



**UNIVERSITAS
PANCASILA**
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"



**GREEN
CAMPUS**



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PANCASILA

**MODUL PEMBELAJARAN
ANALISIS INSTRUMENTAL**

III. D. KROMATOGRAFI GAS

Pertemuan ke-11

**Prodi: S-1
Fakultas: Farmasi**

SALAM PANCASILA

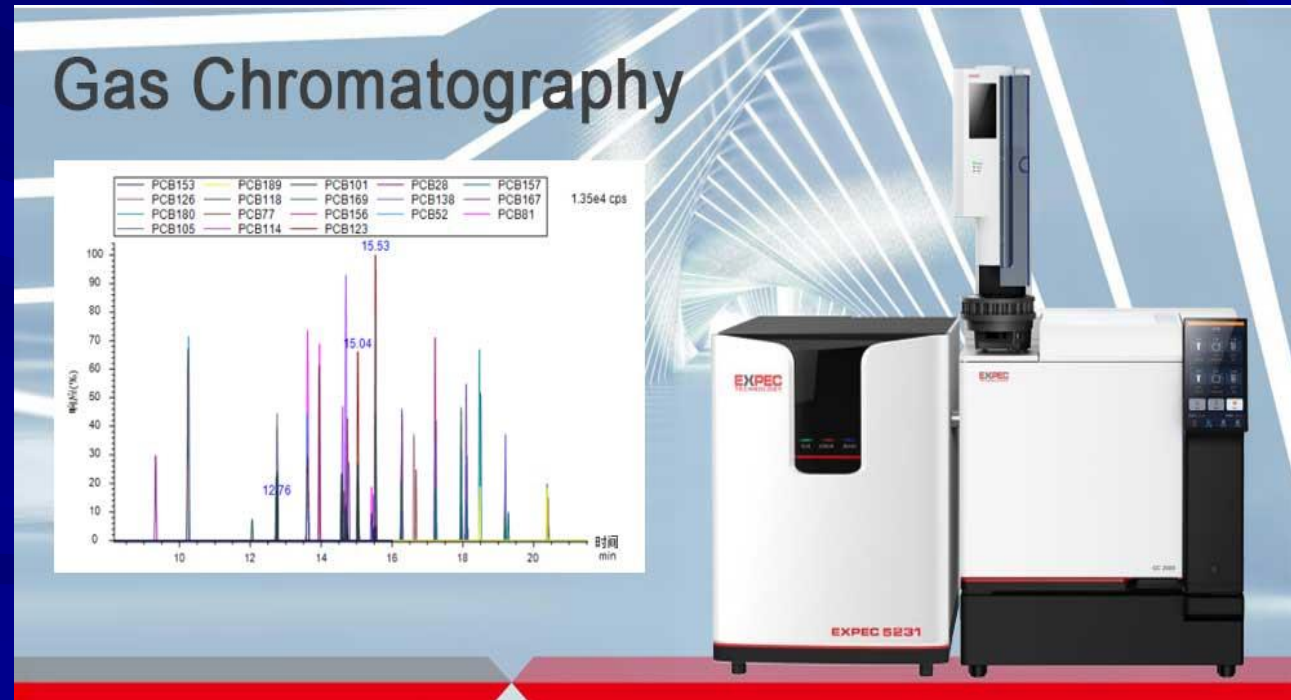


Pengertian Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah :

Suatu metode analisis yang didasarkan pemisahan fisik zat organik atau anorganik yang termostabil dan mudah diatsirikan.

Konsep KGC pertama
1941 Martin dan Syngge
1952 James dan Martin.





Kegunaan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif.

- 10 ~ 20% senyawa dapat dianalisis dengan Kromatografi Gas (KG)**
- Senyawa yang dapat dianalisis dengan KG:**
 - 1. Senyawa/ molekul yang dapat berubah menjadi uap/gas**
 - 2. tidak terdekomposisi pada suhu tinggi ($\leq 450^{\circ}\text{C}$)**

Pembagian kromatografi gas :

Kromatografi Gas Padat

(Gas Solid Chromatography)

Fase diam : - butiran-butiran adsorben padat

Fase gerak: - gas

Mekanisme pemisahan :

- perbedaan fisik adsorpsi oleh fase diam
- efektif untuk M_r lebih rendah

Kromatografi Gas Cair

(Gas Liquid Chromatography)

- cairan yang disalut tipis pada permk butiran sbg support

- gas

- perbedaan partisi komponen sampel diantara fase diam dan fase gerak

Kromatograf gas sebagai instrumen analitik menduduki posisi yang sangat dan banyak dipakai , sebab :

- 1. Aliran fase gerak (gas) sangat terkontrol dan kecepatannya tetap**
- 2. Sangat mudah terjadi pencampuran uap sampel ke dalam aliran fase gerak.**
- 3. Pemisahan fisik terjadi di dalam kolom yang jenisnya banyak sekali, panjang dan suhunya dapat diatur.**
- 4. Banyak detektor yang dapat dipakai**
- 5. Mudah digabung dengan instrumen lain (GC-MS, GC-FTIR-MS)**

Kelemahan Kromatografi Gas :

- Banyak analit yang sulit diatsirikan**
- Banyak analit yang mudah terdekomposisi pada suhu tinggi**
- Biaya operasional masih cukup mahal**



GC



GC/MS

Kromatografi Gas Cair

- Partisi gas – cair

sampel didalam kolom akan memisah, karena perbedaan partisi antara dua fase

Untuk molekul, suhu, dan fase cair tertentu akan memberikan Konstanta distribusi (K_p) yang tertentu :

$$K_p = \frac{\text{Konsentrasi komponen dalam fase cair}}{\text{Konsentrasi komponen dalam fase gas}}$$

$$K_p = \frac{\text{Berat komponen dalam fase cair / volume fase cair}}{\text{Berat komponen dalam fase gas / volume fase gas}}$$

$$K_p = K\beta$$

K = rasio partisi ; β = rasio fase

- Harga K sangat erat hubungannya dengan waktu tambat/retensi (t_R)
- Harga β erat hubungannya dengan jenis kolom dan volume fase cair dalam kolom sebagai fase diam.

untuk kolom “open tubuler “ harga $\beta = r / 2.d.f$

- r = jari-jari penampang kolom
- $d.f$ = lapis tipis fase cair yang menyalut support dalam kolom.

Harga β pada kolom kapiler = 50 – 500

Contoh : Hitung harga β bila diketahui diameter kolom kapiler 0,025 mm, tebal lapis tipis fase cair 0,025 μm .

Note: cermati satuan !

Instrumentasi

Bagian-bagian penting dari suatu kromatograf gas meliputi antara lain :

