

MATERI PRAKTIKUM

ANALISIS INSTRUMENTAL



Disusun oleh :

1. apt. Drs. I Wayan Redja, M.Chem
2. Dr. apt. Zuhelmi Aziz, M.Si.
3. Dr. apt. Liliek Nurhidayati, M.Si.

**UNIVERSITAS PANCASILA
FAKULTAS FARMASI
JAKARTA
2026**

UNIVERSITAS PANCASILA

FAKULTAS FARMASI

JAKARTA



**PERSETUJUAN MATERI PRAKTIKUM
PRODI SARJANA**

Mata Praktikum	:	Analisis Instrumental
Semester	:	II (dua)
Beban SKS	:	1 (satu)
Tahun akademik	:	2025/2026

Jakarta, 24 Februari 2026

Mengetahui:

Kaprodi S1

Prof. Dr. apt. Esti Mumpuni, M.Si.

Disetujui oleh:

Koordinator

Dr. apt. Liliek Nurhidayati, M.Si.

Percobaan 01

PENGECEKAN KONDISI SPEKTROFOTOMETER ULTRAVIOLET DAN CAHAYA TAMPAK

Kondisi dari suatu spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak harus dicek secara berkala misalnya dua bulan sekali. Beberapa prosedur pengecekan yang penting antara lain panjang gelombang, serapan (keakuratan fotometrik) dan linearitas fotometrik.

Pengecekan ini merupakan salah satu komponen penting dari suatu rangkaian program jaminan mutu terhadap hasil penyajian laboratorium, khususnya pengujian yang menggunakan spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak. Dari hasil pengecekan dapat diketahui apakah alat tersebut masih dapat dipercaya atau tidak sebagai alat ukur, atau apakah alat tersebut perlu diservis/dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan lebih lanjut.

Pengecekan panjang gelombang

Skala panjang gelombang dikalibrasi dengan menggunakan serapan maksimum holmium perklorat LP, spektrum garis lampu hidrogen atau deuterium atau spektrum garis lampu busur uap raksa yang ditunjukkan di bawah ini. Toleransi yang diperkenankan lebih kurang 1 nm untuk jangkauan 200 nm hingga 400 nm dan lebih kurang 3 nm untuk jangkauan 400 nm hingga 600 nm.

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,70 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Hg)	486,00 nm (D β)
302,25 nm (Hg)	486,10 nm (H β)
313,16 nm (Hg)	536,30 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,50 nm (Hg)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

Pengecekan panjang gelombang dapat dilakukan juga dengan filter didymium (530 nm); filter holmium oksida (360,8 nm), garis dari lampu D2 (486,0 nm dan 656,8 nm) atau spektrum dari serapan uap benzene (236,35; 241,59; 247,10; 248,08; 252,86 ; 253,90 ; dan 259,98). Angka di dalam kurung adalah panjang gelombang serapan maksimum dari masing-masing standar. Hasil pengukuran harus sesuai dengan spesifikasi alat yaitu lebih kurang 1 nm dari maksimum standar.

Pengecekan serapan atau keakuratan fotometrik

Biasanya dilakukan dengan menggunakan: Filter gelas NBS-SRM-930 atau dapat juga dengan larutan KNO₃ %b/v (A1%, 1 cm pada 302 nm = 0,70 – 0,71), larutan K₂CrO₄ 40 mg/L KOH 0,05 N (serapan pada 370nm A= 0,987) atau larutan 60,25 mg K₂Cr₂O₇/L H₂SO₄ 0,01 N. Dengan cara terakhir akan diperoleh data sebagai berikut:

1. Serapan pada 235 nm, 257 nm, 313 nm dan 350 nm berturut-turut adalah 0,747; 0,869; 0,293 dan 0,644
2. Penyimpangan maksimum dari skala penuh pada 210 – 450 nm lebih kurang 1%.

Pengecekan linearitas fotometrik

Dimaksudkan untuk mengetahui penampilan alat secara umum. Untuk itu digunakan larutan standar yang memenuhi hukum beer, misalnya deret suatu seri larutan K_2CrO_4 dalam KOH 0,05 N pada 370 nm atau larutan $K_2Cr_2O_7$ dalam H_2SO_4 0,01 N dibuat kurva kalibrasi. Hasil pengecekan dikatakan baik apabila kurva yang dihasilkan merupakan garis lurus yang melalui titik 0.

A. PENGECEKAN LINEARITAS FOTOMETRIK

1. Bahan: Kalium kromat, murni pereaksi
Kalium hidroksida 85% murni pereaksi.
2. Alat : Spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak (Sebaiknya dilengkapi dengan recorder)
3. Metode
 - a. Timbang 3,3 g KOH (85%), larutkan dalam air hingga 1 liter. Kadar larutan adalah 0,05 N KOH.
 - b. Timbang seksama lebih kurang 40 mg K_2CrO_4 larutkan dalam KOH 0,05 N 1 liter. Larutan ini adalah larutan persediaan dan kadarnya 40 bpj K_2CrO_4 .
 - c. Pembuatan larutan K_2CrO_4 8, 16, 24 dan 32 bpj dalam KOH 0,05 N. Pipet ke dalam 4 buah labu tentukur 50 mL, masing-masing 10, 20, 30 dan 40 mL larutan persediaan K_2CrO_4 40 bpj, lalu encerkan dengan KOH 0,05 N secukupnya hingga 50 ml.
 - d. Ukur serapan dari masing-masing larutan tersebut termasuk larutan persediaan menggunakan sel 1 cm pada panjang gelombang 370 nm.
 - e. Buat kurva kalibrasi dan simpulkan percobaan anda.

