

**PENUNTUN PRAKTIKUM
ANALISIS FISIKO-KIMIA**



Nama Mahasiswa :
NIM :
Semester/Kelas :
Dosen :

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BINAWAN
JAKARTA
2022**

VISI DAN MISI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BINAWAN

Visi

“Menjadi Prodi Farmasi Unggulan di Indonesia pada tahun 2025 dengan meluluskan tenaga teknis kefarmasian yang berakar dan dapat bersaing secara nasional maupun global”

Misi

1. Menyelenggarakan pendidikan kefarmasian yang berfokus kepada obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur sesuai dengan perkembangan IPTEK agar dapat bersaing secara nasional dan global.
2. Mengembangkan penelitian kefarmasian khususnya dalam bidang obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur.
3. Melakukan pengabdian masyarakat melalui pendekatan farmasi yang berorientasi pada obat bahan alam, klinis komunitas, dan pharmapreneur.
4. Melaksanakan perintisan dan pengembangan jejaring (*net working*) kemitraan di bidang kefarmasian pada tingkat nasional dan internasional.
5. Menghasilkan lulusan yang bertaqwa dan berbudi pekerti luhur serta terampil dalam dunia kefarmasian.

LEMBAR PENGESAHAN

Penuntun Praktikum Analisis Fisiko-Kimia
Program Studi S1 Farmasi

Oleh:

Aji Humaedi, S.Si., M.Farm

(Dosen Pengampu Praktikum)

Frida Octavia Purnomo, S.Pd., M.Si

(Dosen Pengampu Praktikum)

Jakarta, Agustus 2022

Menyetujui,




apt. Ernie Halimatushadyah, M.Farm

(Ka. Prodi Farmasi)

Mengetahui




Dr. Mia Srimati, M.Si

(Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Penuntun Praktikum Analisis Fisiko-Kimia bagi mahasiswa Farmasi BINAWAN. Buku ini di berikan dengan maksud agar mahasiswa dapat melaksanakan praktikum dengan baik dan mudah.

Praktikum Analisis Fisiko-Kimia dimaksudkan untuk mengimbangi kemampuan mahasiswa dalam menghadapi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Agar terjadi proses perkuliahan yang mengarah pada peningkatan skill mahasiswa dalam menghadapi tantangan, maka sudah selayaknya dilakukan pendalaman materi yang terfokus pada realitas di lapangan.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan-kekurangan yang terdapat dalam buku ini, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan dan semoga buku ini bermanfaat bagi semua pihak.

Jakarta, Agustus 2022

Penyusun

DAFTAR ISI

Visi dan Misi.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Tata Tertib Praktikum Analisis Fisika Kimia	v
Percobaan I. Ekstraksi Cair-Cair.....	1
Percobaan II. Kromatografi Lapis Tipis	6
Percobaan III. Kromatografi Kertas	11
Percobaan IV. Kromatografi Cair Tingkat Tinggi (KCKT)	13
Percobaan V. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Menggunakan UV-Vis	19
Percobaan VI. Penentuan Kadar Analit dengan Metode Standar Eksternal <i>Single Point Calibration</i>	21
Percobaan VII. Penentuan Kadar Analit dengan Metode Standar Eksternal <i>Multiple Point</i>	23
Percobaan VIII. Penentuan Kadar Analit dengan Metode Standar Adisi	25
Percobaan IX. Validasi Metode : Penentuan Linearitas	27
Percobaan X. Validasi Metode : Penentuan Ketelitian (Presisi).....	29
Percobaan XI. Identifikasi Parasetamol dengan Metode Spektrofotometri Inframerah	31
Daftar Pustaka.....	33
Lampiran Format Penulisan Laporan Praktikum	34

TATA TERTIB PRAKTIKUM ANALISIS FISIKO KIMIA

1. Praktikum diadakan sesuai dengan yang telah ditetapkan.
2. Praktikan harus hadir tepat pada waktunya, keterlambatan lebih dari 15 menit tidak dibenarkan mengikuti praktikum.
3. Sebelum memasuki ruangan praktikum setiap praktikan harus sudah memakai jas praktikum.
4. Setiap praktikan diharuskan mengecek alat-alat yang tersedia di lemari mejanya sesuai dengan daftar yang ada.
5. Setiap kehilangan atau kerusakan harus dilaporkan kepada petugas laboratorium dan ini menjadi tanggung jawab praktikan yang bersangkutan.
6. Peralatan seperti: serbet, wadah-wadahan, gunting, lem, penara, pipet, spatel film (sudip), dan lain-lain harus disediakan sendiri oleh praktikan.
7. Praktikan wajib menjaga ketertiban laboratorium selama praktikum berlangsung antara lain:
 - a. menjaga kebersihan
 - b. tidak dibenarkan berbicara sesama praktikan dan meminjam alat-alat tanpa seijin dosen.
 - c. tidak dibenarkan meninggalkan laboratorium tanpa seijin dosen

PERCOBAAN I

EKSTRAKSI CAIR – CAIR

A. TUJUAN PRAKTIKUM

Memisahkan suatu senyawa berdasarkan perbedaan kemampuan partisi pada pelarut berbeda tak campur dengan menggunakan tingkat kepolaran pelarut mulai dari pelarut polar, non polar dan semi polar.

B. DASAR TEORI

Hukum partisi menurut Nernst:

Jika sistem pemisahan mencapai kesetimbangan maka nisbah (ratio) konsentrasi (aktivitas) setiap komponen (linarut) di dalam kedua fase tak campur menjadi tetap dan dapat dinyatakan sebagai tetapan kesetimbangan (koefisien distribusi/partisi). Koefisien tetap bila tidak ada interaksi antara linarut dan pelarut pada suhu tetap. Menurut kaidah distribusi/partisi :

$$K = \frac{C_a}{C_b}$$

K = koefisien partisi/distribusi pada t tetap

C_a = konsentrasi solute dalam rafinat

C_b = konsentrasi solute dalam ekstrak

Setelah n kali ekstraksi :

$$W_n = W_o \frac{[Kv]^n}{Kv + S}$$

W_n = bobot solute di dalam fraksi cair setelah n kali ekstraksi

W_o = bobot solute awal dalam rafinat

k = koefisien partisi

v = volume rafinat

s = volume ekstrak

Berdasarkan persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa pengulangan ekstraksi dengan volume pelarut yang terbagi – bagi lebih baik daripada satu kali ekstraksi dengan volume total yang sama.

Ekstraksi : ialah isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok /sesuai.

Ekstraktan : pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi.

Rafinat : larutan senyawa atau bahan yang akan diekstraksi.

Linarut (solut) : Senyawa atau zat yang diinginkan terlarut dalam rafinat.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat : corong pisah 500 ml, beaker gelas 500 ml, Erlenmeyer 250 ml, batang pengaduk, alumunium voil, cawan penguap, kertas saring, rotary evaporator.

Bahan : ekstrak tanaman, etil asetat, n-heksana, n- butanol, aquades, methanol, etanol.

