maka sangatlah penting untuk mengukur polaritas pelarut dan hubungkan dengan  $k'$ . Dapat dilihat seperti dibawah ini :

### **Indeks Polaritas dari Pelarut Terpilih**

<u>Pelarut</u>	<u>Indeks Polaritas (P')</u>
air	10,2
metanol	5,1
asetonitril	5,8
tetrahidrofur	4,0

Indeks polaritas dari campuran dua pelarut akan diberikan sebagai :

$$P'_{ab} = \varnothing_a P'_a + \varnothing_b P'_b$$

dimana  $\varnothing$  = fraksi volume tiap pelarut.

Sebuah aturan yang berguna bahwa untuk setiap perubahan polaritas dua unit terdapat perkiraan 10 kali lipat perubahan dalam rasio partisi (faktor kapasitas)  $k'$

$$\text{maka } \frac{k'_2}{k'_1} = 10^{(P'_2 - P'_1) / 2}$$

Dari hubungan ini dapat terlihat bahwa  $k'=64$  dalam 30/70 MeOH/pelarut air, kemudian komposisi pelarut yang mana akan memberikan nilai  $k' =5$  dalam 73/27 MeOH/air.

## Prosedur

### A. Operasional Kromatografi Cair

Catatan : Jangan pernah membiarkan pompa beroperasi tanpa filter pelarut terendam dalam pelarut

Pilih panjang gelombang UV-sinar tampak dan nyalakan detektor untuk standby. Setelah 1 menit nyalakan detektor ke posisi ON. Pengaturan 0,04AUFS akan cukup.

Jika pompa belum dinyalakan, pertama pilih *solvent line* yang diperlukan (solvent select dial) dan keluarkan solvent line dengan gambar sekitar 20 mL pelarut keluar melalui *flush outlet* (berada dibawah solvent select dial). Lakukan ini dengan menggunakan syringe, masukkan dalam outlet, buka katup dan keluarkan solvent. Tutup katup kembali.

Pada saat pelarut telah terpilih dengan tepat, turn on pompa dan secara perlahan naikkan laju aliran pada level yang diinginkan. Tunggu sekitar 15-20 detik antara tiap kenaikna dalam pengaturan aliran. Bila aliran telah di-set, tunggu paling tidak 15 menit agar kolom menyesuaikan dengan pelarut yang baru sebelum menginjeksikan sampel.

Bila aliran pelarut diubah pada saat running, misal dari 0,8 ke 1,2 mL/menit, lakukan pengaturan ke aliran yang baru dengan perlahan dan tunggu 5-10 menit hingga stabil.

Jika aliran pelarut harus dihentikan, kurangi "thumbwheel setting" dengan perlahan ke angka nol, dan switch off pompa. Pada saat ini, pelarut dapat diubah ke pilihan selanjutnya.

Melakukan Injeksi : Semua volume injeksi yang akan dilakukan adalah 10 $\mu$ L. Bilas syringe beberapa kali dengan pelarut dan sampel sebelum mengambil 10 $\mu$ L *aliquot*. Pastikan tidak terdapat gelembung udara dalam tabung syringe yang mungkin masuk. Putar katup injeksi ke "load", putar *retaining arm* kebawah untuk melepas *plug stopper* dan cabut plug. Masukkan jarum syringe ke dalam *injection loop* dan injeksikan larutan. Kembalikan plug, putar *retaining arm* untuk mengencangkan plug, dan selesaikan injeksi dengan cara memutar katup ke posisi "inject". Pencatat (recorder) akan start secara otomatis.

Pengaturan recorder : Menggunakan Shimadzu recorder. Atur speed pada 5, dan attenuation pada 3.

Shut-down procedure : Pada saat kromatogram terakhir telah terekam kolom sebaiknya dikembalikan ke kondisi yang sesuai untuk storing, yang mana ini berarti kolom harus disiram dengan 50/50 MeOH/air pada 1 mL/menit selama sekitar 20-30 menit dan kemudian laju aliran dikembalikan ke nol. Maka ganti

dengan pelarut ini dengan menggunakan prosedur sebelumnya dan lakukan seperti diatas.