1. Reservoir/depo gas pembawa
2. Injection port/gerbang suntik
3. Kolom kromatograf
4. Kontrol suhu
5. Detektor

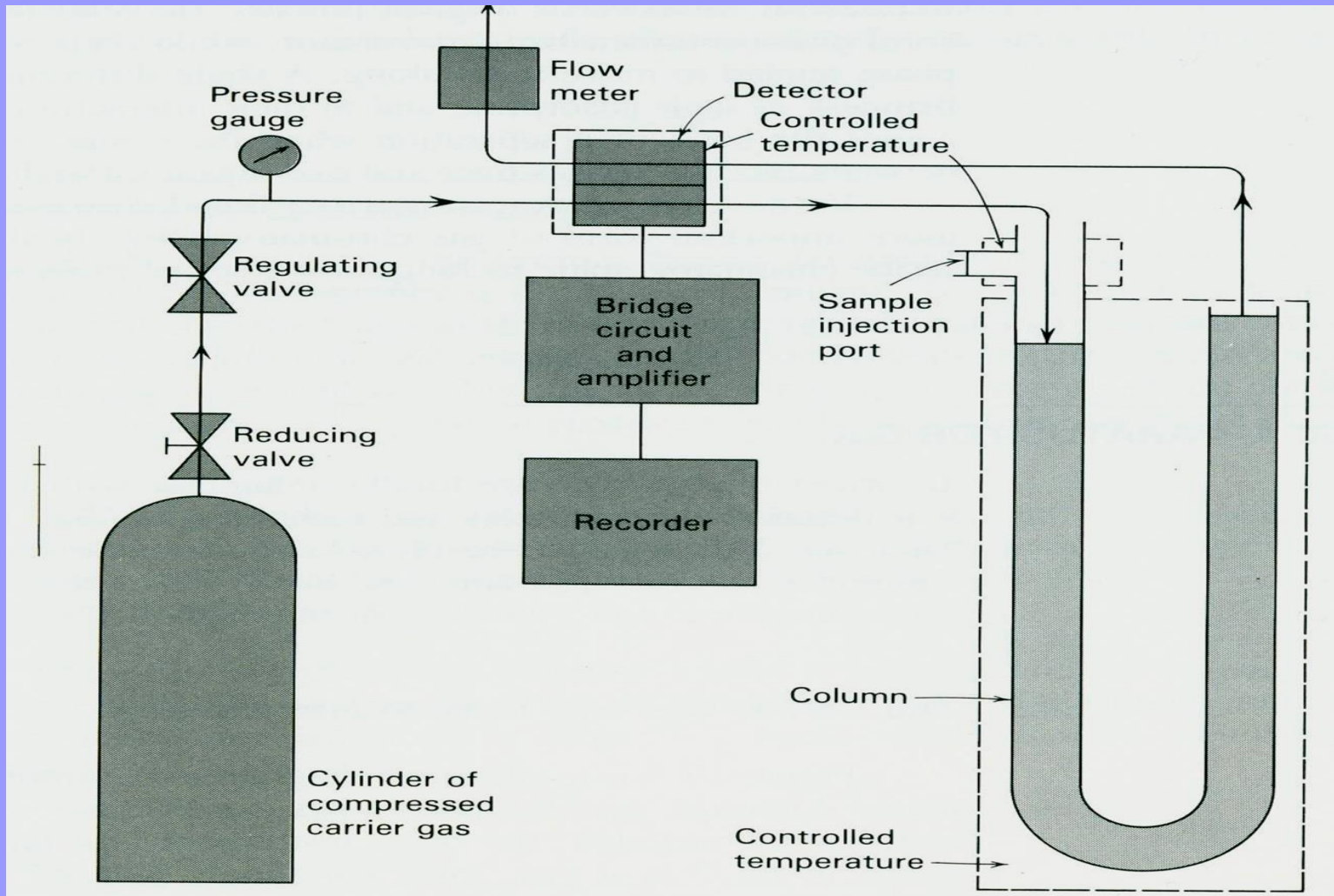


Figure 17.1 Schematic diagram of a gas chromatograph with a thermal conductivity detector. Large arrows indicate direction of gas flow.



- Gas pembawa (Fase gerak):

Fase gerak / *mobile phase* :

- helium (He), argon (Ar), nitrogen (N₂) dan hidrogen (H₂)
- campuran Argon dan metana

Dasar pemilihan fase gerak :

- Kompatibel dengan detektor TCD dengan gas hidrogen yang bobotnya ringan
- *Inert*: Nitrogen dan helium lebih aman karena gas inert
- *Safety*: Nitrogen umumnya dipilih karena lebih murah dan aman
- *Pure* (murni): He, N₂ ; H₂ → 99,995%
- Tekanan: biasanya tekanan aliran gas 10-50 psi
- Laju aliran/*flow rate*: 25–150 mL/menit

- **Pengatur tekanan**
- **Gerbang suntik :**
 - volume larutan yang disuntik bervariasi 0,01 μ l
Sampel diinjeksikan dengan cepat ke dalam inlets 0,5 – 2,0 μ l
(umumnya sampel diinjeksikan 1 μ l)
 - Bebas gelembung udara
 - jangkauan kadar komponen yang dianalisis ppb
 - suhu gerbang suntik diatur \rightarrow 50 derajat Celcius di atas titik didih komponen
 - Sampel diinjeksikan secara manual atau otomatis (*automatic sample injection*)

- **Thermostat oven :**

Ada tiga macam fungsinya : mengatur suhu secara terpisah

- gerbang suntik
- oven kolom
- detektor

Selama analisis berlangsung suhu dijaga kestabilannya, sehingga aliran gas akan berlangsung secara teratur.

Pengaturan suhu kolom sangat penting, pemisahan komponen sangat dipengaruhi suhu dalam kolom.

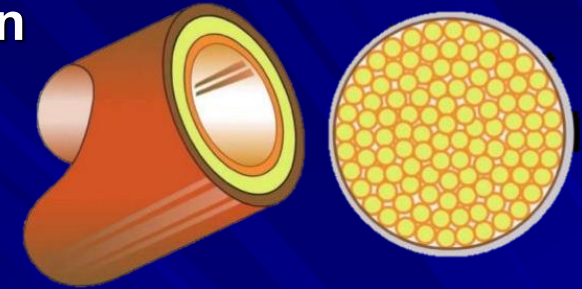
Ada dua cara mengatur suhu kolom :

1. ***Isothermal*** :
suhu diatur tetap selama analisis
2. ***Programmed temperature***:
suhu diatur naik selama rentang waktu analisis →
untuk memperbaiki RESOLUSI
misalnya : 30 -350 derajat celcius selama 35 menit

- Kolom

Tempat terjadinya proses pemisahan komponen campuran
Secara umum dibagi dua jenis.

1. packed column
2. Capillary column (kolom terbuka / kapiler)



Pack Column

capillary Column



Packed column = kolom terpaking

- terbuat dari logam tahan karat / Cu/ Al /Ni
- panjang 2 -3 meter
- diameter dalam : 1,5 – 9,5 mm
- kolom dibuat melingkar dengan diameter sekitar 15 cm
- padatan pendukung kolom ini dikenal 2 macam :
Chromsorb P & G dibuat dari tanah diatomae.
- fase diam : silanol atau silil eter.