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Pembuatan Ekstrak

Timbang sebanyak 100 gram serbuk simplisia, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan pelarut etanol/metanol secukupnya secara perlahan sambil diaduk dengan batang pengaduk sampai homogen dan rata, kemudian tambahkan lagi pelarut hingga terdapat lapisan pelarut 2,5 cm tingginya dari permukaan serbuk simplisia, tutup permukaan wadah dengan plastik, pasang alat pengaduk spindel, lakukan pengadukan selama lebih kurang 1 jam pada suhu kamar. Saring dengan kapas dan setelah itu maserat saring lagi dengan kertas saring. Ampas dimaserasi kembali selama 1 jam dan disaring. Ekstrak etanol/metanol yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan penguap rotavapor vakum pada suhu lebih rendah dari titik didih pelarut hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Ekstraksi cair – cair

a. Timbang 8 gr ekstrak kental etanol simplisia (dari percoban 1) dan tambahkan aquadest sebanyak 100 ml sambil di aduk-aduk sampai homogen dan dituang ke dalam corong pisah.

b. Ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 30 ml, kocok (pengocokan 4 kali 30 ml), kumpulkan fase n-heksana lalu diuapkan dengan rotavapor vakum sehingga diperoleh ekstrak n-heksana kental (tempatkan dalam cawan penguap yang sudah ditara, disebut ekstrak non polar).

- c. Lapisan air (sisa) diambil, ditempatkan dalam corong pisah lalu dikocok dengan etil asetat 4 kali 30 ml, kumpulkan fase etil asetat lalu diuapkan dengan rotavapor vakum sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat (tempatkan dalam cawan penguap, disebut ekstrak semi polar).
- d. Lapisan air (sisa) diambil ditempatkan dalam corong pisah lalu dikocok dengan pelarut nbutanol 3 kali 20 ml, kumpulkan fase n-butanol dan diuapkan dengan rotavapor vakum sehingga diperoleh ekstrak n-butanol kental (tempatkan dalam cawan penguap, disebut ekstrak polar).

Catatan : Setiap sisa pelarut hasil rotavapor tidak dibuang tapi dimasukkan dalam botol sisa rotavapor sesuai jenis pelarut.

E. HASIL PENGAMATAN

Percobaan	Hasil Pengamatan
Pembuatan Ekstrak	

Percobaan	Hasil Pengamatan
Ekstraksi Cair – Cair	

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Pertanyaan :

1. Sebutkan tingkat kepolaran, bobot jenis dan titik didih pelarut yang digunakan pada percobaan ini.
2. Jelaskan mengapa pada proses ekstraksi cair – cair dimulai dari pelarut yg non polar?

PERCOBAAN II

KROMATORGRAFI LAPIS TIPIS

A. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Memahami prinsip pemisahan secara kromatografi lapis tipis.
2. Memisahkan campuran senyawa secara kromatografi lapis tipis dan menghitung harga R_f .

B. DASAR TEORI

Kromatografi adalah metode pemisahan zat terlarut karena migrasi zat dalam sistem dua fase atau lebih, dan zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas akibat perbedaan kemampuan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul, atau kerapatan muatan ion, kemudian masing-masing zat dapat diidentifikasi dan ditetapkan dengan metode analitik.

Kromatografi Lapis Tipis

Metode ini didasarkan pada adsorpsi/ penjerapan zat pada fasa diam (padat) yang disapukan pada pelat (kaca, logam). Zat yang akan dipisahkan, ditotolkan berupa bercak atau pita, kemudian pelat diletakkan dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang, selanjutnya akan terjadi perambatan zat akibat kapilaritas dan terjadilah pemisahan berbentuk noda atau spot.

Fase diam berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai penjerap. Serbuk penjerap yang sering dipakai pada KLT di antaranya: silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), kieselgur (tanah diatom) dan selulosa. Sedangkan fase gerak/pengembang adalah satu pelarut atau campuran pelarut. Pengembang ini akan bergerak pada fase diam yang berpori karena gaya kapilaritas. Zat yang akan dipisahkan dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit pelarut yang mudah menguap dengan kadar 5-10%.

Kromatografi lapis tipis dapat dipakai untuk tujuan :

1. mendapatkan hasil yang kuantitatif (kromatografi preparatif)
2. kualitatif / identifikasi (R_f noda dibandingkan dengan R_f senyawa pembanding, noda diidentifikasi dengan pereaksi spesifik)

3. menjajaki sistem pelarut yang akan dipakai dalam kromatografi kolom, KLT Preparatif, atau kromatografi cair kinerja tinggi.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pilihan untuk pemisahan semua kandungan yang larut dalam lemak, seperti : lipid, steroid, karotenoid, kuinon sederhana dan klorofil. Kelebihan kromatografi lapis tipis adalah keserbagunaan, kecepatan dan kepekaannya, pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit, kemungkinan penotolan berganda.

Deteksi noda yang tak berwarna adalah dengan:

- a. lampu UV 254 dan 366 nm. Beberapa senyawa yang memiliki gugus kromofor akan berfluoresensi di bawah lampu tsb.
- b. pereaksi semprot kimia. Pereaksi kimia yang dapat menimbulkan warna dengan senyawa uji, menggunakan semprotan aerosol (membentuk tetesan halus).
- c. Deteksi biologi : untuk mendeteksi senyawa yang memiliki aktivitas fisiologi tertentu.

Penilaian kromatogram dalam bentuk angka Rf yaitu perbandingan antar jarak noda terhadap jarak pengembang.

$$Rf = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal (A)}}{\text{jarak garis pengembang dari titik awal (B)}}$$

Harga Rf antara 0,00 – 1,00 (dua decimal).

C. ALAT DAN BAHAN

Alat : chamber KLT, pipa kapiler, cawan uap

Bahan : ekstrak hasil percobaan 1, etanol, n-heksana, etil asetat, plat KLT silica gel, Parasetamol BP, Vitamin C BP, Serbuk tablet yang mengandung parasetamol dan vitamin C .

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Buat larutan pengembang sesuai pustaka sebanyak 10 mL.
2. Masukkan larutan pengembang ke dalam chamber hingga setinggi 0,5-0,8 cm dan tutup rapat, biarkan terjadi proses penjenuhan selama + 15 menit. (Untuk membantu mempercepat penjenuhan dapat dipasang kertas saring di salah satu sisi atau

- sekeliling dinding chamber hingga seluruh kertas saring basah)
3. Larutkan sedikit ekstrak dengan 3 mL etanol
 4. Buat larutan pembanding piperin 0,25 % dalam etanol 96%.
 5. Pada plat KLT, buat garis awal dan garis akhir 1,5 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari atas plat menggunakan pensil dengan hati-hati (jangan sampai tergores)
 6. Totolkan ekstrak dan pembanding masing-masing pada garis awal sebanyak 5 µl dan biarkan mengering
 7. Dengan hati-hati, masukkan plat ke dalam chamber, dan tutup kembali dengan cepat
 8. Biarkan hingga pengembang naik sampai garis akhir
 9. Angkat plat dan keringkan.
 10. Amati noda secara visual dan dibawah lampu UV 254 & 366, tandai dengan pensil, Jika perlu semprot dengan pereaksi kimia
 11. hitung Rf setiap noda, dan gambarkan kromatogram pada setiap tampilan (visual, lampu uv 254, dan lampu uv 366)

PEMISAHAN PARASETAMOL DAN VITAMIN C DALAM TABLET

Fase gerak : etanol-asam asetat glasial = 85:15

Cara kerja:

1. Pembuatan larutan

a. Parasetamol BP

Sejumlah lebih kurang 50 mg parasetamol BP yang ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, kemudian ditambahkan etanol sampai batas tanda (lar P1).