## B. Studi Kromatografi

Dua sampel yang akan dianalisa ;

SAMPEL 1 : Uracil dan acenaphthene

SAMPEL 2 : Naphtalene, phenanthrene dan anthracene

Uracil umumnya dipakai untuk menunjukkan kekosongan volume atau waktu untuk puncak yang tidak tertahan ( $t_0$ ), dan akan melulusi layak dengan cepat. Hal ini akan membantu dalam perhitungan nilai  $k'$ . Phenanthrene dan anthracene elute sebagai sepasang puncak yang berdekatan, sehingga akan berguna jika kita akan memperkirakan resolving power dari suatu kolom. Berikut eksperimen yang akan dilaksanakan :

Tetapkan aliran dari 60/40 acetonitrile/air pada 0,8 mL/menit

(1) Injeksikan 10  $\mu$ L air. Catat "water dip"

(2) Injeksikan 10  $\mu$ L acetonitrile. Catat respon yang terjadi

(3) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 1

Naikkan laju aliran ke 1,2 mL/menit

(4) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 1

Naikkan laju aliran ke 1,6 mL/menit

(5) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 1

(6) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 2

Ubah pelarut ke 75/25 acetonitrile/air dan laju aliran ke 1,6 mL/menit. Biarkan kolom untuk menyeimbangkan. (Catatan : Periksa dengan asisten lab sehubungan dengan perubahan pelarut)

(7) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 1

(8) Injeksikan 10  $\mu$ L sampel 2

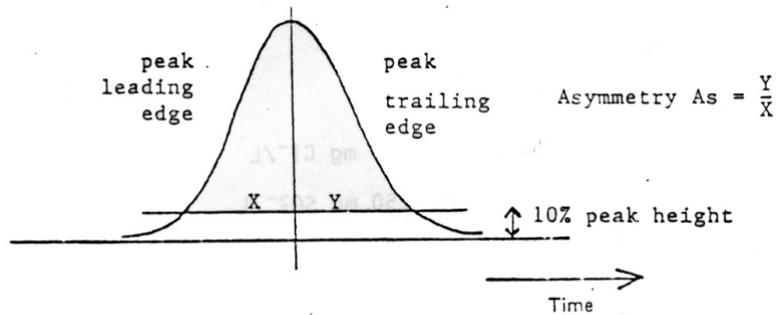
Bila semua prosedur di atas telah diselesaikan, lakukan prosedur shutdown.

### **Perhitungan dan Pertanyaan**

1. Untuk setiap kromatogram sampel 1, hitung  $k'$ , total plates ( $n$ ,  $N$ ), tinggi plate ( $h$ ,  $H$ ) dan tinggi reduced plate.
2. Untuk setiap kromatogram sampel 2, hitung nilai  $k'$ , dan resolusi ( $R_s$ ) dari pasangan puncak yang berdekatan.
3. Hitung asimetri puncak dari acenaphthene dalam satu kromatogram (ditentukan dengan mengambil rasio jarak dari peak maximum, atau mode, ke trailing edge puncak, jarak dari peak mode ke leading edge puncak, pada 10% tinggi puncak) Ini mungkin akan berguna untuk penyimpanan kemampuan dari recording integrator sehingga puncak dapat dianalisa kembali pada chart speed yang lebih cepat untuk pengukuran akurat dari jarak yang terlibat. (Acuan pada diagram di bawah).
4. Beri komentar pada pengamatan dari "solvents dip".
5. Beri komentar tentang bagaimana  $k'$  bervariasi dengan laju aliran dan komposisi pelarut. Apakah  $k'$  bervariasi sesuai dengan yang Anda harapkan ?
6. Beri komentar tentang bagaimana efisiensi bervariasi dengan laju aliran.
7. Beri komentar tentang bagaimana  $R_s$  bervariasi dengan komposisi pelarut, dan nyatakan bagaimana  $R_s$  mungkin bervariasi dengan laju aliran.
8. Bandingkan dengan teliti hasil yang diperoleh dalam eksperimen 5 dan 7, berkenaan dengan area puncak dan tinggi puncak dari urasil dan acenaphthene. Jelaskan pengamatan Anda. Aplikasikan alasan Anda pada perbandingan hasil dalam eksperimen 6 dan 8.