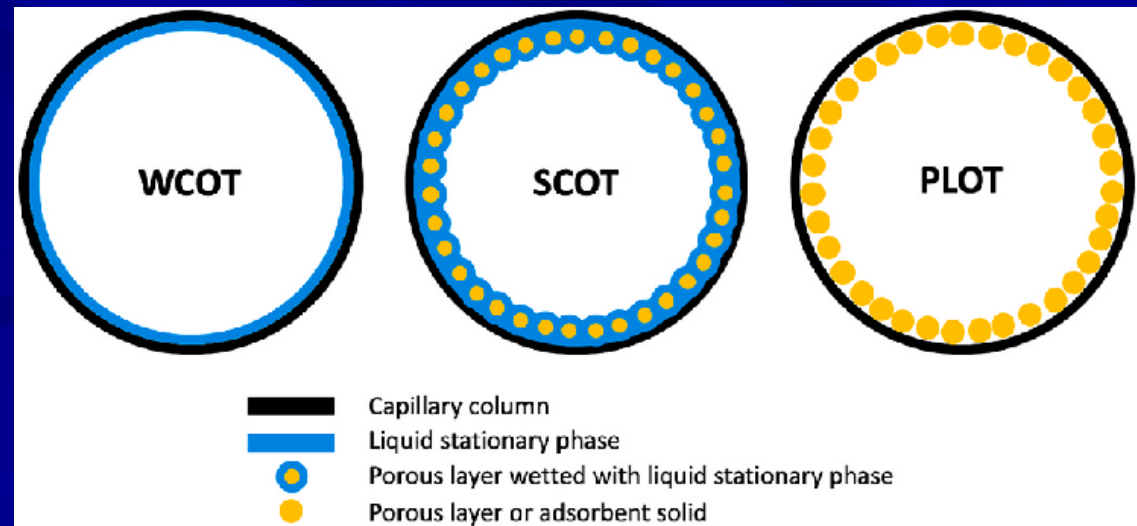
Capillary column = kolom KAPILER

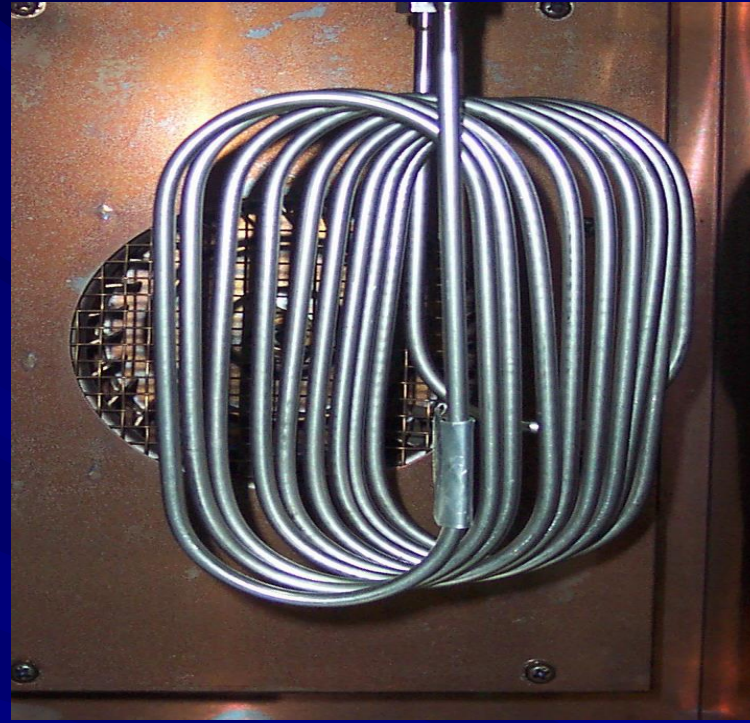
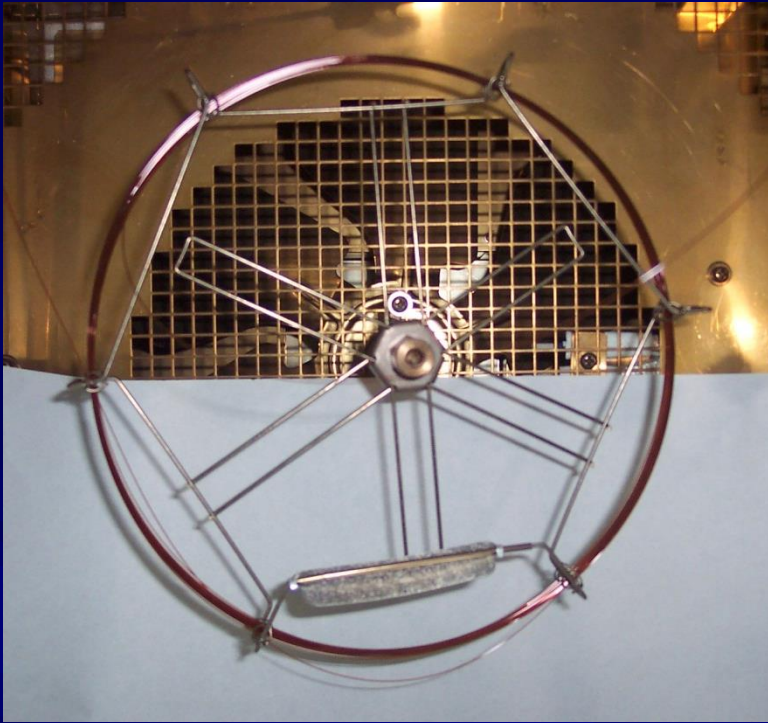
berbeda dengan kolom terpacking dalam hal adanya rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (tube) → *open tubular columns*

- fase diam melekat dan mengelilingi dinding kolom, dikenal :

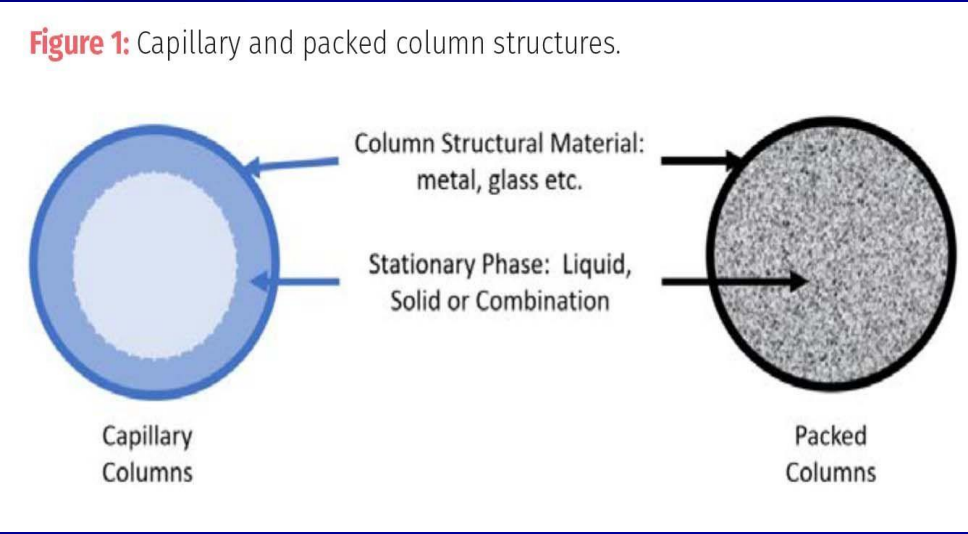
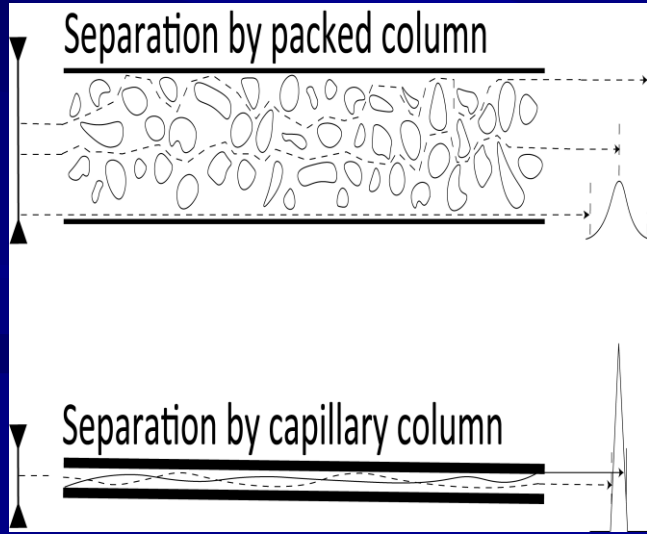
1. *WCOT (Wall coated open tube)*
2. *SCOT (Support coated open tube)*
3. *PLOT (Porous Layer Open Tube)*
4. *FSOT (Fused Silica Open Tube)* jenis kolom kapiler ditemukan 1972

Kolom kapiler paling disukai,
memberikan harga jumlah
Pelat teori (N) > 3000 pelat.