Larutan dipipet 3 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, diencerkan dengan etanol sampai tanda batas, dikocok homogen (lar P2)

b. Vitamin C BP

Sejumlah lebih kurang 10 mg vitamin C yang ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, kemudian ditambahkan etanol sampai batas tanda (lar V1). Larutan dipipet 3 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, diencerkan dengan etanol sampai tanda batas, dikocok homogen (lar V2)

c. Campuran BP

Sejumlah 3 mL lar P1 dan 3 mL lar V1, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL,

diencerkan dengan etanol sampai tanda batas, dikocok homogen (lar PV).

d. Larutan uji:

Ditimbang seksama sejumlah serbuk tablet yang setara dengan berat rata-rata satu tablet (700 mg), dimasukkan ke dalam labu tentukur 100-mL, kemudian 16 ditambahkan etanol sampai batas tanda, dikocok dan disaring. Filtrat dipipet 3 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, diencerkan dengan etanol sampai tanda batas, dikocok homogen..

2. Pengamatan KLT terhadap larutan tersebut di atas

- a. Volume penotolan: masing-masing totolkan sebanyak 5 μ l, tandai dg pensil
- b. Fase diam = silika gel GF 254 ukuran 6 X10 cm
- c. Fase gerak = etanol-asam asetat glacial (85:15)
- d. Jarak rambat = 8 cm
- e. Deteksi = UV 254 nm

3. Tandai bercak parasetamol dan vitamin C, hitung Rf.

4. Gambarkan kromatogram pada setiap tampilan (visual dan lampu UV 254)

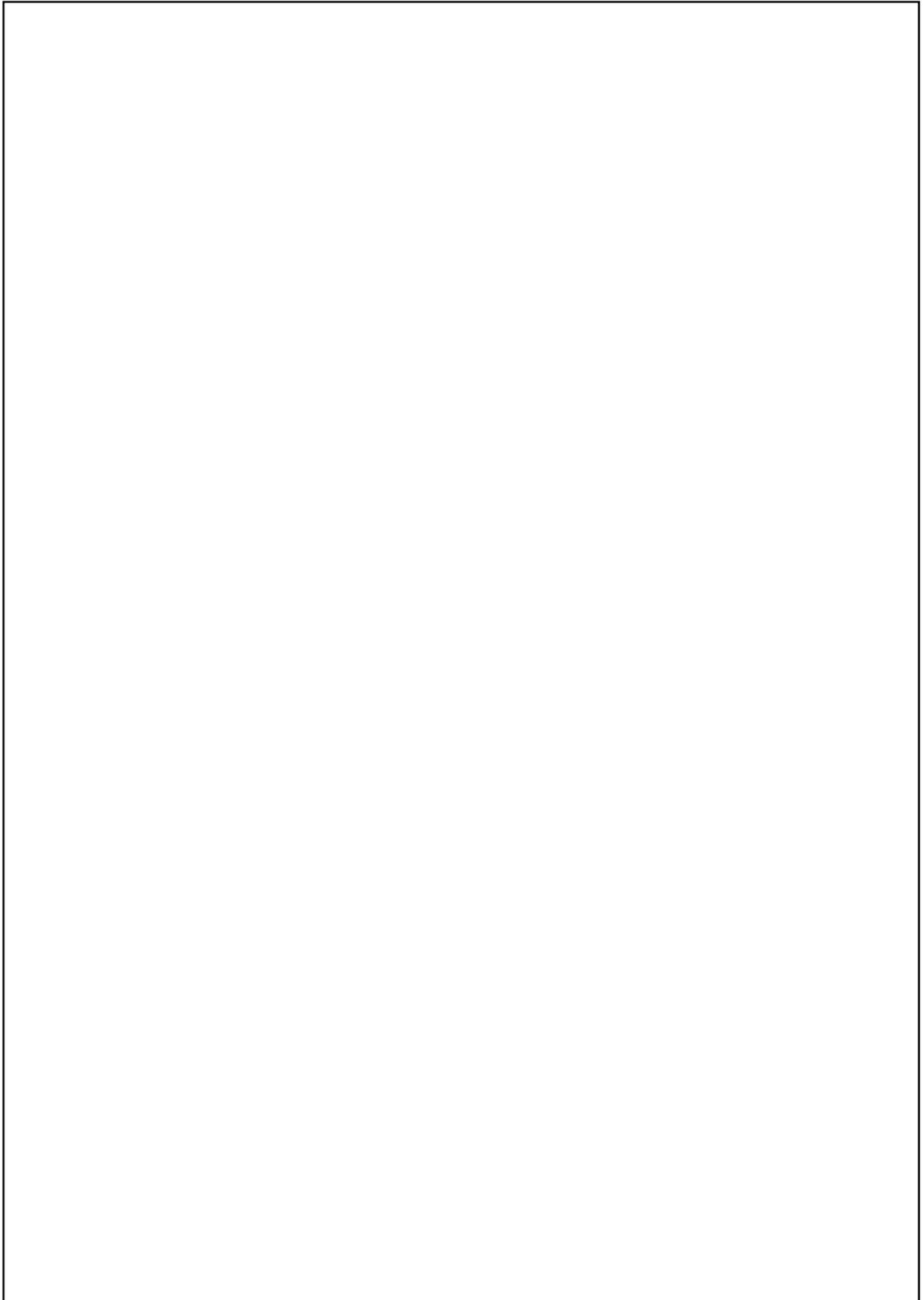
Kelompok 1 KLT fraksi non polar (pengembang heksan:etilasetat=3:2)

Kelompok 2 KLT fraksi semi polar (n-heksan:etil asetat = 2:3)

Kelompok 3 Kertas fraksi polar (BAA \rightarrow butanol: asam asetat: air =4:1:5, diambil fase butanolnya) Kelompok

4 KLT Campuran Obat

E. HASIL PENGAMATAN

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for recording observations. It occupies the majority of the page below the section header.

PERCOBAAN III

KROMATOGRAFI KERTAS

A. TUJUAN PERCOBAAN

Memisahkan senyawa polar secara kromatografi kertas dan menghitung harga Rf.

B. DASAR TEORI

Seperti pada KLT, tapi penjerap yang digunakan adalah kertas Whatman. Senyawa akan terpisah akibat adanya perbedaan kemampuan partisi zat pada air (fasa diam cair yang berada pada serabut kertas) dan pengembang. KKt ini cocok untuk memisahkan senyawa yang cenderung bersifat polar seperti: glikosida flavonoid, asam amino, nukleotida dsb. Kromatografi kertas jika dibandingkan dengan kromatografi lapis tipis memiliki beberapa kelebihan antara lain: tidak memerlukan plat pendukung, kertas dapat diperoleh dengan mudah dalam bentuk murni, panjang serabut pada kertas lebih panjang sehingga lebih banyak terjadi difusi kesamping dan bercak lebih besar. Disamping itu, lapisan selulosa lebih rapat dan pelarut cenderung mengalir lebih cepat dan menghasilkan pemisahan lebih tajam.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat : chamber, pipa kapiler, cawan uap, benang kasur, isolasi.

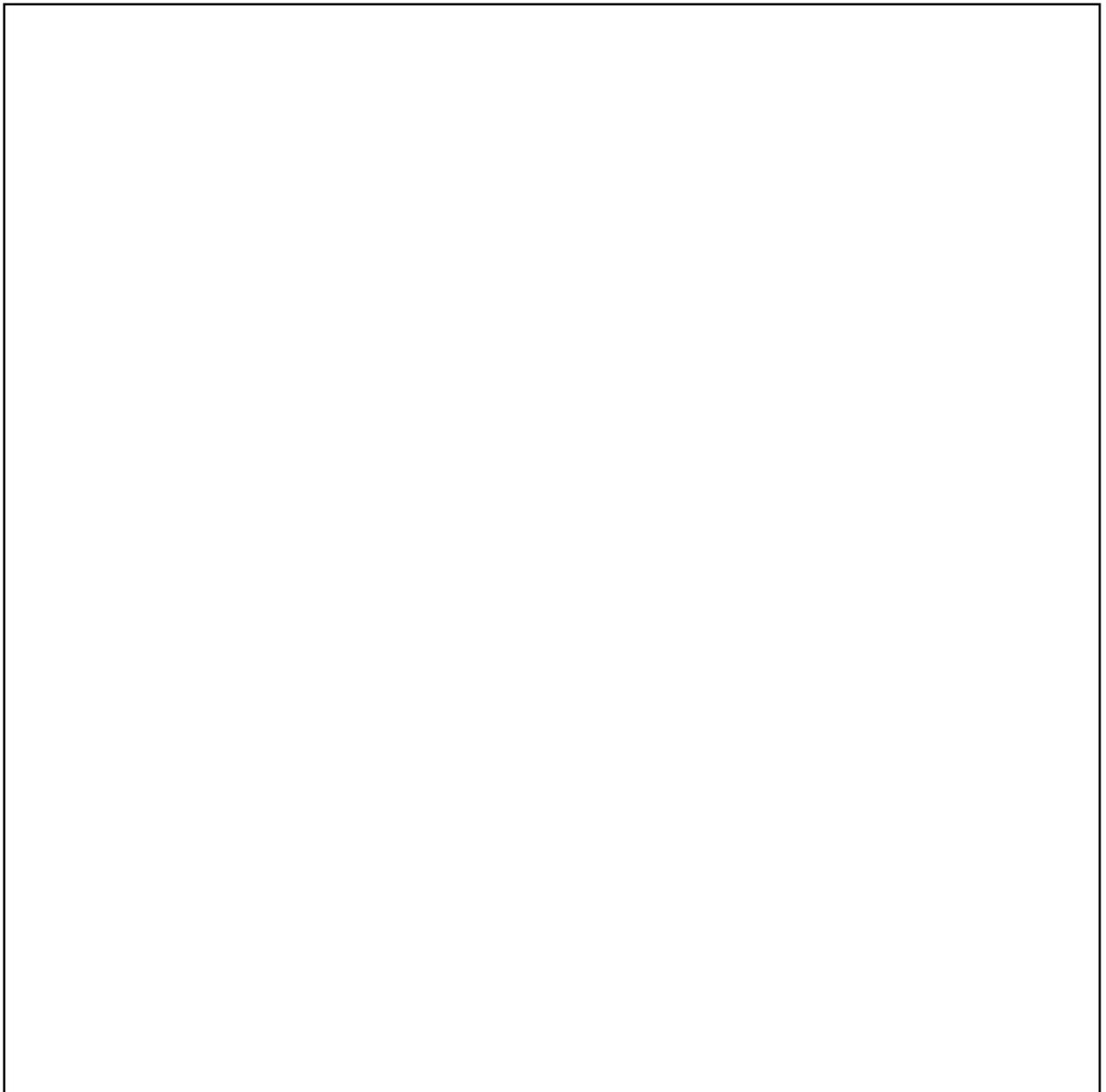
Bahan : ekstrak butanol piperin, methanol, aquadest, asam asetat, kertas Whatman 1

D. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Buat larutan pengembang yaitu butanol:asam asetat:air = 4:1:5 sebanyak 10 mL, ambil fase organiknya.
2. Masukkan larutan pengembang ke dalam chamber dengan ketinggian < 1 cm dan tutup rapat, biarkan terjadi proses penjenuhan selama 15 menit.
3. Larutkan sedikit ekstrak dengan 3 mL metanol.
4. Pada kertas Whatman, buat garis awal 1 cm dari tepi bawah dan 6 cm dari tepi atas kertas menggunakan pensil (perhatikan arah serat).
5. Totolkan ekstrak 10 µl pada garis awal dan biarkan mengering

6. Dengan hati-hati, gantungkan kertas di dalam chamber, tutup kembali dengan cepat.
7. Biarkan hingga pengembang naik sampai garis akhir.
8. Angkat kertas dan keringkan.
9. Amati noda secara visual dan dibawah lampu UV 254 & 366, dan tandai dengan pensil.
10. Hitung Rf setiap noda yang terjadi.
11. Gambarkan kromatogram pada setiap tampilan.

E. HASIL PENGAMATAN



PERCOBAAN IV

KROMATOGRAFI CAIR TINGKAT TINGGI

A. TUJUAN PERCOBAAN

Memahami prinsip dasar analisis dengan KCKT

Memahami analisis kualitatif KCKT

Memahami analisis kuantitatif dengan KCKT

B. DASAR TEORI

Kromatografi Cair Kinerja tinggi atau disingkat dengan KCKT adalah istilah yang populer di Indonesia. Beberapa pihak hanya memberi istilah *LC(Liquid Chromatography)*. Di dunia Internasional digunakan istilah HPLC yang mempunyai dualisme pengertian, yaitu:

- a. *High Performance Liquid Chromatography*
- b. *High Pressure Liquid Chromatography*

Kromatografi merupakan salah satu metode analisis yang perkembangannya dapat dikatakan sangat pesat. Didalam kromatografi tercakup sekaligus metode pemisahan dan metode penentuan baik secara kualitatif dan kuantitatif.

Kromatografi secara umum adalah suatu metode pemisahan cuplikan diantara dua fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa zat padat atau cair. Bila fase gerak yang digunakan adalah zat cair maka metode ini dinamakan dengan kromatografi zat cair. Bila fase gerak yang digunakan berupa cairan yang digerakkan dengan cepat dengan bantuan tekanan dan hasilnya dideteksi dengan instrumen, proses ini disebut dengan

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

Fungsi fase gerak membawa analit untuk masuk dan keluar dari kolom. Pertimbangan pada pemilihan fase gerak, antara lain: sifat dan polaritas analit/sampel, serta polaritas pelarut. KCKT bila ditinjau dari sistem peralatannya kromatografi kolom karena dipakai fase diam yang diisikan di dalam kolom. Namun bika ditinjau dari proses pemisahannya dapat digolongkan kromatografi absorpsi partisi tergantung pada butiran-butiran yang ada

dalam kolom.

Keuntungan KCKT antara lain: waktu analisa singkat, daya pisah baik, peka, kolom, dapat dipakai kembali, dapat digunakan untuk molekul yang besar dan kecil, serta mudah memperoleh kembali cuplikan

Kerugian HPLC, antara lain: hanya untuk senyawa yang dapat larut dalam fase gerak, mahal dan perlu perawatan.

Instrumen

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi terdiri dari beberapa instrumen antara lain:

1. Pompa

Pompa berfungsi untuk mengalirkan fase gerak ke dalam kolom. Pompa KCKT dapat dibagi menjadi 2 jenis, yaitu pompa tekanan dan pompa volume tetap. Pompa umumnya terbuat dari bahan gelas, baja, teflon dan batu nilam.

2. Injektor

Berfungsi untuk memasukkan cuplikan ke dalam kolom.

3. Kolom

Kolom merupakan jantungnya pemisahan dalam sistem kromatografi. Kolom merupakan bagian dari KCKT yang berfungsi untuk memisahkan masing-masing komponen. Kolom terdiri dari tabung isinya yang umumnya terbuat dari gelas atau baja tahan karat, mempunyai diameter internal 4,5-5 mm dan panjang 10-30 cm, kolom dibuat dengan diameter yang sangat kecil dengan tujuan agar: lebih peka, menghemat bahan penganmbang, memperluas kemampuan detektoe dan memungkinkan menganalisis sampel dengan umlah yang kecil.

Kolom yang baik mempunyai daya pisah (resolusi) yang baik, resolusi adalah parameter yang menunjukkan apakah dua komponen terpisah dengan baik atau tidak. Pemisahan yang baik ditandai dengan puncak-puncak yang terpisah sampai garis dasar dan bentuk runcing. Daya pisah diidentifikasi sebagai jarak antara puncak dibagi rata-rata dan puncak yang diukur pada alas puncak.

Pengisi Kolom dapat berupa: Okil Silan(C8), Okta Desil Silan (C18), silica, senyawa Sianida dan senyawa lain.

Pertimbangan pemilihan Kolom, antara lain: sifat analit, isi Kolom, efisiensi

Kolom, panjang Kolom, diameter Kolom, tekanan dalam Kolom, serta informasi dari pustaka, kolega dan produsen

4. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi komponen yang ada dalam eluat dan mengukur jumlahnya. Idealnya detektor harus mempunyai sensitifitas yang baik terhadap semua komponen yang ada dalam eluat.

Macam-macam detektor antara lain: detektor Fotometrik, detektor Elektrokimia, detektor Indeks Bias, detektor Konduktivitas

Pertimbangan pemilihan detektor, antara lain: sensitivitas, linearitas, reproduksibel, mudah dioperasikan, mudah dalam perawatan, rekorder atau integrator

Ketika larutan meninggalkan kolom, konsentrasinya di dalam kolom diukur oleh detektor dan sinyal yang terbentuk dimasukkan ke dalam alat perekam (rekorder). Integrator elektronik mengubah sinyal kromatografi menjadi bentuk angka secara otomatis dengan sangat tepat.

FASE DIAM DAN FASE GERAK

Fase diam dapat berupa zat padat yang berfungsi sebagai medium yang menyerap atau permukaan zat cair yang terdapat dalam sejenis zat padat. Fase diam yang digunakan adalah: Oktil Silan(C8), Okta Desil Silan (C18), silica, senyawa Sianida dan senyawa lain.

Fase diam dan fase gerak yang digunakan tergantung pada mekanisme pemisahan yang dipilih. Jenis mekanisme pemisahan dipilih berdasarkan sifat-sifat dan karakteristik dari komponen yang akan dipisahkan. Beberapa ketentuan yang harus diperhatikan dalam pemilihan fase diam adalah: Sifat kimia sampel, ukuran partikel dasar penyusun kolom dan dimensi kolom.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

- Buku standar (kafein, parasetamol)
- Alat Gelas dan perlengkapannya KCKT

Bahan :

- Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
- Asetonitril, Metanol, Aquabidest

D. PROSEDUR PRAKTIKUM**1. Pembuatan larutan standar kafein**

- Timbang seksama kafein 50,0 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan sampai tanda dengan pelarut campur. Buat konsentrasi 10 µg/ml.
- Nyalaka pompa dan detektor, atur panjang gelombang pengukuran (sesuai Panjang gelombang maksimal pada analisis dengan spektrofotomer uv-vis). Alirkan fase gerak (fase gerak sesuai pustaka), atur kecepatan aliran sebesar 1 ml/menit.
- Injeksikan larutan standar ke dalam kolom, biarkan fase gerak melewati kolom
- Amati waktu retensi standar atau luas area dibawah kurva
- Amati hasil kromatogram.

2. Pembuatan larutan standar parasetamol

- Timbang seksama parasetamol 50,0 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan sampai tanda dengan pelarut campur. Buat konsentrasi 10 µg/ml.
- Nyalaka pompa dan detektor, atur panjang gelombang pengukuran (sesuai Panjang gelombang maksimal pada analisis dengan spektrofotomer uv-vis). Alirkan fase gerak (fase gerak sesuai pustaka), atur kecepatan aliran sebesar 1 ml/menit.
- Injeksikan larutan standar ke dalam kolom, biarkan fase gerak melewati kolom
- Amati waktu retensi standar atau luas area dibawah kurva
- Amati hasil kromatogram.

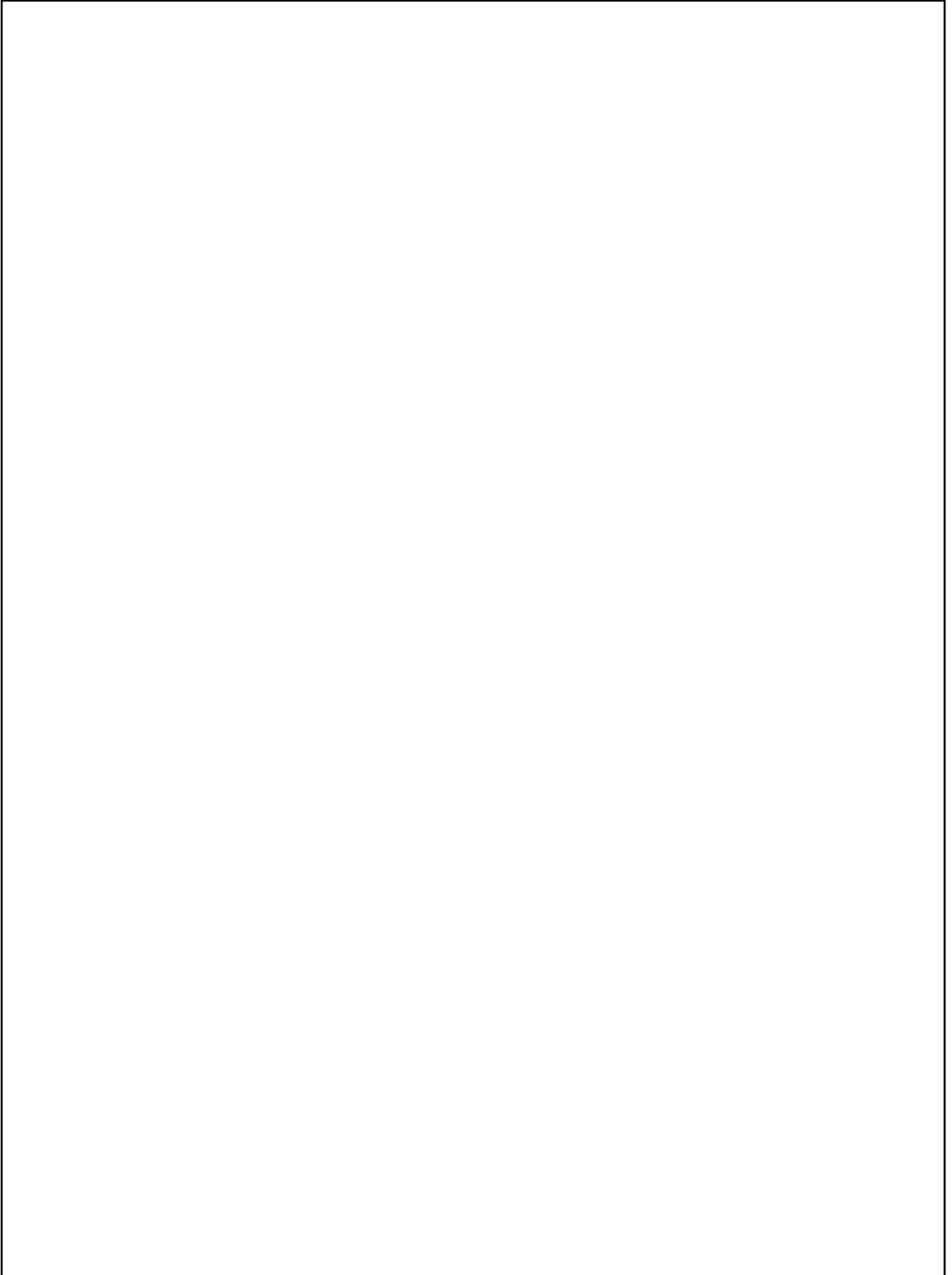
3. Pembuatan larutan standar campuran kafein dan parasetamol

- Timbang seksama kafein dan parasetamol 50,0 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan sampai tanda dengan pelarut campur. Buat konsentrasi 10 µg/ml.
- Nyalaka pompa dan detektor, atur panjang gelombang pengukuran (sesuai Panjang gelombang maksimal pada analisis dengan spektrofotomer uv-vis). Alirkan fase gerak (fase gerak sesuai pustaka), atur kecepatan aliran sebesar 1 ml/menit.
- Injeksikan larutan standar ke dalam kolom, biarkan fase gerak melewati kolom
- Amati waktu retensi standar atau luas area dibawah kurva
- Amati hasil kromatogram.

4. Penetapan kadar sampel dalam sediaan yang beredar

- Timbang setara 20 mg sediaan yang mengandung parasetamol dan coffein, larutkan dalam pelarut yang sesuai. Buat konsentrasi 5µg/ml, 10µg/ml, 20µg/ml.
- Nyalaka pompa dan detektor, atur panjang gelombang pengukuran (sesuai Panjang gelombang maksimal pada analisis dengan spektrofotomer uv-vis). Alirkan fase gerak (fase gerak sesuai pustaka), atur kecepatan aliran sebesar 1 ml/menit.
- Injeksikan larutan standar ke dalam kolom, biarkan fase gerak melewati kolom
- Amati waktu retensi standar atau luas area dibawah kurva
- Amati hasil kromatogram.

E. HASIL PENGAMATAN

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for recording observations. It occupies the majority of the page below the section header.

PERCOBAAN V

PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM MENGGUNAKAN UV-VIS

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami fungsi lamda (panjang gelombang) maksimum dan cara menentukannya

B. DASAR TEORI

Spektrofotometri adalah studi mengenai antaraksi cahaya dengan atom dan molekul. Radiasi cahaya atau elektromagnet dapat dianggap menyerupai gelombang sedangkan Spektrofotometer alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang.

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopik yang menggunakan radiasi elektromagnetik. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200 - 400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400 - 750 nm.

Penentuan panjang gelombang maksimum senyawa bahan pewarna berdasarkan daya serapan dilihat dari absorbansi maksimal zat yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu terhadap radiasi elektromagnetik sinar tampak

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi
8. Bola hisap

9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

1. CuSO_4 0.1 M
2. Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Masukkan sampel ke dalam kuvet
3. Baca absorbansi dengan rentang 20 nm pada spectrometer UV-Vis dengan melakukan *scanning*
4. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

E. HASIL PENGAMATAN

No	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi

PERCOBAAN VI
PENENTUAN KADAR ANALIT METODE STANDAR EKSTERNAL *SINGLEPOINT*
CALIBRATION

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami metode standar eksternal *singlepoint calibration* dan cara penentuan kadar analit menggunakan metode tersebut

B. DASAR TEORI

Metode standar eksternal merupakan metode yang digunakan untuk menetapkan konsentrasi senyawa yang tidak diketahui konsentrasinya dalam suatu sampel dengan menggunakan plot kalibrasi kurva baku eksternal. Larutan-larutan kurva baku eksternal disiapkan dan dianalisis secara terpisah dari kromatogram senyawa tertentu yang ada dalam sampel. Sampel yang mengandung senyawa tertentu yang akan ditetapkan konsentrasinya dan telah disiapkan, selanjutnya diinjeksikan dan dianalisis dengan cara yang sama. Konsentrasi senyawa tersebut ditentukan dengan metode grafik dari plot kalibrasi atau secara numerik.

Standar eksternal dapat menggunakan hanya satu standar saja sebagai rujukan yaitu metode *singlepoint calibration*.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi

8. Bola hisap
9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

1. CuSO_4 0.1 M (standar)
2. Sampel *unknown*
3. Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Masukkan sampel ke dalam kuvet
3. Baca absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang 580 nm
4. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

V. HASIL PENGAMATAN

No	Jenis	Absorbansi
	Standar	
	Sampel	

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

PERCOBAAN VII
PENENTUAN KADAR ANALIT METODE STANDAR EKSTERNAL *MULTIPLEPOINT*
CALIBRATION

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami metode standar eksternal *multiplepoint calibration* dan cara penentuan kadar analit menggunakan metode tersebut

B. DASAR TEORI

Metode standar eksternal merupakan metode yang digunakan untuk menetapkan konsentrasi senyawa yang tidak diketahui konsentrasinya dalam suatu sampel dengan menggunakan plot kalibrasi kurva baku eksternal. Larutan-larutan kurva baku eksternal disiapkan dan dianalisis secara terpisah dari kromatogram senyawa tertentu yang ada dalam sampel. Sampel yang mengandung senyawa tertentu yang akan ditetapkan konsentrasinya dan telah disiapkan, selanjutnya diinjeksikan dan dianalisis dengan cara yang sama. Konsentrasi senyawa tersebut ditentukan dengan metode grafik dari plot kalibrasi atau secara numerik.

Standar eksternal dapat menggunakan deret standar untuk menentukan nilai konsentrasi suatu sampel yang belum diketahui.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi

8. Bola hisap
9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

1. CuSO_4 1 M (standar)
2. Sampel *unknown*
3. Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Buatlah deret standar dari larutan standar Cu 1 M dengan memipet 1, 2, 3, 4, 5 (ml) ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan akuades hingga batas tera
3. Baca absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang 580 nm
4. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

E. HASIL PENGAMATAN

No	Jenis	Konsentrasi (M)	Absorbansi
1	Standar	0.1	
2		0.2	
3		0.3	
4		0.4	
5		0.5	
6	Sampel	Unknown	

PERCOBAAN VIII

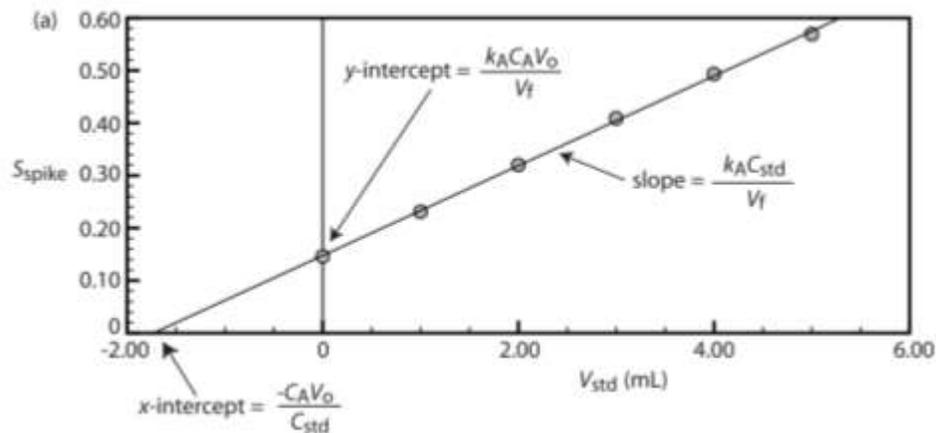
PENENTUAN KADAR ANALIT METODE STANDAR ADISI

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami metode standar adisi dan cara penentuan kadar analit menggunakan metode tersebut

B. DASAR TEORI

Metoda adisi standar adalah metoda dimana sampel yang akan dianalisis ditambahkan dengan larutan standar yang diketahui konsentrasinya untuk meminimalkan kesalahan yang di sebabkan oleh berbagai matrik. Metoda ini mampu meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi lingkungan (matrik) sampel dan standar.



C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi
8. Bola hisap

9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

4. CuSO_4 1 M (standar)
5. Sampel *unknown*
6. Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Pipet 1 ml sampel ke dalam 6 labu ukur 10 ml
3. Pipet dari larutan standar Cu 1 M dengan memipet 1, 2, 3, 4, 5 (ml) ke dalam labu ukur 10 ml berisi sampel dan diencerkan dengan akuades hingga batas tera
4. Baca absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang 580 nm
5. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

E. HASIL PENGAMATAN

No	Volume sampel (ml)	Volume standar (ml)	Absorbansi
1	1	0	
2	1	1	
3	1	2	
4	1	3	
5	1	4	
6	1	5	

PERCOBAAN IX
VALIDASI METODE : PENENTUAN LINEARITAS

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami linearitas dan cara menentukannya

B. DASAR TEORI

Linearitas (*Linearity*) Penentuan linearitas dilakukan dengan mengukur absorbansi suatu seri konsentrasi larutan baku pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan membuat suatu persamaan garis regresi linear dan ditentukan koefisien korelasinya. Dari hasil analisis tersebut dapat ditentukan linearitasnya, dengan membandingkan nilai r hitung hasil regresi dengan r tabel pada taraf kepercayaan 95%. Jika r hitung $>$ r tabel, maka linearitasnya baik dan dapat digunakan untuk perhitungan akurasi dan presisi.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi
8. Bola hisap
9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

1. $K_2Cr_2O_4$ 1 M
2. Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Buatlah seri standar $K_2Cr_2O_4$ dengan konsentrasi (0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,8 ; 1) M
3. Baca absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang 450 nm
4. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

E. HASIL PENGAMATAN

No	Jenis	Konsentrasi (M)	Regresi (r)
1	Standar	0.1	
2		0.2	
3		0.3	
4		0.4	
5		0.5	

PERCOBAAN X

VALIDASI METODE : PENENTUAN KETELITIAN (PRESISI)

A. TUJUAN PERCOBAAN

Setelah melakukan percobaan ini diharapkan mahasiswa memahami ketelitian (presisi) dan cara menentukannya menggunakan instrument analisis

B. DASAR TEORI

Pengujian presisi yang dilakukan adalah kategori keterulangan (repeatability). Pengujian dilakukan dengan menimbang sampel dilarutkan dalam larutan sehingga diperoleh beberapa deret konsentrasi. Masing-masing diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV. Ketelitian ditentukan sebagai simpangan baku (SD) atau koefisien variasi (KV). Ketelitian untuk keperluan analisis dikatakan cukup baik jika $KV \leq 2\%$.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Spektrofotometer UV-Vis
2. Pipet tetes
3. Kuvet
4. Botol semprot
5. Beaker glass
6. Tabung reaksi
7. Rak tabung reaksi
8. Bola hisap
9. Pipet tetes
10. Pipet ukur

Bahan :

$K_2Cr_2O_4$ 1 M dan Akuades

D. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Nyalakan spektrofotometer dan biarkan stabil kurang lebih 15 menit
2. Buatlah seri standar $K_2Cr_2O_4$ dengan konsentrasi (0,1 ; 0,2 ; 0,4) M masing-masing 5 buah
3. Baca absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang 450 nm
4. Catat hasil dan buatlah kesimpulan

E. HASIL PENGAMATAN

No	Konsentrasi standar (M)	Pengulangan (Absorbansi)	Regresi (r)	efisien variasi (KV)
1	0.1			
2				
3				
4				
5				
1	0.2			
2				
3				
4				
5				
1	0.4			
2				
3				
4				
5				

PERCOBAAN XI
IDENTIFIKASI PARACETAMOL DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI
INFRAMERAH

A. TUJUAN PERCOBAAN

Mahasiswa mampu menganalisis menggunakan metode Spektrofotometri IR.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometer IR, lumping dan alu, alat gelas