9. Apakah Anda percaya bahwa urasil merupakan bahan terlarut (solute) efektif untuk estimasi ?

Measurement of peak asymmetry



### Praktikum 5 : Waktu Retensi dalam Kromatografi Ion

Prosedur :

- (a) Berikut larutan yang tersedia :
- (i) 1000 mg  $F^-/L$
  - (ii) 1000 mg  $Cl^-/L$
  - (iii) 1000 mg  $NO_3^-/L$
  - (iv) 1000 mg  $SO_4^{2-}/L$
- (b) Siapkan paling tidak 100 mL larutan berikut (sebaiknya menggunakan deionised water)
- (i) 250 mg  $NO_3^-/L$
  - (ii) 25 mg  $NO_3^-/L$
  - (iii) 2,5 mg  $NO_3^-/L$
  - (iv) 25 mg  $NO_3^-/L$  dan 250 mg  $Cl^-/L$

(v) 25 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  dan 250 mg  $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$

(vi) 250 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  dan 250 mg  $\text{Cl}^-/\text{L}$  dan 250 mg  $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$

- (c) Set up kromatografi ion berdasarkan instruksi yang terdapat pada instrumen. Output range sebaiknya 30 uS dan nilai-nilai berikut dimasukkan dalam integrator :

Attenuation	2?9
Width	5
Slope	4000
Method	3061
Format	11

- (d) Rekam kromatogram (paling sedikit 2) dari larutan 25 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  (yaitu larutan (ii)) dan catat waktu retensi dari puncak nitrat.
- (e) Rekam paling sedikit lima kromatogram lainnya dengan menggunakan larutan yang sama dan waktu hitung retensi rata-rata bersama dengan standard deviasi.
- (f) Rekam kromatogram (paling sedikit 2) untuk setiap sisa larutan dari (b). ( Anda perlu melakukan perubahn pada output range)
- (g) Buatlah tabel waktu retensi puncak nitrat dari setiap larutan. Beri komentar pada hasil mengenai keseimbangan yang terlibat dalam langkah pemisahan. Data retensi sering dipakai untuk mengidentifikasi puncak-puncak dalam bentuk lain kromatografi; beri komentar tentang bagaimana hal ini akan berguna dalam kromatografi ion dan beri saran mengenai cara pasti untuk menetapkan indentitas puncak.

## Praktikum 6 : Analisa Anion menggunakan Kromatografi Ion

Air PDAM mengandung sejumlah ion termasuk  $F^-$  (0,5 – 1 ppm),  $Cl^-$  (15 -20 ppm),  $NO_3^-$  (1-2 ppm) dan sulfat (5-10 ppm). Dengan menggunakan larutan standar gabungan, dapat dibuat kurva kalibrasi untuk semua anion tersebut tanpa harus running kromatografi setiap ion.

### Prosedur :

- (a) Siapkan larutan dengan komposisi berikut (gunakan deionised water)

$F^-$	2 mg/L
$Cl^-$	50 mg/L
$NO_3^-$	5 mg/L
$SO_4^{2-}$	20 mg/L

Siapkan paling sedikit 200 mL larutan, pikirkan secara teliti bagaimana Anda akan menyiapkan larutan tersebut karena Anda sebaiknya menghindari pengenceran besar dalam satu langkah.

- (b) Gunakan larutan pada (a), siapkan tiga larutan lainnya dengan rangkaian dua kali pengenceran menggunakan deionised water. Pada akhirnya Anda harus memiliki serangkaian larutan standar berikut :

Ion	Konsentrasi (mg/L)			
$F^-$	2	1	0,5	0,25
$Cl^-$	50	25	12,5	6,25
$NO_3^-$	5	2,5	1,25	0,625
$SO_4^{2-}$	20	10	5	2,5

- (c) Ubah nilai FORMAT pada integrator menjadi 9 dan OUPUT range pada 2010i ke 100 uS dan rekam kromatogram dari tiap larutan (tiap larutan dua kromatogram) sebaik blank deionised water. Plot kurva tinggi puncak vs konsentrasi dan area puncak vs konsentrasi untuk setiap ion.
- (d) Rekam kromatogram tiga kali dari air destilasi dan air ledeng dan gunakan kurva kalibrasi yang dihasilkan untuk menentukan konsentrasi dari  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  dalam kedua jenis air. Laporkan rata-rata dan range untuk setiap jenis air.
- (e) Beri komentar dari hasil yang didapat dari tinggi dibandingkan dengan area dan beri komentar secara umum mengenai penggunaan kromatografi ion untuk analisis anion.

## PROSEDUR OPERASIONAL UNTUK KROMATOGRAF ION DIONEX 2010I

### Prosedur Start Up (Anion)

1. Periksa bahwa terdapat cukup eluen (paling tidak > 1L) dan regenerant dalam reservoir.
2. Turn on silinder udara dan pastikan tekanan melewati 600 kPa.
3. Tekan tombol POWER. Indicator light akan menyala; sistem 1 akan menunjukkan A OFF dan B OFF
4. Atur small pressure gauge yang dihubungkan dengan regenerant reservoir ke antara 3-5 psi. Periksa regenerant benar-benar mengalir dengan cara megamati aliran ke dalam waste beaker.
5. Pilih nomer eluen (No1 0,0024M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / 0,003M NaHCO<sub>3</sub>)
6. Tekan tombol STOP/START untuk mengaktifkan pompa
7. Atur FLOW pada 1,5 mLmenit<sup>-1</sup>. Periksa bahwa tekanan tidak melewati 1300 psi dan eluen benar-benar mengalir dengan cara megamati aliran ke dalam waste beaker.
8. Biarkan beberapa menit hingga stabil. Tekanan seharusnya relatif stabil dan lampu READY seharusnya on. Jika hal tersebut tidak terjadi dalam 5-10 menit, konsultasikan dengan asisten lab.
9. Tunggu sampai hingga pembacaan konduktivitas stabil (mungkin membutuhkan lebih dari 15-20 menit). Nilai yang ditunjukkan seharusnya 30 uS.
10. Tekan tombol AUTO OFFSET. Pada readout seharusnya terbaca 0,00 uS dan stabil.
11. Pilih OUTPUT RANGE yang diperlukan. Biasanya 30 uS. Catat puncak dengan konduktivitas maksimum yang lebih besar daripada output range tidak dapat dikarakterisasi dengan baik karena puncak akan terpotong. Penyesuaian sensitivitas dalam

kasus ini harus dilakukan dengan menggunakan OUTPUT RANGE control daripada attenuation control pada integrator.

### **Prosedur Injeksi**

1. Pastikan tombol LOAD/INJECT dalam posisi LOAD. Jangan gunakan tombol ini lagi jika tidak diperlukan; switching antara LOAD dan INJECT yang sangat cepat sering dipakai pada katup mahal.
2. Gunakan syringe untuk memasukkan 23 mL sampel melalui sampel injection port. ..
3. Tekan tombol LOAD/INJECT sekali dan start integrator secara bersamaan. Tombol LOAD/INJECT akan berada pada posisi INJECT paling tidak selama satu menit; tidak perlu mengembalikan tombol ke posisi LOAD sampai Anda siap untuk memasukkan sampel berikutnya.
4. Amati readout konduktivitas untuk memastikan bahwa output range tidak terlewati. Dengan attenuation pada CR3A atur pada 2?10, output range 2010i akan full scale pada integrator.

### **Prosedur Shut-down**

1. Cuci sampel loop dengan cara mengatur LOAD/INJECT ke LOAD dan masukkan 8-10 mL deionised water.
2. Putar FLOW ke 0,0 mL menit<sup>-1</sup>
3. Matikan pompa dengan menekan tombol STOP/START
4. Turunkan tekanan pada gauge yang dihubungkan pada regenerant reservoir dan .....
5. Matikan POWER
6. Matikan air cylinder

## **Ringkasan Kromatografi**

### **Kromatogram Diferensial**

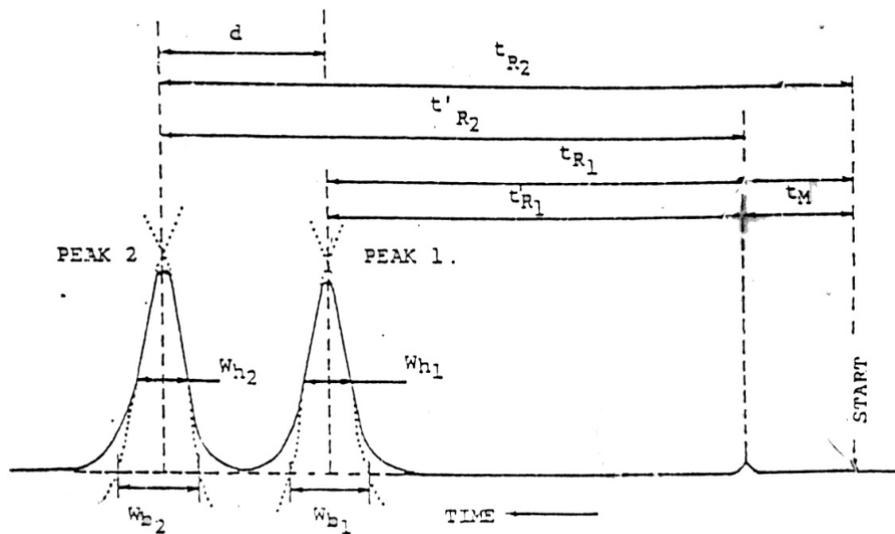
#### **Pendahuluan**

Detektor diferensial, sering digunakan dalam kromatografi, dapat merespon konsentrasi analit (solut) dalam fase gerak disetiap saat. Respon detektor grafis berupa kromatogram diferensial. Menurut sejarah, kromatogram dihasilkan pada chart recorder yang dihubungkan ke detektor dengan chart moving pada kecepatan yang diketahui dan konstan. Format dengan tipe yang sama telah disimpan oleh integrator digital modern dan kromatogram mula-mula dari chart recorder masih dapat diaplikasikan pada integrator modern.

Kromatogram diferensial yang secara dasar terdiri dari serangkaian puncak yang dihasilkan dalam satu waktu mempunyai keuntungan berikut :

- (1) Dapat menentukan pusat puncak secara akurat
- (2) Pemisahan parsial dapat segeraterlihat nyata
- (3) Jumlah yang lebih kecil akan teridentifikasi lebih nyata daripada tipe integral detektor.

#### **Istilah dasar dan Hubungan Kromatogram Diferensial**



### Kromatogram diferensial

- $t_m$  = waktu retensi yang teramati dari bahan terlarut yang tidak tertahan ( waktu gas tertahan,, puncak udara, water dip, solven front dll) (cm, min)
- $t_R$  = waktu retensi yang diukur dari awal (injeksi), (cm, min)  
 indeks R menunjukkan puncak 1 dan 2
- $t'_R$  = waktu retensi yang disesuaikan diukur dari waktu bahan terlarut yang tidak tertahan (cm, min)
- $W_h$  = lebar puncak pada setengah tinggi (cm, min)  
 Indeks h menunjukkan puncak 1 dan 2
- $W_b$  = lebar dasar puncak pertemuan dari garis lereng yang berpotongan degan garis dasar chromatogram (cm.min).  
 Indeks b menunjukkan puncak 1 dan 2
- $d$  = waktu antara puncak 1 dan 2 (juga ?t antara puncak 1 dan 2) (cm, min)

Semua istilah diatas dapat dihubungkan ke jarak pada chart recorder

### Istilah Operasional Kolom

- n = number of theoretical plates  
L = panjang kolom  
h = height equivalent to one theoretical plate (HETP) cm, m  
 $\bar{\mu}$  = kecepatan gas linier rata-rata cm/detik, cm/menit  
a = retensi relatif dari dua puncak yang bersebelahan  
R = Resolusi dari dua puncak yang bersebelahan  
k' = rasio (kapasitas) partisi

### Persamaan yang diperoleh :

- (i) Waktu retensi yang disesuaikan ( $t'_R$ )

$$t'_R = t_R - t_m$$

- (ii) Number of Theoretical Plates, n

$$n = 16 \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2 = 5,54 \left( \frac{t_R}{W_h} \right)^2$$

- (iii) High Equivalent to a theoretical Plate, h

$$h = \frac{L}{n}$$

- (iv) Kecepatan gas linier rata-rata (GC)

$$\bar{\mu} = \frac{L}{t_m}$$

(v) Faktor kapasitas  $k'$

$$k' = \frac{t'_{R2}}{t_m}, \frac{t_R}{t_m} - 1$$

(vi) Retensi relatif dua puncak

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{k'_2}{k'_1}$$

(vii) Resolusi antara dua puncak

$$R = \frac{2d}{W_{b1} - W_{b2}}$$

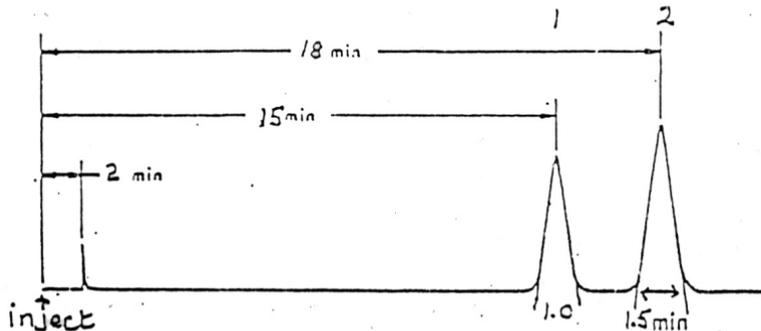
(viii) Waktu analisa,  $t_R$

$$t_R = (k' - 1) \frac{L}{\mu}$$

## Peristilahan dalam kromatografi

Tugas ini akan disampaikan dan diselesaikan dengan tugas pertama kromatografi gas yang telah diambil

**Tujuan** : untuk membiasakan siswa dengan istilah yang digunakan dalam kromatografi



Dari kromatogram di atas, hitung atau tunjukkan :

- (1) Berapa waktu gas tertahan  $t_m$  ?
- (2) Hitung “number of theoretical plates” untuk puncak 2 ?
- (3) Berapa “High Equivalent to a Theoretical Plate” dengan panjang kolom 2 meter ?
- (4) Berapa waktu retensi yang disesuaikan  $t'_R$  (min) puncak 2 ?
- (5) Berapa percepatan gas linier rata-rata jika panjang kolom 2 meter ?
- (6) Berapa faktor kapasiats untuk kedua puncak ?
- (7) Berapa retensi relatif ?
- (8) Berapa resolusi R untuk kedua puncak ?
- (9) Bagaimana  $t_m$  ditentukan dengan menggunakan kromatografi gas ?
  - (i) Flame Ionization Detector
  - (ii) Thermal Conductivity Detector

## **BAHAN BACAAN**

- BASSET, *et al.* (ed.). 1983. Vogel's Text Book of Quantitative Inorganic Analysis. 4<sup>th</sup> ed. Longman Inc. London
- Ettre, L.S. 1975. Practical Gas Chromatography. For users of Perkin-Elmer Gas Chromatograph
- Freeman, R.R. 1981. High Resolution Gas Chromatography. Hewlett-Packard. 2nd Edition.
- FRITZ and SCHENK. 1979. Quantitative Analytical Chemistry. 4<sup>th</sup> ed. Allyn and Bacon Inc. Boston
- Harvey, D. 2000. Modern Analytical Chemistry. Mc Graw Hill. New York.
- Mc Nair, H.M. and E.J. Bonelli. 1969. Basic Gas Chromatography. Varian Associates.
- PETERS, *et al.* 1974. Chemical separation and measurements. Saunders Co. Philadelphia
- Poole, C.F. and S.A. Schuette. 1984. Contemporary Practice of Chromatography. Elsevier.
- Rowland, F.W. 1974. The Practice of Gas Chromatography. Avodale Division of Hewlett Packard
- Snyder, I.R. and J.J. Kirland. Introduction to Modern Liquid Chromatography. Wiley-Interscience
- Zweig, G. and J. Sherma. Handbook of Chromatography. C.R.C. Press Inc

ISBN 978-602-8320-40-5

Buku ini telah dinilai oleh Badan Standar Nasional Pendidikan (BSNP) dan telah dinyatakan layak sebagai buku teks pelajaran berdasarkan Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008 tentang Penetapan Buku Teks Pelajaran yang Memenuhi Syarat Kelayakan untuk digunakan dalam Proses Pembelajaran.

HET (Harga Eceran Tertinggi) Rp.28.578,00