Pemisahan dengan capillary column menunjukkan puncak yang lebih tajam



FASE DIAM – GC

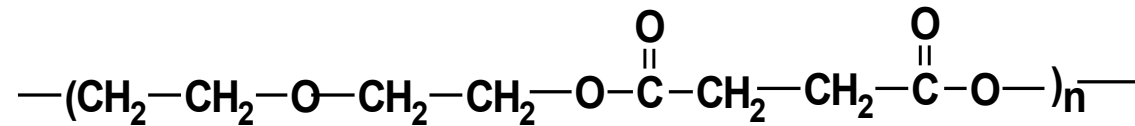
POLA-RITAS	SENYAWA	MAX. TEMP. °C	APLIKASI
P	Carbowax 600	200°	Senyawa Nitrogen ALkohol Der. As. Amino
	DEGS	190°	
N	Silicone Gum Rubber	350°	Alkaloid Organometalic Steroid, Pesticida
	[SE-30 (methyl)]	300°	
	OV-17 (liquid Methyl Silicone)		
I	OV-17	300°	Steroid, Pesticida Sugar Derrivatives
	(Methyl Phenyl Silicone)	300°	
	Silicone Gum Rubber [SE-52 (Phenyl)]		

Gugus aktif pada fase diam

POLAR

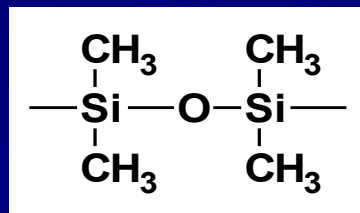


Carbowax

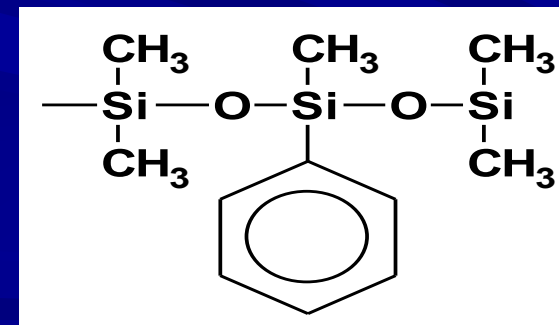


DEGS :

NON POLAR



SE - 30 :



SE - 52 :

- fase diam (cair) yang umum dipakai antara lain :
 1. Squalen
 2. DEGS = Dietil Glikol Suksinat
 3. OV-17 = *phenyl methyle silicone oil*

Makin tipis lapisan penyalut sebagai fase diam maka makin tinggi suhu operasionalnya. Untuk lapisan salut $< 1 \mu\text{m}$ suhu operasional dapat mencapai 460°C dan suhu minimal sampai 60°C

-Detektor :

adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen didalamnya menjadi sinyal listrik .

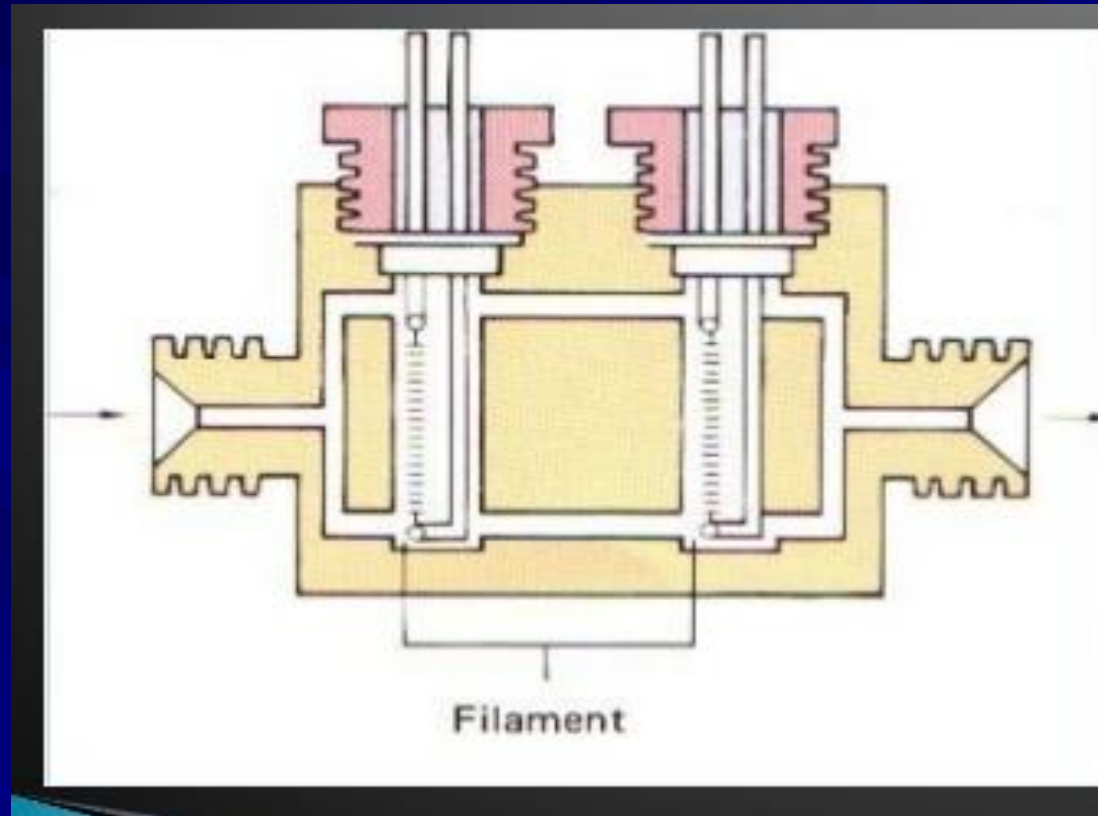
Ada 13 detektor KG antara lain :

- umum : : FID → Typical sample : hydrocarbons
TCD → typical sample : general
MS (GC-MS)
- spesifik :
 - ECD → organo-halogen; chlorinated solvents ;
pesticides
 - FPD → phosphorus compounds
 - NPD → organo-nitrogen & organo-posphorous
compounds

SISTEM DETEKSI (DETEKTOR)

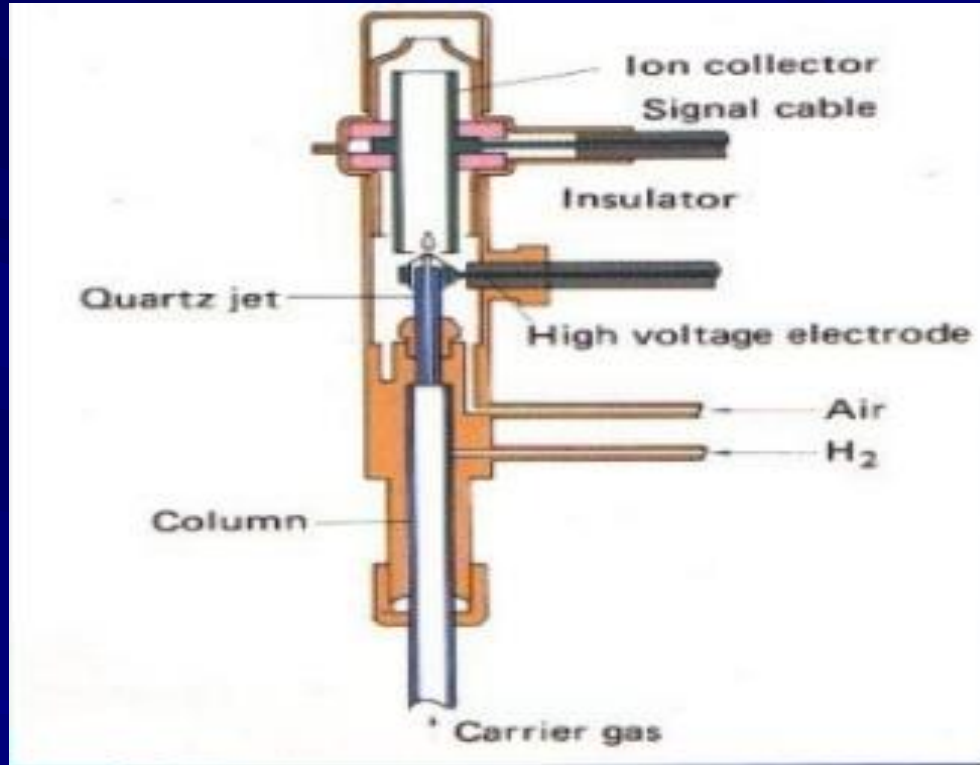
Detektor	Senyawa yang terdeteksi	Jumlah minimum
TCD	Semua senyawa kecuali gas pembawa	10 ppm (10 ng)
FID	Senyawa organik	0,1 ppm (0,1 ng)
ECD	Senyawa halogen/logam organik	0,1 ppb (0,1 pg)
FTD	Senyawa nitrogen/fosfor organik	1 ppb (1 pg)/ 0,1 ppb (0,1 pg)
FPD	Senyawa sulfur/fosfor organik	10 ppb (10 ng)/ 50 ppb (50 pg)