Bahan : serbuk KBr, parasetamol

C. PROSEDUR PERCOBAAN

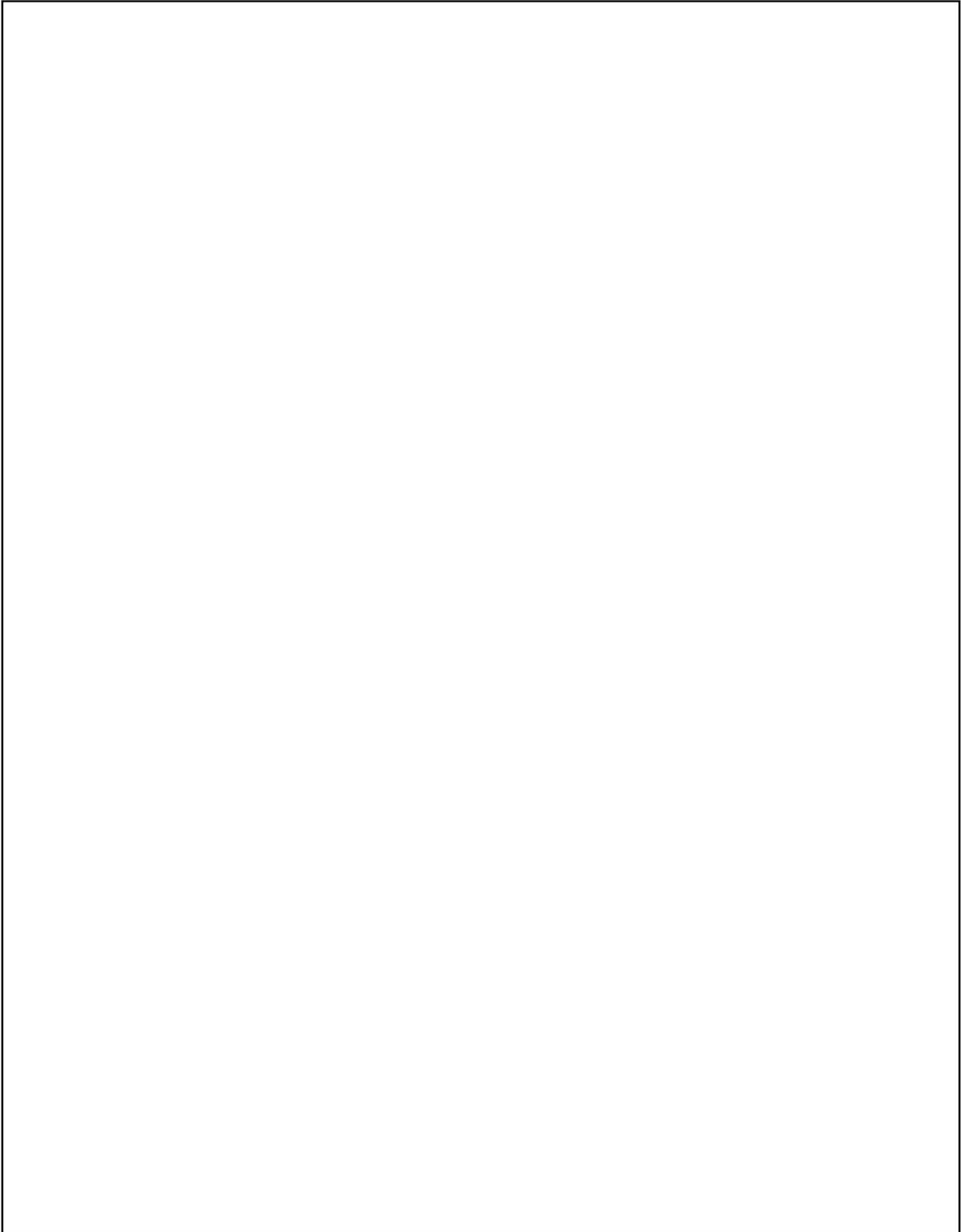
1. Pembuatan KBr pellet blanko

Timbang kira-kira 300 gram serbuk KBr kering dalam tempat yang terbuat dari plastik. Siapkan perlengkapan untuk pencampuran KBr dengan sampel parasetamol dan penggerusan. Lakukan pencampuran, penggerusan dan pengeringan untuk memperoleh campuran sampel dan serbuk KBr. Kemudian lakukan penekanan atau pengempaan campuran serbuk KBr dengan alat pembuat pellet KBr. Terakhir, lakukan analisis sampel dengan alat spektrofotometer inframerah.

2. Analisis sampel

Bila jumlah sampel banyak maka, sampel dapat dianalisis langsung sejumlah tertentu serbuk dan diletakkan pada wadah sesuai pada alat spektrofotometer inframerah dan operasikan alat.

D. HASIL PENGAMATAN

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for recording observations. It occupies most of the page below the section header.

DAFTAR PUSTAKA

- Dachriyanus., dkk. 2019. Penuntun Praktikum Analisis Fisikokimia. Universitas Andalas. Sumatera Utara.
- Gritter RJ, Bobbitt JM, Schwarting AE. Pengantar Kromatografi. Edisi kedua. Bandung: Penerbit ITB. 1991
- Musir, Ahmad., dkk. 2013. Penuntun Praktikum Teknologi Pemisahan. Universitas Pancasila. Jakarta.
- Skoog, Holler, Crouch. Principles of Instrumental Analysis. 6th ed. Thomson Belmont: Brooks/Cole. 2007.

FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM

1. Menggunakan kertas ukuran A4
2. Batas kiri 4cm, batas kanan 3 cm, batas atas 3 cm dan batas bawah 3 cm
3. Laporan harus ditulis tangan dengan rapi
4. Format laporan sebagai berikut :

HALAMAN JUDUL

Berisi : Judul Percobaan, Nama Praktikan dan Nomor Induk Mahasiswa

CONTOH FORMAT HALAMAN JUDUL :

	3 cm	
	PRAKTIKUM FARMASI FISIK "JUDUL PERCOBAAN"	
	L O G O	
4 cm	<u>NAMA MAHASISWA</u> NIM :.....	3 cm
	PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS BINAWAN 2021	
	3 cm	

- I. **Tujuan Praktikum**
Berisi : tujuan praktikum yang sudah tertulis di panduan praktikum
- II. **Dasar Teori**
Berisi : Uraian tentang teori yang melandasi percobaan dan teori-teori terkait dengan menyebutkan sumber pustakanya.
Dasar teori yang digunakan : minimal 5 sumber
Sumber yang diperbolehkan : Buku cetak/online, Jurnal
- III. **Alat dan Bahan**
Berisi : Alat dan Bahan yang digunakan selama praktikum
- IV. **Prosedur Percobaan**
Berisi : Rangkaian prosedur percobaan yang dilakukan selama praktikum. Prosedur percobaan ditulis dalam bentuk diagram alir
- V. **Hasil Pengamatan dan Pembahasan**
Berisi : Penjelasan tentang jalannya percobaan, kesesuaian antara teori dengan hasil percobaan, hasil pengamatan dan analisis tentang data hasil percobaan
- VI. **Kesimpulan**
Berisi : Uraian tentang kaitan antara tujuan percobaan dengan hasil yang diperoleh
- VII. **Daftar Pustaka**
Berisi : Uraian tentang, judul buku yang diacu
Sistematikan penulisan daftar pustaka sebagai berikut :
Nama Penulis. Tahun terbitan. Judul Buku (huruf miring), jilid, edisi. Kota terbit:Penerbit
Contoh :
Petrucci, Ralph H. 1987. *Kimia Dasar Prinsip dan Terapan Modern Edisi Keempat Jilid 2*. Jakarta: Erlangga