B. PENGECEKAN PANJANG GELOMBANG DAN SERAPAN

B.1. PANJANG GELOMBANG

- a. Teteskan 1 tetes benzen ke dalam sel silica 1 cm lalu tutup sel dengan baik.
- b. Buat spektrum serapan pada 220-265 nm dan tentukan panjang gelombang serapan maksimum.
- c. Hitung selisih panjang gelombang serapan maksimum yang didapat dengan panjang gelombang serapan maksimum dari benzen pada : 236,35 nm; 241,59 nm; 247,10 nm; 248,08 nm; 252,86 nm; 253,90 nm; 258,90 nm dan 259,98 nm.
- d. Simpulkan hasil pekerjaan anda.

B.2. PENGECEKAN SERAPAN

- a. Buat larutan 60,25 mg $K_2Cr_2O_7$ /L H_2SO_4 0,01 N.
- b. Buat spektrum serapan pada 210-450 nm. Tentukan puncak dan lembah dari spektrum serapan
- c. Ukur serapan dengan sel 1 cm pada panjang gelombang: 235 nm; 257 nm; 313 nm dan 350 nm.

Bandingkan dengan ketentuan Farmakope Indonesia sebagai berikut:

Panjang gelombang (nm)	A(1%, 1cm)	Toleransi maksimum
235	124,5	122,9 hingga 126,2
257	144,0	142,4 hingga 145,7
313	48,6	47,0 hingga 50,3
350	106,6	104,9 hingga 108,2

- d. Hitung keakuratan fotometrik dari alat yang anda pergunakan.
- e. Simpulkan hasil percobaan anda.

PUSTAKA

1. K.A. Connors, "A Textbook of Pharmaceutical Analysis", 3rd Ed. John Wiley & Sons, new york, 1982, DP. 638-640.
2. F.M Carfield, "Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories". Association of Official analytical Chemist, Inc. Virginia, 1984.
3. Farmakope Indonesia edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1995
4. Farmakope Indonesia edisi V, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 2014

Percobaan 02

IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR INJEKSI SIANOKOBALAMIN

Tujuan percobaan ini untuk menunjukkan penggunaan spektrofotometer UV-VIS sebagai alat identifikasi menggunakan harga perbandingan serapan dan penetapan kadar larutan berwarna menggunakan ($A_{1\%}, 1\text{ cm}$).

Perbandingan harga serapan pada dua panjang gelombang tertentu besarnya tertentu pula sehingga bisa digunakan untuk identifikasi zat tersebut.

Larutan berwarna sebenarnya masih dapat diukur dengan kolorimeter yang lebih murah harganya. Spektrofotometer UV-VIS harganya lebih mahal tetapi kemampuannya lebih luas yaitu mengukur langsung larutan berwarna maupun larutan tidak berwarna.

Beberapa hal yang harus diperhatikan pada penggunaan $A(1\%, 1\text{ cm})$ untuk penetapan kadar yaitu:

1. Alat harus dikalibrasi dengan baik.
2. Harga $A(1\%, 1\text{ cm})$ yang tercantum di literatur perlu dicek dengan alat yang kita gunakan.
Harga $A(1\%, 1\text{ cm})$ yang digunakan untuk perhitungan adalah yang diperoleh dari alat yang kita gunakan.

Kesimpulan dari cara ini yaitu cepat dan tidak perlu baku pembanding.

A. Bahan

Injeksi sianokobalamin 500 $\mu\text{g/ml}$, ampul 1 mL.

B. Alat

1. Spektrofotometer UV-VIS
2. Labu tentukur 100 mL
3. Pipet volumetrik 5 mL
4. Gelas piala (beaker) 100 mL.

C. Metode

1. Identifikasi

- a. Keluarkan isi dari 10 ampul injeksi sianokobalamin ke dalam gelas piala 50 mL.
- b. Pipet 5 mL Injeksi sianokobalamin tersebut ke dalam labu tentukur 100-mL, tambahkan air hingga 100 mL.
- c. Ukur serapan setebal 1 cm pada panjang gelombang maksimum lebih kurang: 550 nm, 361 nm, dan 278 nm.
- d. Hitung perbandingan serapan pada:
(I) 361 nm : 550 nm (F_{VI} : 3,15 – 3,40)
(II) 361 nm : 278 nm (F_{VI} : 1,70 – 1,90)

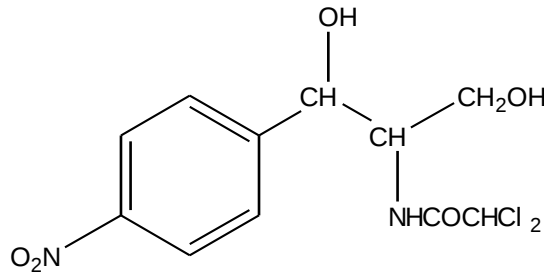
2. Penetapan kadar

- a. Hitung kadar $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ dengan menggunakan harga $A(1\%, 1\text{ cm})$ pada maksimum lebih kurang 361 nm adalah 207.
- b. Hitung kadar $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ dengan kurva kalibrasi.
 - 1) Buat larutan baku induk sianokobalamin 500 bpj
 - 2) Pipet masing-masing 2,4,6,8 dan 10 mL larutan induk, masukkan labu tentukur 100 mL, encerkan dengan air hingga tanda.
 - 3) Ukur serapan dari masing-masing larutan tersebut menggunakan sel 1 cm pada panjang gelombang 361 nm
 - 4) Buat kurva kalibrasi.
 - 5) Hitung kadar $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ dengan kurva kalibrasi.

Pustaka

Farmakope Indonesia Edisi VI, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 2020

PENETAPAN KADAR KAPSUL KLORAMFENIKOL SECARA SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET



Struktur kloramfenikol

Kloramfenikol larut dalam air 2,5 mg/mL dan disamping itu juga larut dalam alkohol, aseton, dan etil asetat. Meskipun larutan kloramfenikol dalam air cukup stabil, tetapi pecahnya ikatan karbon-klor dan hidrolisis gugusan amida dapat terjadi.

Larutan kloramfenikol dalam air mempunyai puncak serapan yang lebar dengan maksimum pada 278 nm. Serapan ini terutama disebabkan oleh gugusan p-nitrofinil, sehingga kloramfenikol yang telah terurai juga dapat mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang tersebut.

Oleh karena itu untuk menghindari kesalahan karena hal ini, penetapan kloramfenikol secara spektrofotometri dilakukan setelah terlebih dahulu dilakukan pemisahan kromatografik, menggunakan asam silikat dengan eluen larutan etil asetat 10% v/v dalam kloroform.

Harga daya serap jenis, $A(1\%, 1\text{ cm})$, dari kloramfenikol pada 278 nm adalah 298. Adapun tujuan dari percobaan ini adalah untuk memahami penggunaan harga $A(1\%, 1\text{ cm})$ sebagai dasar perhitungan penetapan kadar termasuk kebaikan dan keburukannya.

PERCOBAAN

A. Bahan

1. Kloramfenikol PK (Pembanding Kimia)
2. Kapsul kloramfenikol, 250 mg.

B. Alat

1. Spektrofotometer ultraviolet – cahaya tampak
2. Labu tentukur 1000 mL, 500 mL masing-masing 1 buah dan 100 ml 5 buah.
3. Pipet volumetrik 10 mL, 1 buah
4. Pipet berskala 10 mL, 1 buah.

C. Metode

- I. Penetapan Harga $A(1\%, 1\text{ cm})$ dari kloramfenikol.
 1. Timbang seksama lebih kurang 100 mg kloramfenikol pembanding kimia, larutkan dalam air secukupnya hingga 500,0 ml.
 2. Ke dalam 4 buah labu 100 ml, pipet berturut-turut 4 mL, 6 ml, 8 mL, dan 10 mL larutan tersebut diatas, lalu encerkan masing-masing dengan air secukupnya hingga 100 ml.
 3. Ukur serapan 1 cm dari masing-masing larutan tersebut mulai dari larutann yang paling encer pada panjang gelombang lebih kurang 278 nm.

4. Tetapkan harga $A(1\%, 1 \text{ cm})$ dari kloramfenikol pada panjang gelombang serapan maksimum.
5. Bandingkan hasilnya dengan yang ada di literatur, lalu buat kesimpulan mengenai hal itu.

II. Penetapan kadar kapsul kloramfenikol.

1. Timbang isi dari 20 kapsul, campur dengan homogen.
2. Timbang seksama sejumlah isi kapsul setara dengan 200,0 mg kloramfenikol.
3. Masukkan ke dalam labu tentukur 1000 mL, larutkan dalam 800 ml air, bila perlu hangatkan hingga larut sempurna, lalu tambahkan air secukupnya hingga 1000,0 mL.
4. Pipet 10 mL larutan tersebut ke dalam labu tentukur 100 ml, encerkan dengan air secukupnya hingga 100,0 mL.
5. Ukur serapan 1 cm larutan pada maksimum lebih kurang 278 nm.
6. Hitung kadar (mg $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$ per kapsul) menggunakan harga $A(1\%, 1 \text{ cm}) = 298$.
7. Hitung % $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$ per kapsul dihitung terhadap jumlah yang tertera pada etiket. Simpulkan apakah kadar kapsul tersebut memenuhi syarat menurut FI VI?

SOAL

1. Jelaskan kebaikan dan keburukan penggunaan harga $A(1\%, 1 \text{ cm})$ sebagai dasar perhitungan kadar.
2. Pada metode di atas disebutkan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 278 nm. Jelaskan maksud pernyataan lebih kurang disini.
3. Tuliskan suatu metode penetapan kloramfenikol secara spektrofotometri setelah pemisahan dengan kromatografi kolom.
4. Dalam praktek rutin, perhitungan biasanya dilakukan dengan memasukkan hasil-hasil pengamatan ke dalam suatu rumus. Misalnya pada percobaan di atas kadar (%) kloramfenikol per kapsul dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{Au \times W \times 100.000}{298 \times Wu \times 250} \times 100\%$$

Dimana:

Au = serapan larutan uji

W = bobot rata-rata isi kapsul, mg

Wu = bobot isi kapsul yang diuji, mg

298 = $A(1\%, 1 \text{ cm})$ dari kloramfenikol pada 278 nm.

Jelaskan cara menurunkan rumus tersebut.

Pustaka

Farmakope Indonesia Edisi VI, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 2020, hal. 906

SPEKTROFOTOMETER INFRAMERAH

I. KALIBRASI SPEKTROFOTOMETER INFRAMERAH

A. PENDAHULUAN

Spektrofotometer inframerah harus dikalibrasi secara berkala agar terjamin keakuratan dari pembacaan frekuensi atau bilangan gelombang yang dihasilkan. Pada umumnya kesalahan yang timbul dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Kesalahan linear
Dimana besar pergeseran skala panjang gelombang semuanya konstan
2. Kesalahan non-linear
Dimana variasi kesalahan berjenjang
3. Kesalahan tidak menentu

Yang dapat disebabkan oleh ketidakseragaman gerakan pengendali mekanik dari alat perekam. Oleh karena itu kesalahan frekuensi bervariasi di seluruh daerah panjang gelombang dan kurva kalibrasi harus dibuat. Cara paling sederhana untuk membuat kurva ini adalah dengan menggunakan spektrum baku pembanding. Spektrum semacam itu adalah spektrum dari film plastik polistiren. Bila dikehendaki hasil yang lebih akurat, dapat digunakan spektrum vibrasi-rotasi dari gas yang cocok. Pada umumnya campuran gas diperlukan untuk meliputi seluruh daerah panjang gelombang.

Gas batubara yang merupakan campuran gas kadang-kadang bermanfaat untuk maksud ini. Dengan mengetahui frekuensi dari baku pembanding maka dapat dibuat kurva kalibrasi yang merupakan grafik hubungan antara frekuensi dengan kesalahan frekuensi. Kurva semacam ini tidak mulus penampilannya dan pada umumnya merupakan garis-garis seperti gigi-gergaji yang tidak beraturan yang disebabkan oleh kombinasi dari kesalahan di atas.

B. METODE

1. Alat : Spektrofotometer 408 Shimadzu
2. Prosedur
 - a. Buat spektrum dari baku pembanding film polistiren dari 4000 cm^{-1} sampai dengan 650 cm^{-1}
 - b. Baca frekuensi dari puncak-puncak yang diperoleh dan bandingkan dengan frekuensi dengan menggunakan tabel sebagai berikut:
 - c. Buat kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara kesalahan frekuensi versus frekuensi eksperimental. Kurva kalibrasi tersebut dapat digunakan untuk mengoreksi frekuensi yang diperoleh pada pengukuran selanjutnya dari spektrofotometer tersebut.

No puncak (A)	Frekuensi baku cm^{-1} (B)	Frekuensi yang diperoleh(cm^{-1}) (C)	Kesalahan frekuensi cm^{-1} (B-C)
1	3026		
2	2924		
3	2851		
4	1946		
5	1802		
6	1603		
7	1495		
8	1155		
9	1029		
10	700		

II. SPEKTRA ZAT CAIR, ZAT SETENGAH PADAT DAN ZAT PADAT

A. PENDAHULUAN

Zat cair dapat dibuat spektrumnya dengan pengukuran langsung menggunakan teknik film kapiler yaitu: sampel dipres berupa lapisan tipis di antara dua sel atau dimasukkan ke dalam sel cairan (*sealed cells*) dengan ketebalan tertentu (0,05 – 2 mm) tergantung sifatnya.

Zat setengah padat, spektrumnya dapat dibuat langsung dengan teknik film kapiler seperti di atas. Zat padat, spektrumnya dibuat dengan beberapa teknik tergantung dari sifat zat padat tersebut. Lembaran plastik yang transparan dapat diukur langsung. Zat padat berupa serbuk atau kristal biasanya digerus dalam lumpang agat atau *vibrating ball mill* hingga halus ($< 2 \mu\text{m}$) kemudian didispersikan dalam paraffin cair (teknik mull) atau serbuk KBr (teknik cakram KBr). Kedua teknik ini bertujuan untuk mengurangi hilangnya energi karena penghamburan sinar. Hal ini tercapai bila perbedaan indeks bias antara zat padat terdispersi dengan medium pendispersi dibuat sekecil mungkin. Teknik mull relatif cepat, murah dan sederhana, namun spektrum yang dihasilkan diganggu oleh spektrum yang murni maka digunakan teknik cakram KBr.

B. METODE

Alat :

Spektrofotometer Inframerah IR 408 Shimadzu

Lumpang agat+alu

Sel NaCl atau KBr, "sealed cell" 0,05 mm

10 ton Press

Pompa vakum

Bahan :

Serbuk KBr kering, aseton, paraffin liquidum, asetosal, polietilen glikol, propilen glikol, paracetamol, benzyl alkohol, vaselin, adeps lanae

Prosedur

1. Zat cair sukar menguap

- Teteskan 1 tetes zat cair pada permukaan sel NaCl
- Tangkupkan sel yang satu lagi di atas sel tersebut sehingga zat cair tersebut membentuk lapisan film kapiler
- Letakkan sel pada "cell-holder"
- Rekam spektrum dari paraffin cair dan propilen glikol
- Identifikasikan gugus fungsional yang ada menggunakan tabel berikut:

Nama zat :

Fase :

Ketebalan :

No. puncak	Frekuensi (cm^{-1})	Gugus fungsional	Keterangan

2. Zat cair mudah menguap

- Masukkan aseton ke dalam *sealed-cell* (0,05 mm) menggunakan semprit
- Tutup sel tersebut, lalu dibuat spektrum dari aseton
- Cuci sel dengan benzen, sedot sisa uap benzen dengan penyedot karet.
- Ulangi percobaan menggunakan benzyl alkohol
- Identifikasikan gugus fungsional yang ada seperti butir 1-e

3. Zat setengah padat
 - a. Oleskan lebih kurang 100 mg vaselin pada permukaan sel NaCl
 - b. Tangkupkan sel yang satu lagi di atas tersebut sehingga vaselin membentuk lapisan tipis
 - c. Rekam spektrum dari vaselin tersebut
 - d. Cuci sel dengan benzene, ulangi percobaan dengan adeps lanae
 - e. Bandingkan kedua spektrum tersebut.
4. Zat padat
 - a. Film plastik
 - 1) Gunting lembaran plastik polietilen, masukkan dalam "plastik film-holder"
 - 2) Rekam spektrum serapan dari plastik tersebut
 - 3) Ulangi percobaan dengan plastik polipropilen
 - 4) Bandingkan kedua spektrum tersebut
 - b. Zat padat serbuk atau kristal
 - 1) Teknik mull
 - 1) Gerus 2-5 mg parasetamol dalam lumpang agat hingga halus
 - 2) Teteskan 1 atau 2 tetes nujol (paraffin cair), aduk hingga terbentuk pasta (mull)
 - 3) Korek pasta yang menempel pada lumpang dengan spatel mikro, kumpulkan pada ujung alu
 - 4) Gerus pasta sekali lagi hingga benar-benar homogen
 - 5) Pindahkan pasta dengan spatel mikro ke permukaan sel, lalu pres dengan yang lain hingga membentuk lapisan film kapiler
 - 6) Pasang sel pada "cell-holder"
 - 7) Rekam spektrum serapan dari parasetamol
 - 8) Ulangi percobaan menggunakan asetosal sebagai sampel
 - 9) Identifikasikan gugus fungsional pada spektra
 - 2) Teknik Cakram KBr
 - 1) Gerus dan campur 0,5-1,0 mg parasetamol dengan 100-200 mg serbuk KBr kering dalam lumpang agat atau *vibrating ball mill* selama lebih kurang 2 menit
 - 2) Masukkan campuran tersebut ke dalam pencetak khusus (punch & die) menggunakan spatel mikro
 - 3) Hubungkan pencetak dengan pompa vakum selama 1 menit, lalu pres dengan tekanan 10-15 psi selama 2 menit
 - 4) Lepaskan tekanan dan vakum lalu keluarkan cakram KBr
 - 5) Masukkan cakram ke dalam *KBr disc holder*, rekam spektrum dari parasetamol
 - 6) Ulangi percobaan menggunakan asetosal sebagai sampel
 - 7) Bandingkan spektrum yang diperoleh dengan spektrum yang menggunakan teknik mull

Pustaka:

1. A.H. Beckett and J.B. Stenlaks, "Practical Pharmaceutical Chemistry" 3rd ed, part II, The Athlone Press of The University of London, 1976
2. R.M. Silverstein et al, "Spectrometric Identification of Organic Compounds", Wiley International ed, John Wiley & Sons, Inc, N.Y.

ANALISIS KININ SULFAT SECARA SPEKTROFLUOROMETRI

A. Tujuan:

- Mampu menggunakan spektrofлуorometer
- Mampu melakukan analisis kuantitatif secara spektrofлуorometri

B. Alat:

- Spektrofлуorometer F-2000 Hitachi
- Alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis instrumental

C. Bahan:

- Kinin sulfat BP
- Kinin sulfat sampel
- Asam sulfat 0,1 N

D. Teori

Intensitas sinar yang dapat dipancarkan oleh suatu larutan yang berfluoresensi dalam batas tertentu merupakan fungsi dari kadar zat yang dilarutkan sehingga dapat digunakan untuk penetapan kadar. Pada umumnya sinar yang dipancarkan oleh larutan berfluoresensi mempunyai intensitas maksimum pada panjang gelombang 20 nm-30 nm lebih besar dari panjang gelombang pita penyerapan sinar yang membangkitkannya. Pada fluorometri larutan zat disinari dengan sinar yang panjang gelombangnya di sekitar panjang gelombang penyerapan maksimum yang berasal dari lampu raksa/lampu pijar yang telah disekat dengan filter. Intensitas fluoresensi diukur/dibandingkan dengan larutan baku. Sinar fluoresensi dibebaskan dari sinar hamburan dengan melewati sinar melalui filter/monokromator. Cara pengukuran pada dasarnya sama dengan cara spektrofotometri. Karena zat organik yang berfluoresensi mungkin terurai secara fotokimia, penyinaran harus dilakukan sesingkat mungkin. Karena daerah di mana intensitas fluoresensi sebanding dengan kadar umumnya sangat sempit, maka perbandingan:

$(c-d)/(a-b)$ tidak boleh kurang dari 0,40 dan tidak boleh lebih dari 2,50

Di mana:

- a = pembacaan intensitas fluoresensi larutan baku
- b = pembacaan intensitas fluoresensi larutan blanko untuk zat uji
- c = pembacaan intensitas fluoresensi larutan uji
- d = pembacaan intensitas fluoresensi larutan blanko untuk zat uji

Sebagai zat baku dapat digunakan zat yang sama dengan zat uji dalam keadaan murni atau zat murni lain yang mempunyai pita penyerapan dan fluoresensi yang sama dengan zat uji.

E. Prosedur:

1. Pembuatan larutan baku kinin sulfat

Pembuatan larutan baku induk kinin sulfas 100 bpj

Timbang saksama 10,0 mg kinin sulfas. Masukkan ke dalam labu tentukur 100-mL kemudian ditambah dengan 50 mL asam sulfat (H_2SO_4) 0,1 N dan gojog kuat hingga larut sempurna. Encerkan dengan H_2SO_4 0,1 N hingga tanda.

Pembuatan larutan baku intermediet 1 bpj

Pipet 1 mL larutan baku induk dan masukkan ke dalam labu tentukur 100 mL. Tambahkan H_2SO_4 0,1 N sampai tanda.

Pembuatan larutan seri baku pembanding 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 bpj

Pipet 1,2,3,4 dan 5 ml larutan intermediet, masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL dan diencerkan dengan H_2SO_4 0,1 N hingga tanda

2. Penyiapan sampel

Pembuatan larutan sampel induk

Timbang saksama 40 mg sampel. Masukkan ke dalam labu tentukur 100 mL kemudian tambah dengan 50 mL H_2SO_4 0,1 N dan gojog kuat hingga larut sempurna. Encerkan dengan H_2SO_4 0,1 N hingga tanda.

Pembuatan larutan sampel intermediet

Pipet 1 mL larutan sampel induk dan masukkan ke dalam labu tentukur 100-mL.

Tambahkan H_2SO_4 0,1 N hingga tanda

Pembuatan larutan uji

Pipet 1 mL larutan sampel intermediet dan masukkan dalam labu tentukur 100 mL.

Tambahkan H_2SO_4 0,1 N hingga tanda.

Lakukan replikasi sebanyak 2 kali.

3. Pengukuran

Ukur intensitas emisi masing-masing seri larutan baku dan larutan uji pada panjang gelombang eksitasi 250 nm dan panjang gelombang emisi 450 nm.

Buat kurva kalibrasi dan hitung kadar Quinine sulfas dalam sampel

PENETAPAN KADAR Cd DALAM SAMPEL AIR SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM

A. Tujuan :

1. Mampu menggunakan spektrofotometer serapan atom
2. Mampu menggunakan spektrofotometer serapan atom untuk analisis menetapkan kadar Cd dalam sampel

B. Teori :

Spektrofotometri Serapan Atom adalah salah satu metode analisis spektrofotometri yang berdasarkan atas serapan radiasi oleh atom-atom netral dalam keadaan gas yang berada dalam nyala.

Prinsip dasar :

Atom logam pada keadaan dasar, menyerap sejumlah energi radiasi sesuai dengan jumlah energi atom untuk melakukan transisi ke level energi eksitasi.

Metode ini bisa digunakan untuk penetapan kadar logam atau senyawa logam termasuk sampel dengan konsentrasi kecil (bpj) dalam matrik yang kompleks, misalnya: sampel biologik, obat, makanan, minuman, lingkungan (polusi), mineral, minyak bumi dan lain-lain.

C. Alat & Bahan :

Alat :

1. Spektrofotometer Serapan Atom Shimadzu AA-6800
2. Labu tentukur
3. Pipet volume

Bahan :

1. Baku pembanding Cd
2. Akuades
3. Sampel : air kran, larutan x

D. Cara kerja :

1. Pembuatan larutan Cd BP

- Buat larutan persediaan Cd BP dengan konsentrasi 10 bpj (1 L)
- Buat larutan seri Cd BP dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 bpj dengan cara sebagai berikut:

Pipet masing-masing 2,0 mL, 4,0 mL, 6,0 mL, 8,0 mL dan 10,0 mL larutan Cd BP 10 bpj ke dalam labu tentukur 100 mL. Tambahkan akuades ke dalam masing-masing labu tentukur hingga garis tanda, kocok hingga homogen.

2. Pengukuran serapan Cd

Ikuti petunjuk pemakaian alat spektrofotometer serapan atom AA-6800

E. Perhitungan kadar :

a. Kurva kalibrasi

b. Membandingkan serapan sampel dengan serapan baku pembanding

$$C_x = \frac{A_x}{A_p} \times C_p$$

C_x = kadar sampel

C_p = kadar larutan Cd bp

A_x = serapan sampel

A_p = serapan larutan Cd bp

**PETUNJUK PEMAKAIAN
ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETER AA-6800**

I. PERSIAPAN

1. Buka gas asetilen pada tekanan 0,9 – 1,5 kg/cm².
2. Nyalakan kompresor.
3. Periksa selang yang terhubung ke pembuangan, ujung selang tidak boleh terendam air.
4. Periksa selang yang terhubung ke alat AA-6800, selang harus dalam keadaan terendam air (aquadest).

II. INSTRUMENTASI

1. Nyalakan komputer, klik Shimadzu AA-6800 tunggu hingga tampilan WIZARD OK.
2. Klik *Select Element*, pilih unsur yang akan diukur dengan mengklik *Cookbook* atau klik *Periodic Table* dan secara otomatis system sudah menentukan spesifikasinya. Klik OK.
3. Klik *Next*, klik *Edit*.
4. Tampilan di layar monitor:
 - a. *Measurement type* : Calibrasi curve.
 - b. *Repeat Condition, number of repeat* : 1.
 - c. *Concentration unit* : ppm, %, ppb, dll.
 - d. *Weight factor* : 1.0000.
 - e. *Volume factor* : 1.0000.
 - f. *Dillution factor* : 1.0000.
 - g. *Correction factor* : 0.001.
 - h. *Number of standar* : 2,3,4,5 ...dst.
5. Klik *Next*.
6. Tampilan di layar monitor:
 - a. *Number of sampel* : 1,2,3,4dst.
 - b. *Sampel ID* : Nama sampel.
7. Klik *Next 2X*.
8. Nyalakan instrumen AA-6800 tunggu sampai bunyi *beep 3X*.
9. Klik instrumen lalu pilih *connect/send parameter*, tunggu sampai *inisialisasi* (warna hijau) kecuali untuk ASC dan GFA (warna merah). Selanjutnya ikuti perintah yang ada di monitor.
10. Check tekanan gas dengan cara:
 - a. Tekan *purge* (letak di sebelah kanan instrumen).
 - b. Lihat skala : *Fuel* = 0,05; *Oksidan* = 0,25; dan *air* = 8,0.
11. Jika sudah sesuai klik OK.
12. Tekan *Extinguish*, selanjutnya ikuti perintah yang ada di monitor.
13. Tampilan di layar monitor:
 - a. *Socket* : no. tempat lampu.
 - b. *Lamp. Current* : besar arus.
 - c. *Lamp.* : ON.
14. Klik *Next*, Klik OK.
15. *Line Search*, tunggu hingga monitor menunjukkan OK.
16. *Beam Balance*, tunggu hingga monitor menunjukkan OK.
17. *Close, Finish* (setting selesai).
18. Tekan *ignite* (jangan terlalu lama, tidak boleh lebih dari 10 detik) sampai keluar api. Cek bentuk api, pijar api harus rata dan tidak bergerigi. Jika bergerigi artinya *burner* dalam keadaan kotor.
19. Mulai pengukuran, dengan urutan:
 - a. *Autozero*: selang tidak tercelup dalam cairan. START.
 - b. *Blangko (BLK)*. START.

- c. Standar : dimulai dari konsentrasi terendah. START.
- d. Blangko (BLK). START.
- e. Sampel. START.

III. MENCETAK HASIL PENGUKURAN

- 1. Klik *File*, pilih *Print Table Data*
- 2. Page 1.
- 3. Data analisis langsung tercopy.

IV. MEMATIKAN INSTRUMEN

- 1. Tekan EXTINGUISH, maka nyala api pada *burner* akan padam.
- 2. Klik *Parameters*, pilih *Edit Parameters*.
- 3. Lamp OFF.
- 4. Klik *Cancell*, klik *Instrumen Disconnect* OK.
- 5. Klik *Close File* (tanda silang di pojok kanan atas).
- 6. *Shut Down* komputer, matikan *power* instrumen, cabut arus listrik.
- 7. Matikan kompresor, kemudian tutup aliran gas asetilen.
- 8. Tutup instrumen dengan *dust cover*.

PUSTAKA:

- Instruction Manual Atomic Absorption Spectrophotometer Shimadzu AA-6800

PENETAPAN KADAR KOFEIN DAN PARASETAMOL DALAM SEDIAAN TABLET SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Tujuan :

- Mengetahui cara menyiapkan kondisi optimum kromatograf cair kinerja tinggi.
- Mengetahui penggunaan kromatograf cair kinerja tinggi untuk analisis kualitatif dan kuantitatif

Alat :

KCKT dengan detector ultraviolet (254 nm)
Kolom Lichosper RP 18, 10 μ m, 250 x 4 mm (C18)
Syringe
Pipet volume 10 mL
Labu tentukur 50 mL 7 buah

Bahan :

Parasetamol BP
Kofein BP
Tablet bodrex
Metanol pro KCKT
Akuabides

Teori :

Dengan metode KCKT dimungkinkan analisis campuran dalam jumlah kecil dalam waktu yang cepat, keunggulannya dibandingkan dengan Kromatografi Gas antara lain dengan teknik ini dapat dilakukan analisis campuran zat yang bersifat termolabil dan kemungkinan pemisahan diperluas dengan memvariasikan komposisi fase gerak (*solvent programming*) di samping kecepatan aliran, suhu dan jenis fasa diam.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada analisis dengan cara KCKT antara lain:

1. Kolom harus dijaga jangan terkontaminasi dengan sisa-sisa sampel maupun pelarut yang digunakan sebelumnya. Setiap percobaan selesai kolom harus dicuci dengan air-metanol, asetonitril-air, atau isopropanol 10% selama lebih kurang 15 menit.
2. Pelarut harus jernih dan bebas udara, aerasi dapat dilakukan dengan mengaliri gas He atau menggunakan ultrasonic bath

Dalam percobaan ini KCKT digunakan untuk menetapkan kadar parasetamol dan kofein dalam sediaan tablet.

CARA KERJA

A. Larutan baku parasetamol:

1. Timbang saksama lebih kurang 125 mg parasetamol, masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, tambahkan pelarut 25 mL metanol 30% kocok hingga larut
2. Lakukan aerasi terhadap larutan 1 dengan *ultrasonic bath* selama 15 menit
3. Encerkan dengan metanol 30% sampai garis tanda, kemudian saring (larutan stok A)
4. Pipet 10,0 mL larutan stok A, masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL. encerkan dengan pelarut metanol 30% sampai garis tanda

B. Larutan baku Kofein

1. Timbang saksama lebih kurang 25 mg kofein, masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, tambahkan pelarut 25 mL metanol 30 %, kocok hingga larut
2. Lakukan aerasi terhadap larutan 1 dengan *ultrasonic bath* selama 15 menit.
3. Encerkan dengan pelarut metanol 30% sampai garis tanda, kemudian saring (larutan stok B)

4. Pipet 10,0 mL larutan stok B, masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, encerkan dengan pelarut metanol 30% sampai garis tanda.
- C. Larutan baku pembanding
1. Pipet larutan stok A dan stok B masing-masing sebanyak 10 mL, masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL
 2. Encerkan dengan pelarut metanol 30% sampai garis tanda
- D. Larutan sampel
1. Timbang saksama sejumlah 20 tablet serbukkan hingga homogen
 2. Timbang saksama serbuk tablet lebih kurang setara dengan 25 mg kofein atau 125 mg parasetamol
 3. Masukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, tambahkan 25 mL pelarut metanol 30%, kocok kemudian aerasikan selama 15 menit
 4. Encerkan dengan pelarut sampai garis tanda, saring
 5. Pipet 10,0 mL filtrat ke dalam labu tentukur 50 mL, encerkan dengan pelarut sampai garis tanda

CARA PENETAPAN

Sejumlah 10 µL larutan A,B,C dan D diinjeksikan ke dalam KCKT secara terpisah dengan kondisi sebagai berikut:

Kolom : Lichospher RP 18, 10 µm, 250 x 4 mm (C18)
 Fase gerak : metanol 30%
 Deteksi : 273 nm/0,04 abs, slope 100, drift 0, atten 0
 Flow rate : 1,2 mL/menit
 Pelarut : metanol 30%

Perlakuan data:

Tentukan t_r parasetamol dan kofein, dari baik baku pembanding maupun sampel (analisis kualitatif)

Tentukan kadar parasetamol dan kofein dari sampel dengan metode baku pembanding

Perhitungan:

$$\text{Kadar} = \frac{A_u \times B_p \times BR}{A_p \times B_u \times f} \times 100 \%$$

Ket:

Au = area uji
 Ap = area pembanding
 Bu = bobot penimbangan uji
 Bp = bobot penimbangan pembanding
 BR = bobot rata-rata tablet
 f = kandungan zat aktif

PENENTUAN TITIK AKHIR TITRASI ASAM BASA SECARA POTENSIOMETRIK

Penetapan titik akhir titrasi secara potensiometrik dapat digunakan untuk mengatasi masalah-masalah apabila pada larutan encer atau larutan berwarna, indikator zat warna tidak memberikan hasil yang memuaskan.

Prinsip penetapan titik akhir dengan cara ini yaitu: ke dalam larutan uji dicelupkan sepasang elektroda yaitu elektroda indikator (lihat Tabel) yang sensitif terhadap analit dan elektroda pembanding yang potensialnya tidak dipengaruhi oleh spesies dalam larutan. Dengan demikian akan terbentuk sel galvanik dan perbedaan potensial dari kedua elektroda tersebut dapat diukur dengan pH meter yang digunakan untuk memantau jalannya reaksi selama titrasi.

Bila hasil-hasil satu seri pengukuran potensial (mV) diplot terhadap mL titran akan terbentuk kurva sigmoid yang mendadak ("break") di sekitar titik ekuivalen. Pertengahan bagian vertikal atau titik infleksi dari kurva tersebut adalah titik akhir titrasi. Pada titrasi asam basa, kurva titrasi dapat juga dibuat dengan memplot pH terhadap mL titran. Titik akhir dengan cara ini dapat diotomatisasikan. Ada dua tipe titrator elektromagnetik otomatis di pasaran.

Pada tipe pertama, selama titrasi titran ditambahkan secara otomatis dan perbedaan potensial dari elektroda dicatat secara otomatis dan kurva titrasi serta titik akhir titrasi disajikan dalam kertas printer.

Tabel Sistem Elektroda Titrasi Potensiometrik

Titration	Elektroda Indikator	Persamaan	Elektroda Pembanding	Penggunaan
Asam-basa	Gelas	$E = K + 0,0591 \text{ pH}$	Kalomel atau perak-perak klorida	Titration asam-basa
Pengendapan (perak)	Perak	$E = E^0 + 0,0591 \log(\text{Ag}^+)$	Kalomel (dengan KNO_3 sebagai garam penghubung)	Titration dengan perak meliputi halida tautiosianat
Kelometrik	Hg-Hg(II)	$E = E^0 + 0,0296(\log K' - pM)$	Kalomel	Titration bermacam-macam logam (M); contoh Mg^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Bi^{3+} dengan EDTA
Oksidasi-Reduksi	Platina	$E = E^0 + \frac{0,0591}{n} \log \frac{\text{oks}}{\text{red}}$	Kalomel atau Ag-AgCl	Titration dengan arsenat, bromida, dikromat, heksasianoferat(II), iodat, nitrit, permanganat, tiosulfat

Persamaan Nernst menggambarkan sistem Elektroda indikator

K = konstanta elektroda gelas

K'=konstanta yang diperoleh dari keseimbangan Hg-Hg(II)-EDTA

M=logam lain yang dititrasi dengan EDTA

Oks (oksidan) dan red(reduktan) dari persamaan

Oksidan + ne $\rightarrow$ reduktan

Pada percobaan, titrasi dilakukan secara normal. Mula-mula titik akhir titrasi dihitung secara teoritis. Setelah volume titran untuk mencapai titik akhir titrasi tersebut diketahui maka penambahan titran pada awal titrasi dapat dalam jumlah banyak, lalu makin sedikit dan mendekati titik akhir titrasi ditambahkan berturut-turut dengan volume yang sama (misalnya 0,2 mL setiap kali penambahan) sampai beberapa kali penambahan (4-5 kali) setelah melewati titik akhir titrasi. Setiap penambahan titran, potensial atau pH larutan dicatat. Tercapainya titik akhir titrasi ditandai dengan loncatan pH atau potensial.

Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengetahui teknik penentuan titik akhir pada titrasi potensiometrik dan membandingkan hasilnya dengan titik akhir yang ditetapkan dengan indikator warna.

A. Alat

pH-meter, Metrohm model 620

B. Bahan

- larutan NaOH 0,1 N (sampel)
- larutan HCl 0,1 N (titran)
- Indikator metil merah, fenolftalein, jingga metil

C. Metoda

- Siapkan pH meter dengan pasangan elektroda gelas kalomel
- Isi wadah (gelas piala 50 mL) dengan 10 mL larutan NaOH 0,1 N (bakukan dulu). Encerkan dengan air sampai elektroda terendam dengan baik. Tambahkan salah satu indikator warna tersebut di atas.
- Titrasi dengan larutan HCl 0,1 N dengan penambahan volume titran dan pencatatan pH atau mV sebagai berikut:

Volume titran (ml)	pH	mV	Warna titrat@
5			
2			
1			
0,5			
0,2			
0,2			

dan seterusnya, sampai terlihat loncatan potensial atau pH tambahkan 4-5 kali lagi.

Baca volume titran pada saat perubahan warna indikator

- Buat kurva titrasi dan tentukan titik akhir dari kurva tersebut.
- Hitung titik akhir titrasi berdasarkan data pada butir 3 dengan menggunakan rumus.
- Bandingkan hasil-hasil yang diperoleh dan buat kesimpulan.

Pustaka:

- USP XXVIII, The United State Pharmaceutical Convention Inc, 2005
- Arthur I Vogel, "A Textbook of Quantitative Chemical Analysis", 3rd ed., Longmans, New York, 1989