THERMAL CONDUCTIVITY DETECTOR (TCD)



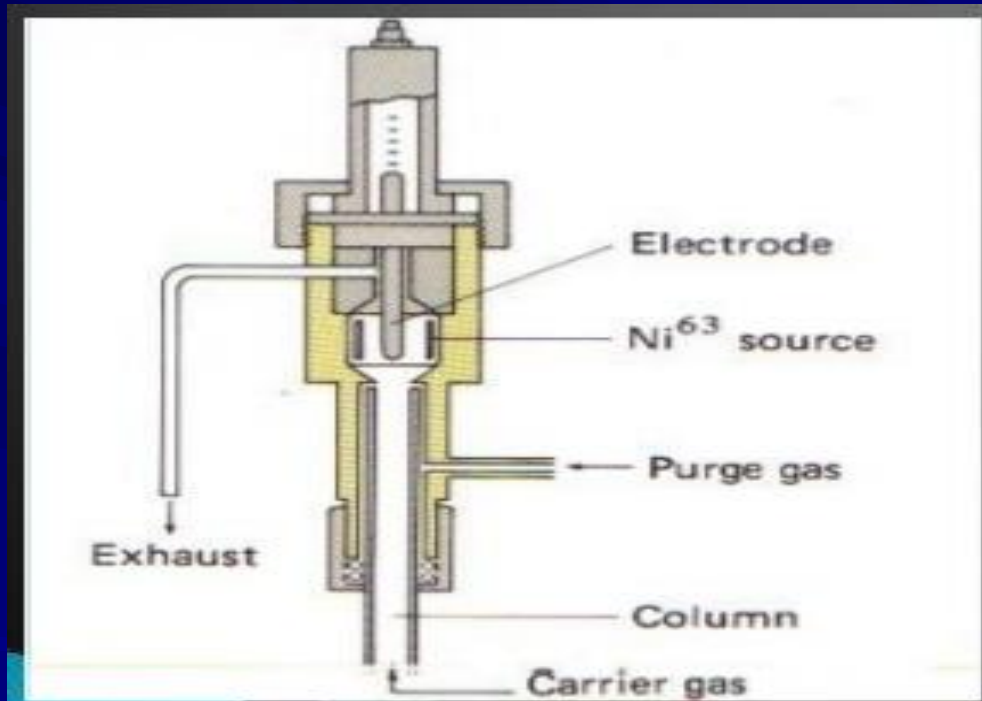
Mendeteksi semua senyawa yang memiliki perbedaan panas dengan Fase gerak

FLAME IONIZATION DETECTOR (FID)



Sensitif pada senyawa organik umumnya

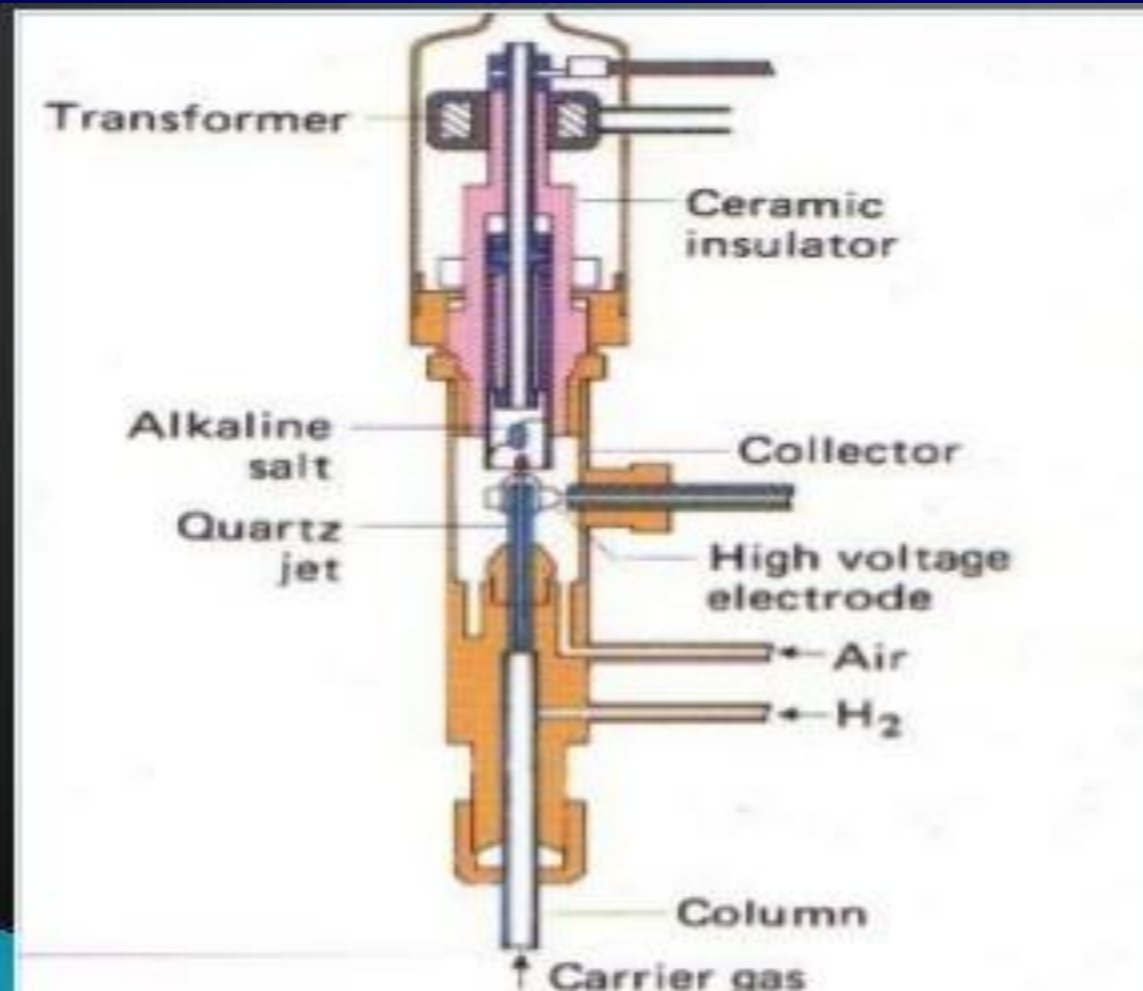
ELECTRON CAPTURE DETECTOR (ECD)



Sensitif pada senyawa halogen dan logam organik.

Biasanya untuk analisis pestisida organoklorin.

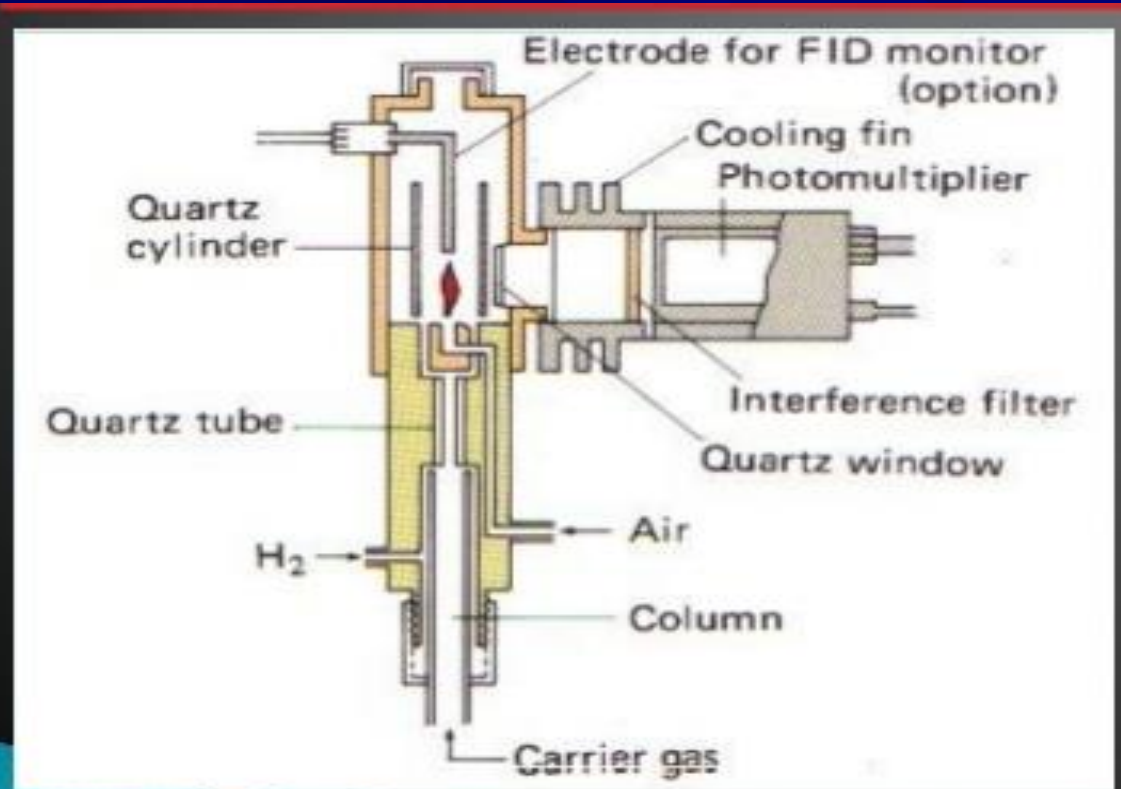
FLAME THERMOIONIC DETECTOR (FTD / NPD)



Sensitif terhadap fosfor organik dan nitrogen organik.

Biasanya untuk analisis senyawa pestisida dan produk medikal

FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR (FPD)



Sensitif terhadap fosfor organik, sulfur organik dan timah organik.

Biasanya untuk analisis senyawa pestisida dan flavour

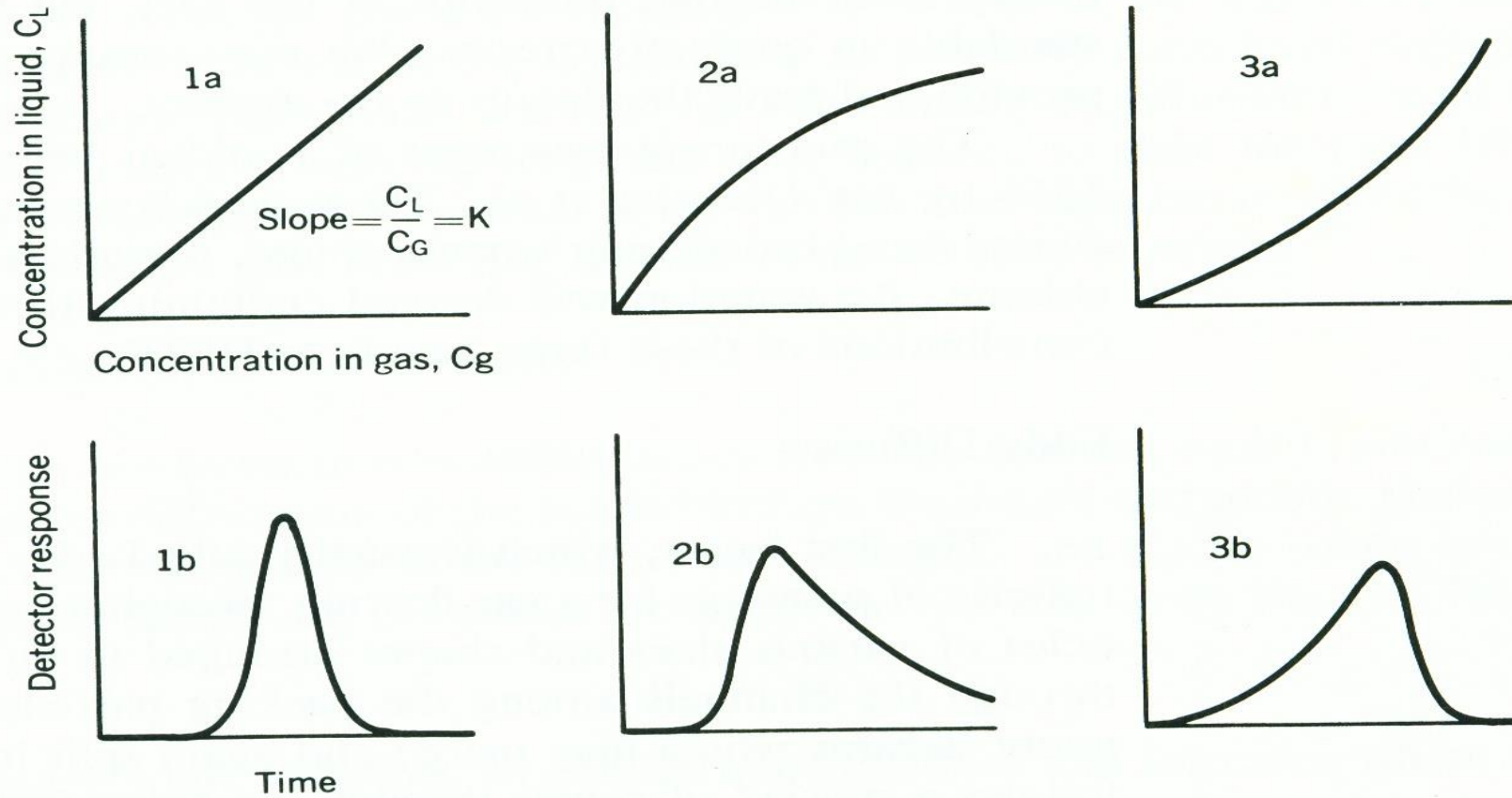


Figure 17.4 Linear and nonlinear isotherms (a) and the shapes of the corresponding elution bands (b).

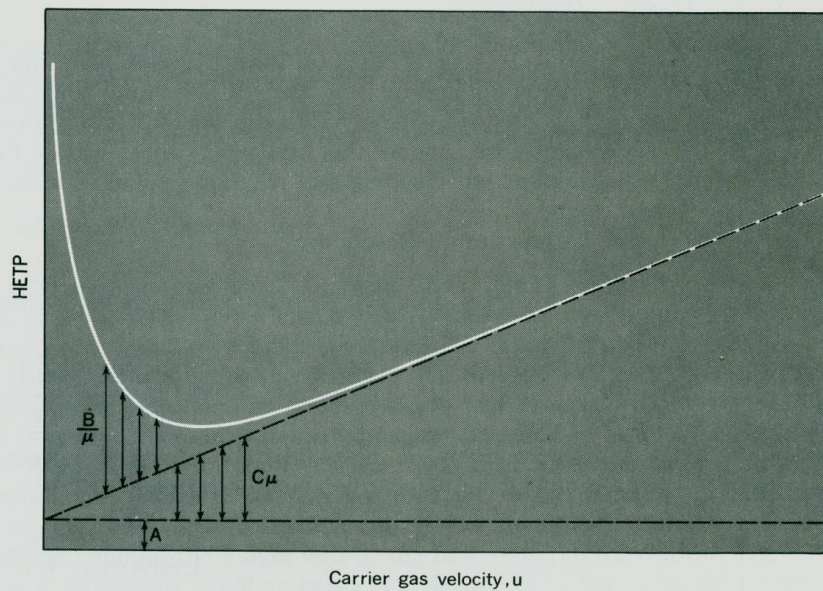


Figure 17.6 Depiction of the van Deemter equation $HETP = A + B/u + Cu$. Note that the contribution of the A -term to HETP is independent of velocity, that B/u increases as velocity decreases, and that Cu predominates at high velocities.

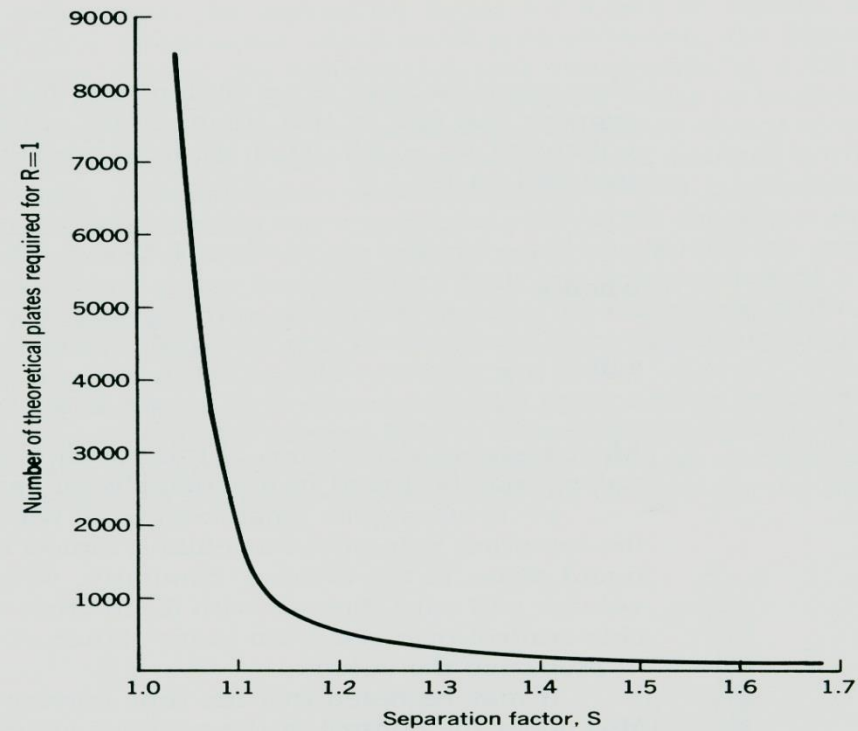
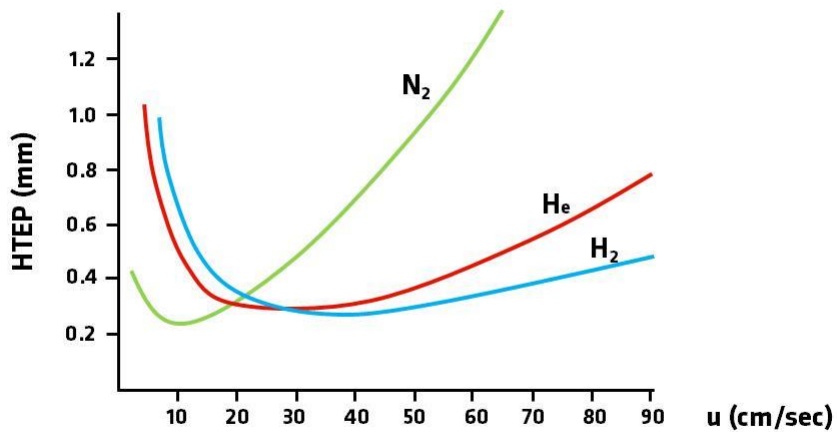
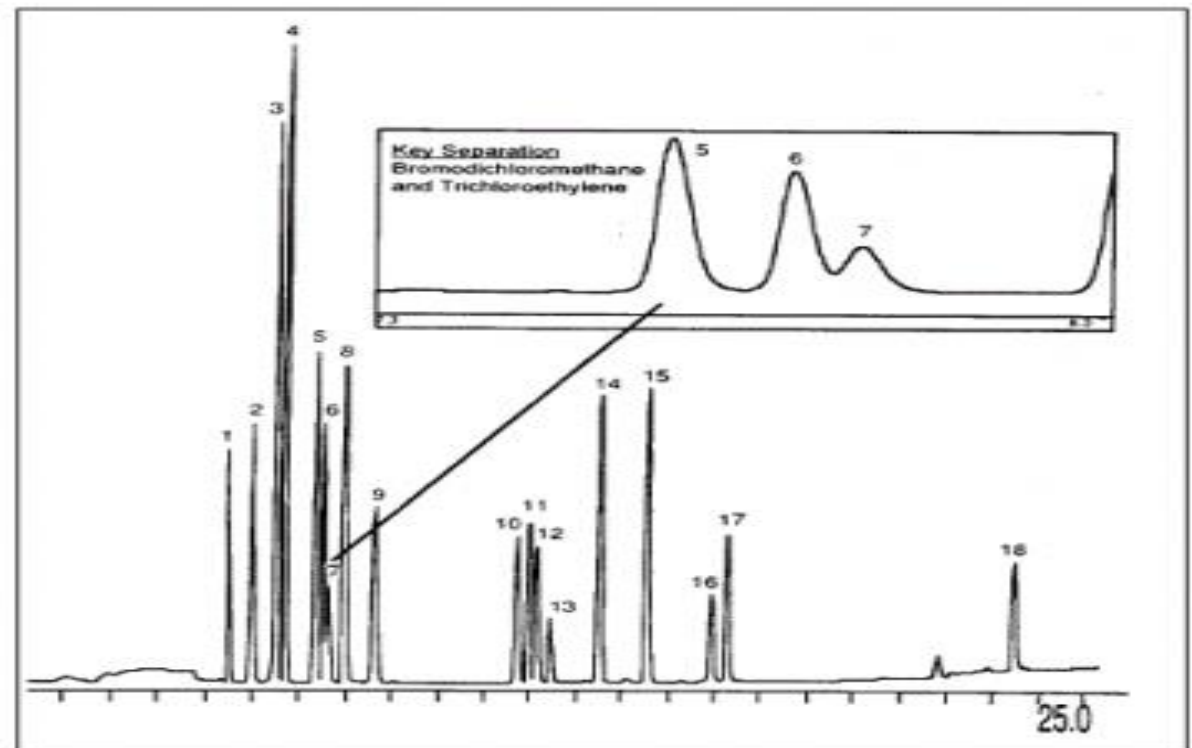


Figure 17.8 Number of theoretical plates required to achieve a resolution equal to one plotted as a function of the separation factor.

**EPA Method
551
Chlorination
Disinfection
Byproducts in
Drinking
Water**

COLUMN: GRS-1,
Dimethylpolysiloxane
30M. x 0.32mm I.D. x
0.5µm film
Cat. No.: GRS-1-30W-0.5F
Temperature: 35° (10 min. hold)
(6°/min.) - 150°C
(4 min. hold)
Injector: 220°C
Detector: 300°C, ECD
Carrier Gas: 1ml/min, Helium
Injection: 2uL of 1ppb extract

1. chloroform
2. 1,1,1-trichloroethane
3. carbon tetrachloride
4. trichloroacetonitrile
5. dichloroacetonitrile
6. bromodichloromethane
7. trichloroethylene
8. chloral hydrate
9. 1,1-dichloropropanone-2
10. chloropicrin
11. dibromochloromethane
12. bromochloroacetonitrile
13. 1,2-dibromoethane (EDB)
14. tetrachloroethylene
15. 1,1,1-tetrachloropropanone
16. bromoform
17. dibromoacetonitrile
18. 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP)



Gambar: Kromatogram KG

- Contoh Hasil GC/MS Ibuprofen → Kromatogram (bawah) dan spektrum massa (atas)

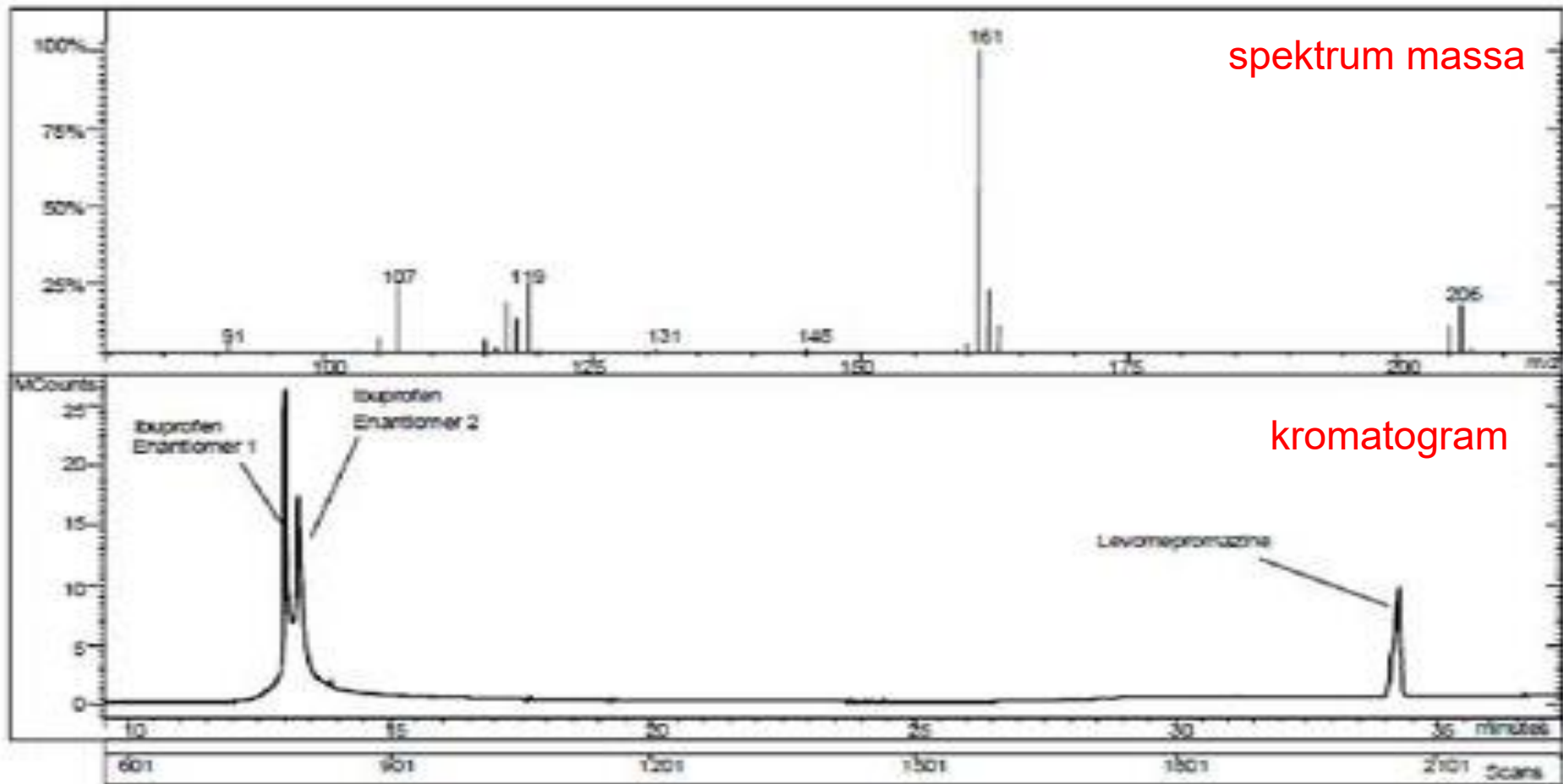


Fig. 1

Chromatogram and mass spectrum of ibuprofen enantiomers obtained in EI normal mode

Uji Kesesuaian Sistem

- Uji ini dilakukan sebelum pengujian sampel untuk memastikan keefektifan sistem operasional.
- Hal ini didasarkan atas konsep bahwa: elektronik, peralatan, zat uji, dan kondisi operasional analitik membentuk satu sistem analitik tunggal yang dapat diuji fungsinya secara keseluruhan.
- Data spesifik dikumpulkan dari hasil penyuntikan ulang larutan uji atau larutan baku.
- Menurut FI VI (hal: 2037-39) parameter untuk menetapkan kesesuaian sistem meliputi : R , N , T , k , α dengan memperhatikan nilai RSD.

UJI KESESUAIAN SISTEM

- Cara :
Lakukan penyuntikkan ulang lar. Baku
- Kriteria : RSD (Relative standard Deviation) = SBR (Simpangan baku relatif) = KV (Koeffisien Variasi) = CV (Coefficient of Variation) satuan dalam %

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$
$$KV(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

\bar{X} = harga rata-rata N kali pengukuran

Kecuali dinyatakan lain → data 5X penyuntikkan digunakan untuk menghitung RSD jika syarat $\leq 2,0 \%$

Data dr 6 kali penyuntikkan digunakan untuk menghitung bila syarat RSD $> 2,0 \%$

Aplikasi Kromatografi Gas

- Kromatografi digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap sampel dengan analit tunggal maupun campuran dengan komponen mikro maupun makro, uji cemaran, maupun uji residu di berbagai bidang.
- **Analisis Kualitatif:**
membandingkan waktu retensi analit t_R dengan baku pembanding
- **Analisis Kuantitatif**
menggunakan data Luas / tinggi puncak dari analit dan baku pembanding
- **Pemisahan atau pemurnian (Kromatografi Preparatif)**

Metode Analisis secara Kromatografi Gas (GC)

Prosedur

1. Penyiapan sistem kromatografi: larutan uji, larutan baku, fase diam, fase gerak, mengatur kondisi instrumen sesuai metode.
2. Uji Kesesuaian sistem untuk memastikan: RSD penyuntikan ulang (5x atau 6x), dan N, T, atau R sesuai persyaratan.
3. Injeksikan larutan baku pembanding.
4. Injeksikan larutan uji.
5. Tetapkan identitas analit dan hitung kadar analit dari sampel.

CONTOH SOAL

Pada penetapan kadar asam barbiturat menurut FI VI, data Uji Kesesuaian Sistem KG menggunakan larutan baku yang mengandung asam barbiturat BPF1 adalah sebagai berikut: Tinggi puncak asam barbiturat BPF1 dan baku internal berturut-turut adalah 7,24; 7,25; 7,23; 7,20; 7,24 cm dan 5,35; 5,34; 5,36; 5,35; 5,36 cm. Waktu tambat t_R , adalah 4.6 menit dengan lebar dasar masing masing adalah 0,58. Lebar puncak asam barbiturat BPF1 pada 5% tinggi puncak dari garis dasar, $W_{0,05}$ adalah 0,38. Jarak dari maksimum puncak sampai tepi muka puncak pada 5% tinggi puncak dari dasar, f , dari asam barbiturat BPF1 adalah 0,12 cm.

- Jelaskan tujuan dari Uji Kesesuaian Sistem
- Hitunglah CV (KV), R , dan Faktor ikutan; T , dari asam barbiturat BPF1.
- Simpulkan hasil jika sesuai FI VI <531> dinyatakan: Simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%. Resolusi, R , antara asam barbiturat dan *Baku internal* tidak kurang dari harga yang diberikan dalam masing-masing monografi, dan faktor ikutan, T , untuk kedua puncak tersebut masing-masing tidak lebih dari 2,0.



**UNIVERSITAS
PANCASILA**
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"



**GREEN
CAMPUS**



KAMPUS PROGRAM DIPLOMA (D3), SARJANA (S1) & PROFESI :
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan