

MODUL PRAKTIKUM KIMIA ANALITIK

TIM PENYUSUN ::

Sarah Giovani, S.TP., M.Sc.Agr.
Nafisah Eka Puteri, S.TP., M.Si.



**Program Studi
Teknologi Pangan
Fakultas Sains dan Teknologi**



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat-Nya, sehingga pembuatan buku Petunjuk Praktikum Kimia Analitik Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al-Azhar Indonesia dapat terlaksana. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah SAW.

Buku petunjuk praktikum Kimia Analitik adalah acuan pelaksanaan praktikum yang harus dilaksanakan oleh mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan Universitas Al-Azhar Indonesia semester 3. Panduan praktikum ini berisi tentang materi, bahan dan alat-alat yang dibutuhkan dalam praktikum serta cara kerja untuk menjalankan praktikum. Praktikum Kimia Analitik merupakan salah satu rangkaian kegiatan akademik untuk mengembangkan kemampuan dasar kompetensi khususnya aspek psikomotorik dan afektif dalam hal kemampuan keterampilan dasar di laboratorium.

Dengan adanya buku petunjuk praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu memahami prosedur pelaksanaan praktikum, sehingga mahasiswa akan memiliki kemampuan menganalisa dan mengevaluasi hasil praktikum sesuai dengan teori dasar. Penyusunan buku panduan praktikum ini masih sangat banyak kekurangannya. Oleh karena itu, kami mohon kritik dan saran dari para pembaca supaya buku petunjuk praktikum ini selanjutnya dapat tersusun dengan lebih baik.

Jakarta, 20 September 2020
Tim Penyusun
Prodi Teknologi Pangan UAI
Fakultas Sains dan Teknologi

TATA TERTIB DAN PELAKSANAAN PRAKTIKUM

(versi praktikum *online*)

SKEMA PELAKSANAAN PRAKTIKUM *ONLINE*

Pelaksanaan praktikum secara *online* selama masa pandemi akan dilakukan dengan menggunakan skema berikut ini.

1. Semua judul praktikum akan dilaksanakan secara *online*.
2. Dosen pengampu menyiapkan materi praktikum berupa video tutorial, handout tambahan, data sekunder, serta bentuk materi lainnya.
3. Semua materi praktikum diupload oleh dosen ke dalam *e-learning*, minimal 1 minggu sebelum judul praktikum tersebut dilaksanakan.
4. Data sekunder praktikum dapat diperoleh dari jurnal, artikel populer, karya ilmiah (skripsi, tesis), maupun yang lainnya.
5. Jika ada judul praktikum yang mengharuskan untuk praktik (karena berkaitan dengan pengembangan *skill* laboratorium dan merupakan dasar keilmuan prodi) maka direncanakan untuk dilakukan praktikum pengganti secara tatap muka setelah kondisi kembali normal.
6. Pelaksanaan praktikum pengganti tersebut hanya merupakan praktikum pengayaan. Tidak mempengaruhi sistem penilaian, terkecuali jika praktikum pengganti dapat dilaksanakan selama minggu tenang sebelum UAS.

KETENTUAN PELAKSANAAN PRAKTIKUM *ONLINE*

Berikut ialah ketentuan umum dalam pelaksanaan praktikum secara *online* beserta kriteria penilaian selama praktikum.

1. Jadwal pelaksanaan praktikum *online* Kimia Analitik sesuai dengan jadwal yang ada pada *Student Desk*. Pertemuan praktikum dimulai sesuai dengan waktu yang tertera pada *Student Desk* dan berakhir ketika materi selesai disampaikan (maksimal penyampaian materi 50 menit).
2. Seluruh peserta praktikum wajib mengikuti semua kegiatan praktikum (100% kehadiran).
3. Materi praktikum dapat berupa video, handout tambahan (selain modul praktikum), maupun studi kasus dan diupload ke *e-learning*, sehingga semua mahasiswa dan asisten praktikum dapat mengakses materi dengan mudah.
4. Dosen pengampu mata praktikum diperbolehkan memberi materi serta penjelasan lebih lanjut menggunakan media *online* (zoom, obs, recording, dll).
5. Bentuk penilaian praktikum mengikuti format penilaian yang terdiri dari poin kehadiran, keaktifan, logbook, *pre-test/post-test*, dan laporan praktikum
6. Mahasiswa dapat melakukan diskusi tentang materi praktikum di "forum" (salah satu *tools* di *e-learning*).
7. Presensi atau kehadiran mahasiswa dilakukan setelah mahasiswa memenuhi 3 kriteria, yaitu:

Kriteria 1 Mengumpulkan LogBook	
a	Asisten praktikum membuka kelas online melalui grup chat
b	Asisten praktikum mengarahkan mahasiswa untuk mengumpulkan logbook melalui grup chat dalam rentang waktu tertentu (15 menit)
Kriteria 2 Mengumpulkan Jawaban Pre-Test	
a	Asisten Praktikum memberikan soal pre-test melalui grup chat

b	Soal pre-test dibagikan kepada mahasiswa tepat setelah mengumpulkan logbook dan dibatasi waktu pengerjaannya selama 15-30 menit tergantung tingkat kesulitan soal
Kriteria 3 Mengumpulkan Summary	
a	Asisten praktikum mengarahkan mahasiswa untuk mengumpulkan <i>summary</i> (ringkasan) dari materi praktikum (video atau handout tambahan) dalam rentang waktu 170 menit. Rentang waktu tersebut merupakan waktu kegiatan praktikum <i>online</i> berlangsung (<i>summary</i> bukan laporan praktikum)

KEWAJIBAN PESERTA PRAKTIKUM

Asisten praktikum memiliki kewajiban sebagai berikut.

1. Wajib membuat grup chat (whatapps/line) dan memasukkan semua praktikan ke dalam grup, termasuk dosen pengampu.
2. Wajib menyiapkan soal pre-test dan atau post-test setiap kali praktikum *online*.
3. Soal pre-test dan atau post-test, dibagikan kepada peserta praktikum melalui grup chat atau melalui kolom forum di dalam *e-learning* (koordinasikan dengan dosen pengampu praktikum).
4. Wajib membuat dan menyimpan pemberkasan selesai praktikum dalam bentuk soft file, seperti form absensi dan form penilaian.
5. Melakukan proses penilaian kepada setiap mahasiswa seperti sebelumnya.

Sementara praktikan memiliki kewajiban sebagai berikut.

1. Praktikan tetap membuat logbook setiap kali akan praktikum *online*.
2. Logbook dikumpulkan kepada asisten praktikum dengan cara difoto/scan dan dikirimkan via grup (whatapps/line).
3. Laporan praktikum atau laporan hasil studi kasus dikumpulkan satu minggu setelah praktikum *online*. Ketentuan waktu pengumpulan laporan mengikuti aturan sebelumnya.
4. Laporan praktikum dikumpulkan melalui *e-learning*.

SANKSI DALAM PELAKSANAAN PRAKTIKUM ONLINE

Bagi praktikan yang tidak memenuhi ketentuan serta aturan pelaksanaan praktikum *online*, akan diberikan sanksi dengan ketentuan sebagai berikut.

1. Tidak mengumpulkan pre-test, logbook, dan *summary*, maka mahasiswa dianggap tidak mengikuti praktikum (*alpha*).
2. Praktikan yang tidak hadir dalam praktikum *online*, tetap diwajibkan membuat laporan praktikum/laporan hasil studi kasus/makalah.
3. Jika tidak dapat hadir karena sakit diharapkan menunjukkan surat keterangan dokter. Jika tidak dapat hadir karena terdapat kepentingan organisasi, lomba atau kegiatan lain yang berhubungan dengan kampus diharapkan menunjukkan surat keterangan dari acara terkait.
4. Toleransi keterlambatan pengumpulan laporan praktikum hanya berlaku 1 hari dan mahasiswa mendapatkan pengurangan skor laporan 50%.

PENILAIAN

1. Dosen pengampu merekap semua nilai yang sudah terkumpul selama 1 semester.
2. Total nilai praktikum adalah 100%. Nilai akhir praktikum akan dikonversi ke dalam huruf mutu sesuai ketentuan fakultas. Persentase penilaian akhir praktikum ialah :
 Nilai kehadiran 10%
 Nilai kerja selama proses praktikum 5%
 Nilai log book, pre-test, dan post-test 10%

Nilai laporan hasil praktikum 40%

Nilai ujian komprehensif 35%

3. Apabila praktikan melakukan kecurangan baik pada saat pre-test atau post-test, laporan hasil praktikum, maupun ujian komprehensif, maka akan diberikan **nilai nol**.

KETENTUAN LAPORAN PRAKTIKUM

PENULISAN LAPORAN

Laporan praktikum ditulis tangan dengan tinta hitam menggunakan kertas A4. Margin halaman ialah kiri 3 cm, atas 3 cm, kanan 2 cm, dan bawah 2 cm.

SISTEMATIKA LAPORAN

Sistematika dalam penulisan laporan praktikum secara berurutan ialah sebagai berikut.

Cover Laporan

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

1.2 Tujuan Percobaan

Bab II Dasar Teori (minimal 15 halaman) Bab III

Metodologi Percobaan

3.1 Alat yang Digunakan

3.2 Bahan yang Digunakan

3.3 Gambar Alat

3.4 Prosedur Percobaan

Bab IV Analisis Data dan Pembahasan

Bab V Jawaban Pertanyaan (jika ada)

Bab VI Kesimpulan

Daftar Pustaka

Lampiran

FORMAT COVER LAPORAN

LAPORAN PRAKTIKUM

**PRAKTIKUM KE-
.....(JUDUL PRAKTIKUM).....**

Nama Mahasiswa :

NIM :

Tanggal Praktikum :

Asisten Praktikum :

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA
TAHUN XXXX**

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ii
TATA TERTIB DAN	iii
KETENTUAN	vi
FORMAT COVER LAPORAN	vii
PRAKTIKUM 1	1
PRAKTIKUM 2	4
PRAKTIKUM 3	7
PRAKTIKUM 4	10
PRAKTIKUM 5	12
PRAKTIKUM 6	15
PRAKTIKUM 7	17
PRAKTIKUM 8	20
PRAKTIKUM 9	23
PRAKTIKUM 10	26

PRAKTIKUM 1

KALIBRASI

PENDAHULUAN

Prinsip kalibrasi alat ukur volume dilakukan dengan mengukur bobot suatu volume aqua destilata yang dikeluarkan oleh alat ukur volume. Bobot ini kemudian dibandingkan dengan bobot jenis air pada suhu pengukuran volume tersebut dilakukan, sehingga dapat ditentukan nilai ketepatannya. Alat ukur volume (labu ukur, buret, dan pipet) merupakan peralatan yang digunakan dalam analisis titrimetri (volumetri). Kalibrasi alat ukur volume dilakukan untuk menyesuaikan keluaran atau indikasi dari suatu perangkat pengukuran volume agar sesuai dengan besaran dari standar yang digunakan dalam akurasi tertentu.

TUJUAN PERCOBAAN

Tujuan percobaan ialah untuk mengetahui layak atau tidaknya alat ukur volume yang akan digunakan di laboratorium.

ALAT DAN BAHAN

Alat dan bahan yang digunakan adalah buret 25 ml, labu ukur 50 ml, pipet seukuran, termometer, erlenmeyer, corong kaca, statif dan klem, neraca analitik, botol semprot, dan aqua destilata.

PROSEDUR PERCOBAAN

Kalibrasi Buret

Timbang erlenmeyer 50 ml yang bersih dan kering. Siapkan buret 25 ml yang bersih dan kering. Buret diisi dengan aqua destilata yang telah diukur temperaturnya sampai penuh, kemudian buret ini ditempatkan pada statif dengan posisi tegak lurus. Alirkan air sampai meniskus buret di angka nol. Tempatkan erlenmeyer 50 ml yang sudah ditimbang di buret. Sebanyak 10 ml aqua destilata dikeluarkan dari buret dan tampung dalam erlenmeyer yang sudah diketahui beratnya. Catat hasil penimbangan. Ulangi langkah tersebut menggunakan buret volume 10, 15, 20, dan 25 ml. Penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali pada masing-masing volume. Tentukan volume rata-rata, standar deviasi, akurasi, dan persen kesalahan.

Kalibrasi Pipet Seukuran

Timbang erlenmeyer 50 ml yang sudah bersih dan kering. Transferkan sebanyak 25 ml aqua destilata yang telah diukur suhunya dengan pipet seukuran 25 ml ke dalam erlenmeyer 50 ml yang sudah diketahui beratnya. Catat hasil penimbangan. Penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali. Tentukan volume rata-rata, standar deviasi, akurasi, dan persen kesalahan.

Kalibrasi Labu Ukur

Timbang labu ukur 50 ml yang sudah bersih dan kering, kemudian isi labu ukur tersebut dengan aqua destilata yang telah diukur suhunya sampai tanda batas, kemudian timbang. Catat hasil penimbangan. Penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali. Tentukan volume rata-rata, standar deviasi, akurasi, dan persen kesalahan.

Tabel 1. Berat Jenis Air

Berat Jenis Air ($T^{\circ}\text{C}$)	BJ (g/ml)
23	0,99756
24	0,99732

25	0,99707
26	0,99681
27	0,99654
28	0,99626
29	0,99597

Tabel 2. Pengamatan Kalibrasi Buret

No	Penimbangan	5 ml	10 ml	15 ml	20 ml	25 ml
1	Berat wadah + aqua destilata (gram)					
2	Berat wadah (gram)					
3	Berat aqua destilata (gram)					
4	Suhu					
5	BJ					

Tabel 3. Pengamatan Kalibrasi Pipet Seukuran dan Labu Ukur

No	Pengamatan	Penimbangan		
		1	2	3
1	Berat wadah + aqua destilata (gram)			
2	Berat wadah (gram)			
3	Berat aqua destilata (gram)			
4	Suhu			
5	BJ			

PRAKTIKUM 2

ANALISIS KUALITATIF KATION DAN ANION

PENDAHULUAN

Analisis kualitatif membahas tentang identifikasi unsur atau senyawa apa yang terdapat dalam suatu sampel. Dalam analisis kualitatif dikenal suatu cara untuk menentukan ion (kation/anion) tertentu dengan menggunakan pereaksi selektif dan spesifik. Pereaksi selektif adalah pereaksi yang memberikan reaksi tertentu untuk satu jenis kation/anion tertentu. Dengan menggunakan pereaksi-pereaksi ini maka akan terlihat adanya perubahan-perubahan kimia yang terjadi, misalnya terbentuk endapan, terjadinya perubahan warna, bau dan timbulnya gas.

Kation golongan I (golongan asam klorida) yang akan mengendap bila ditambahkan dengan asam klorida (HCl), yaitu Pb, Hg⁺, Ag. Kation golongan II (golongan hidrogen sulfida) tidak bereaksi dengan asam klorida, tetapi membentuk endapan dengan hidrogen sulfida dalam suasana asam mineral encer, yaitu As, Sn, Sb, Cu, Hg²⁺, Pb, Bi, Cd. Kation golongan III (golongan ammonium sulfida) tidak bereaksi dengan asam klorida encer ataupun dengan hidrogen sulfida dalam suasana asam mineral encer. Namun, kation ini membentuk endapan dengan ammonium sulfida dalam suasana netral atau amoniak, yaitu Al, Cr, Zn, Fe, Mn, Co, Ni. Kation golongan IV (golongan ammonium karbonat) tidak bereaksi dengan reagen golongan I, II, dan III, yaitu Ba, Sr, Ca. Kation-kation golongan V (golongan sisa) merupakan kation-kation yang umum tidak bereaksi dengan reagen golongan sebelumnya, yaitu Mg, K, Na, NH₄.

Anion merupakan ion yang muatan totalnya negatif akibat adanya kenaikan jumlah elektron. Pada umumnya anion-anion dapat digolongkan sebagai berikut: (1) Golongan sulfat: SO₄²⁻, SO₃²⁻, PO₄³⁻, Cr₂O₄²⁻, BO₃³⁻, Cr₂O₄²⁻, AsO₄³⁻, AsO₃³⁻. Anion-anion ini mengendap dengan Ba²⁺ dalam suasana basa (2) Golongan halida: Cl⁻, Br⁻, I⁻, S²⁻. Anion golongan ini mengendap dengan Ag⁺ dalam larutan asam (HNO₃) (3) Golongan nitrat: NO₃⁻, NO₂⁻, C₂H₃O₂⁻. Semua garam dari golongan ini larut (NO₃⁻, NO₂⁻, CH₃OO⁻). Uji analisis anion berdasarkan pada sifat fisik seperti warna, bau, terbentuknya gas, dan kelarutannya.

TUJUAN PERCOBAAN

Percobaan ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis kation dan anion yang ada dalam sampel.

ALAT DAN BAHAN

Alat dan bahan yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung, pipet volume, pipet tetes, asam asetat (CH₃COOH), asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄) encer, barium sulfat (BaSO₄), besi III klorida (FeCl₃), kalium bromida (KBr), kalium heksasianoferat (K₄Fe(CN)₆), kalium kromat (K₂CrO₄), perak nitrat (AgNO₃), seng sulfat (ZnSO₄), tembaga sulfat (CuSO₄), dan timbal II nitrat (Pb(NO₃)₂, CO₃²⁻, HCO₃⁻, NO₂⁻, CN⁻, SO₃²⁻, benzoat, salisilat, S²⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, oksalat, tartrat, sitrat, fosfat, BaCl₂, HNO₃.

PROSEDUR PERCOBAAN

Analisis Kualitatif Kation

1. Uji Kation Ag⁺

Disiapkan 2 tabung reaksi, kedua tabung reaksi dimasukkan larutan perak nitrat (AgNO₃) 0,1 M sebagai sampel yang mengandung kation Ag⁺, selanjutnya untuk tabung reaksi I ditambah beberapa tetes larutan asam klorida (HCl) 2 M dan untuk tabung reaksi II ditambah larutan kalium

bromida (KBr) 1 M. Amati perubahan yang terjadi.

2. Uji Kation Pb^{2+}

Disiapkan 2 tabung reaksi, kedua tabung reaksi dimasukkan larutan timbal nitrat ($Pb(NO_3)_2$) 0,1 M sebagai sampel yang mengandung kation Pb^{2+} , selanjutnya untuk tabung reaksi I ditambah beberapa tetes larutan kalium kromat (K_2CrO_4) 1 M dan untuk tabung reaksi II ditambah larutan asam sulfat (H_2SO_4) 2 M. Amati perubahan yang terjadi.

3. Uji Kation Cu^{2+}

Dimasukkan beberapa tetes larutan tembaga sulfat ($CuSO_4$) 0,1 M ke dalam tabung reaksi sebagai sampel uji yang mengandung kation Cu^{2+} , selanjutnya ditambahkan larutan asam klorida (HCl) 2 M dan larutan kalium heksasianoferrat ($K_4Fe(CN)_6$) 1 M. Amati perubahan yang terjadi.

4. Uji Kation Fe^{3+}

Dimasukkan beberapa tetes larutan feri klorida ($FeCl_3$) 1 % ke dalam tabung reaksi sebagai sampel uji yang mengandung kation Fe^{3+} , selanjutnya ditambah larutan kalium heksasianoferrat (II) ($K_4Fe(CN)_6$) 1 M. Amati perubahan yang terjadi.

5. Uji Kation Cr^{3+} Sebagai CrO_4^{2-}

Dimasukkan beberapa tetes larutan kalium kromat (K_2CrO_4) 1 M ke dalam tabung reaksi sebagai sampel uji yang mengandung kation Cr^{3+} , selanjutnya ditambah larutan perak nitrat ($AgNO_3$) 0,1 M. Amati perubahan yang terjadi.

6. Uji Kation Zn^{2+}

Dimasukkan beberapa tetes larutan seng sulfat ($ZnSO_4$) 0,1 M ke dalam tabung reaksi sebagai sampel uji yang mengandung kation Zn^{2+} selanjutnya ditambah larutan kalium heksasianoferrat ($K_4Fe(CN)_6$) 1 M. Amati perubahan yang terjadi.

7. Uji Kation Ba^{2+}

Dimasukkan beberapa tetes larutan barium sulfat ($BaSO_4$) 1 M ke dalam tabung reaksi sebagai sampel uji yang mengandung kation Ba^{2+} , selanjutnya ditambahkan larutan asam asetat (CH_3COOH) 0,1 N dan larutan kalium kromat (K_2CrO_4) 1 M. Amati perubahan yang terjadi.

Analisis Kualitatif Anion

Siapkan 5 buah tabung reaksi yang diisi dengan anion-anion yang telah disiapkan (CO_3^{2-} , HCO_3^- , NO_2^- , CN^- , SO_3^{2-} , Benzoat, Salisilat, S^{2-} , Cl^- , Br^- , I^- , Oksalat, Tartrat, Sitrat, Asetat, dan Fosfat). Masing-masing anion yang akan dianalisa, ditambahkan pereaksi yang berbeda (H_2SO_4 encer, $AgNO_3$, HCl, $BaCl_2$, HNO_3). Amati dan dicatat perubahan yang terjadi pada masing-masing Anion pada setiap penambahan sedikit pereaksi maupun pada penambahan pereaksi berlebih.

PRAKTIKUM 3

ASIDI-ALKALIMETRI

PENDAHULUAN

Asidimetri adalah penentuan konsentrasi suatu larutan basa dengan menggunakan larutan asam sebagai standarnya, sedangkan Alkalimetri adalah penentuan konsentrasi suatu larutan asam dengan menggunakan larutan basa sebagai standarnya. Asidi-alkalimetri (reaksi netralisasi) yaitu reaksi antar ion hydrogen yang berasal dari asam dengan ion hidroksida yang berasal dari basa untuk menghasilkan air yang bersifat netral. Dalam analisis volumetri (titrimetri), pengukuran volume dalam titrasi berperan penting untuk menentukan konsentrasi suatu larutan tertentu. Penentuannya menggunakan larutan baku (standar) yang konsentrasinya telah diketahui secara teliti dan reaksinya berlangsung secara kuantitatif.

Larutan standar diperlukan dalam titrasi sebagai titran diletakkan di dalam buret untuk penentuan larutan yang tidak diketahui konsentrasinya (titrat). Larutan standar primer adalah larutan yang mengandung senyawa kimia stabil yang tersedia dalam kemurnian tinggi dan dapat digunakan untuk menstandarisasi larutan standar yang digunakan di dalam titrasi (kalium hidrogen flatat, KBrO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, AS_2O_3 , NaCl , asam oksalat, asam benzoat). Larutan standar sekunder adalah larutan yang telah melalui proses standarisasi dan memiliki konsentrasi tertentu (NaOH , HCl , AgNO_3 , KMnO_4 , $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$).

TUJUAN PERCOBAAN

Percobaan ini bertujuan untuk (1) membuat larutan standar NaOH (2) melakukan standarisasi larutan NaOH (3) menggunakan larutan standar NaOH untuk menetapkan kadar asam asetat cuka komersial.

BAHAN DAN ALAT

Alat dan bahan yang digunakan adalah labu ukur 100 ml, labu ukur 500 ml, erlenmeyer 250 ml, beaker glass, gelas ukur, pipet volume, batang pengaduk, kaca arloji, neraca analitik, pipet tetes, buret 50 ml, statif dan klem, corong kaca, NaOH , indikator pp, dan aquades, kalium hidrogen flatat ($\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$), dan sampel cuka.

PROSEDUR PERCOBAAN

Standarisasi larutan NaOH 0.1 M dengan Larutan Standar ($\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$)

Tuangkan kira-kira 40 mL larutan NaOH 1 M ke dalam gelas kimia 100 ml, kemudian lakukan pengenceran (10x) dengan cara: pipet 25 ml larutan NaOH tersebut ke dalam labu ukur 250 ml. Tera dengan akuades hingga tanda batas dan aduk larutan dengan baik. Tandai larutan ini dengan label: larutan NaOH 0.1 M. Timbang 4 g $\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$ ke dalam gelas kimia 100 ml dan larutkan dengan 70 ml akuades. Aduk sampai seluruh $\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$ larut. Pindahkan ke dalam labu ukur 100 ml dan tambahkan dengan akuades hingga tanda batas. Hitung konsentrasi dari larutan $\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$. Tandai larutan ini dengan label: larutan $\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$. Pipet 10 ml larutan $\text{KC}_8\text{H}_{15}\text{O}_4$ ke dalam labu erlenmeyer 250 ml dan tambahkan dua tetes indikator fenolftalein, aduk hingga indikator larut dengan baik. Lakukan titrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0.1 M hingga terjadi perubahan warna. Catat volume larutan NaOH 0.1 M yang diperlukan. Lakukan percobaan ini tiga kali, yaitu satu kali titrasi kasar (untuk memperkirakan volume titran dan untuk berlatih menentukan titik akhir titrasi) dan dua kali titrasi teliti (duplo; untuk menentukan volume titran yang sebenarnya).

Titration Cuka dengan Larutan NaOH Standar

Encerkan cuka (20x) dengan cara: pipet 5 ml cuka ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian tera dengan akuades hingga tanda batas. Tandai larutan ini dengan label: larutan CH_3COOH . Pipet 10 ml larutan cuka ke dalam erlenmeyer 250 ml, tambahkan dua tetes indikator fenolftalein, kemudian titrasi dengan larutan NaOH 0.1 M, hingga terjadi perubahan warna dari tak berwarna menjadi merah muda. Lakukan titrasi ini tiga kali, yaitu satu kali titrasi kasar (untuk memperkirakan volume titran) dan dua kali titrasi teliti (untuk menentukan volume titran yang sesungguhnya).

PRAKTIKUM 4 EKSTRAKSI PADAT-CAIR BIJI KEMIRI

PENDAHULUAN

Ekstraksi padat-cair (*leaching*) digunakan untuk memisahkan analit yang terdapat pada padatan menggunakan pelarut organik. Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan pelarut organik sampai semua analit terekstrak. Kemiri (*Aleurites moluccana*) adalah tumbuhan yang bijinya dimanfaatkan sebagai sumber minyak dan rempah-rempah. Minyak kemiri mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh (asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat). Selain itu juga mengandung asam lemak jenuh (asam palmitat dan asam stearat). Biji kemiri memiliki kadar minyak yang tinggi yaitu sekitar 35-65%. Kadar lemak yang terdapat di dalam kemiri dapat ditentukan dengan metode ekstraksi padat-cair. Sampel (padatan) akan diekstraksi menggunakan pelarut cair berupa n-heksana dengan metode soxhletasi dan destilasi sederhana.

TUJUAN PERCOBAAN

Bertujuan mengetahui metode pemisahan dengan cara ekstraksi pelarut padat-cair dan mengetahui cara pemisahan dengan metode ekstraksi soxhlet.

BAHAN DAN ALAT

Alat-alat yang digunakan pada percobaan ini adalah rangkaian alat soxhlet, neraca analitik, pemanas mantel, rangkaian alat destilasi, erlenmayer, gelas beaker, oven, corong kaca, spatula, dan kertas saring. Bahan-bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah biji kemiri dan n-heksana.

PROSEDUR PERCOBAAN

Ekstraksi Pelarut (Padat-Cair)

Sebanyak 50 g kemiri dihaluskan menggunakan mortar, lalu menimbang kemiri yang telah dihaluskan tersebut menggunakan neraca analitik. Selanjutnya, membuat selongsong menggunakan kertas saring dan kapas lalu mengeratkan menggunakan benang putih. Kemiri yang telah halus dimasukkan ke dalam selongsong, lalu memasukkan selongsong ke dalam alat ekstraksi soxhlet. Pelarut n-heksana (biji kemiri : n-heksana = 1:10) dimasukkan ke dalam labu pemanas. Sampel kemiri siap untuk diekstraksi selama 3 jam. Pendingin dialirkan dan pemanas dihidupkan. Setelah dilakukan ekstraksi, maka dilakukan lagi pemanasan (menguapkan sisa kloroform sampai suhu 70°C) menggunakan metode destilasi sederhana hingga n-heksana terpisah dengan minyak. Minyak yang dihasilkan, selanjutnya di oven pada suhu 80°C untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih tercampur dengan minyak selama ± 2 jam. Perhitungan rendemen minyak kemiri yang dihasilkan: (berat hasil/berat bahan) x 100%

PRAKTIKUM 5

ELEKTROFORESIS SDS-PAGE GELATIN

PENDAHULUAN

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk, dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat).

Elektroforesis biasanya memerlukan media penyangga sebagai tempat bermigrasinya molekul. Media penyangga yang sering dipakai dalam elektroforesis antara lain yaitu kertas, selulose, asetat dan gel. Gel poliakrilamid dan agarosa merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat.

Protein-protein dapat dipisahkan berdasarkan berat molekul. SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis*) adalah teknik elektroforesis yang sering digunakan dalam analisis protein di laboratorium. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pemisahan protein-protein melalui elektroforesis SDS-PAGE, antara lain: ukuran molekul protein, konsentrasi gel, buffer, medium penyangga, kekuatan voltase, dan temperature medium di saat proses elektroforesis berlangsung. Hasil elektroforesis akan didapatkan pita-pita protein yang terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama yang berada pada posisi pita yang sama.

Selama konversi kolagen menjadi gelatin menghasilkan berat molekul yang bervariasi disebabkan pemotongan *inter-chain cross-link* kovalen dan pemutusan *intra-chain peptide linkages*. *Cross-linkages* kovalen antara rantai- α setelah proses ekstraksi gelatin menghasilkan fraksi-fraksi, yaitu rantai- β (dua rantai- α yang terhubung secara kovalen) dan rantai γ (tiga rantai- α yang terhubung secara kovalen). Rantai- α dengan berat molekul 80-125 kDa, rantai- β dengan berat 46 molekul 160-250 kDa, dan rantai- γ dengan berat molekul 240-375 kDa.

TUJUAN PERCOBAAN

Untuk mengetahui alat-alat yang digunakan dalam proses elektroforesis SDS-PAGE dan cara penggunaannya.

BAHAN DAN ALAT

Alat yang digunakan berupa seperangkat alat elektroforesis yang terdiri dari: dua buah pelat kaca ukuran dalam $9 \times 8 \times 0,1 \text{ cm}^3$ (panjang x lebar x tebal) dan ukuran luar $12 \times 10 \times 0,1 \text{ cm}^3$, diberi pemisah (*spacer*) dibagian dalam diantara dua pelat kaca, kemudian dipasangkan karet penyangga pada bagian tepi sisi-sisi pelat kaca yang saling dihipitkan dan dijepit. Karet penyangga terbuat dari karet bening berbentuk huruf U sesuai ukuran pelat kaca bagian dalam. Sisir sebagai cetakan untuk membuat sumuran pada gel pengumpul dan penjepit pelat kaca. Alat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik 20 mA dan voltase 100 v selama 2 jam.

Tabel 1. Formula Gel Pemisah (*Resolving Gel*) dan Gel Pengumpul (*Stacking Gel*)

Bahan	Gel Pemisah (12%)	Gel Pengumpul (5%)
Aquabidest steril	4.08 ml	13.847 ml
30% polyacrilamide	4.8 ml	3.333 ml
1.5 M Tris-HCl pH 8.8 (1) dan	3 ml (1)	2.52 ml (2)

pH 6.8 (2)		
10% SDS (<i>Sodium dodecyl sulfate</i>)	0.12 ml	0.3 ml

Resolving gel (gel bawah) = 10 ml SDS-PAGE 12% ditambah 10 µl Temed dan 100 µl APS 10%; Stacking gel (gel atas) = 5 ml stacking gel ditambah 5 µl Temed dan 50 µl APS 10%.

Formula sampel *buffer*

2.5 ml 1.5 M Tris-HCl pH 6.8; 2 g Tris; 0.5 g dithiothreitol atau 5 ml mercaptoethanol; 10 mg bromophenol blue; 10 ml glycerin ditambahkan hingga volume 20 ml menggunakan aquabidest steril.

Formula *buffer running*

3 g Tris; 14.4 g glycine, dan 1 g SDS (10 ml SDS 10%)

Formula pewarnaan gel (*Staining*)

0.2% coomassie brilliant blue dalam larutan destaining

Formula pemucat gel (*Destaining*)

50% methanol; 10% acetic acid glacial; 40% aquabidest

PROSEDUR PERCOBAAN

Pencetakan Gel

Pelat kaca dibersihkan dengan alkohol, kemudian karet penahan dipasang pada pelat. Pasangan pelat dikencangkan dengan penjepit. *Resolving gel* dimasukkan perlahan-lahan, tunggu selama 45 menit, lalu *stacking gel* dimasukkan diatas resolving gel yang telah padat lalu sisir pencetak dimasukkan diatasnya dan didiamkan selama 40 menit dan gel siap digunakan.

Preparasi Sampel

Sampel gelatin sebanyak 50 mg (50.000 µg) ditambah 1 ml aquabidest kemudian divortex sampai homogen. Larutan diambil 10 µl dan dilakukan pengenceran 10 kali, kemudian di sentrifuse (3000 rpm, suhu kamar, 10 menit). Supernatan diambil sebanyak 0.015 ml dan ditambah dengan 0.015 ml sampel *buffer*. Selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit lalu didinginkan cepat-cepat dan sampel siap *running*.

Pelaksanaan elektroforesis

Karet pelat diambil, sedangkan sisir pencetak dibiarkan melekat pada gel. *Running buffer* dimasukkan pada bagian bawah alat (dudukan). Pelat dimasukkan perlahan-lahan dan dipastikan tidak ada udara yang masuk pada batas antara gel 184 dan *running buffer* di bagian bawah pelat. Pelat dikencangkan dengan penjepit. *Running buffer* ditambahkan pada bagian atas kedudukan, selanjutnya sisir diambil. Sampel dimasukkan kira-kira 10 µl ke dalam tiap-tiap sumuran. Alat dihidupkan dan diatur listrik sebesar 20 mA. Proses elektroforesis diakhiri bila warna biru mencapai 1-1.5 cm dari bawah gel, dengan mengembalikan arus ke nol.

Prosedur Pengecatan Gel

Gel diambil dari pelat kemudian dicuci dengan aquadest. Gel dicat dengan larutan staining. Pengecatan dilakukan selama 3 - 24 jam. Penghilangan cat dengan larutan destaining. Gel dibungkus dengan plastik dan di pres.

PRAKTIKUM 6

PENENTUAN KADAR AIR DAN KADAR ABU DENGAN METODE GRAVIMETRI

PENDAHULUAN

Kadar air suatu bahan dapat ditetapkan dengan cara gravimetri evolusi tidak langsung. Kadar air adalah besarnya kandungan air di dalam suatu bahan persatuan berat tertentu, dinyatakan dalam persen. Kadar air diperoleh dari selisih bobot bahan sebelum dan sesudah dikeringkan pada temperatur dan waktu tertentu. Kadar abu suatu bahan ditetapkan pula secara gravimetri. Bobot abu diperoleh sebagai perbedaan bobot cawan berisi abu dan cawan kosong. Kadar abu suatu bahan persatuan berat tertentu dinyatakan dalam persen.

TUJUAN PERCOBAAN

Percobaan ini bertujuan untuk menetapkan kadar air dan kadar abu suatu bahan

BAHAN DAN ALAT

Bahan-bahan yang digunakan adalah sereal. Alat-alat yang dipakai adalah botol timbang, neraca analitik, eksikator, oven (*thermostat*), cawan porselin, pembakar gas, dan tanur listrik.

PROSEDUR PERCOBAAN

Penetapan Kadar Air

Botol timbang dikeringkan pada temperatur 105°C selama 30 menit. Setelah didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Kira-kira 3 g (catat sampai empat desimal dalam gram) bahan, masukkan dalam botol timbang, kemudian dikeringkan pada temperatur 105°C hingga kering/bebas air (ditandai dengan bobot bahan tetap setelah pemanasan). Setelah didinginkan dalam eksikator ditimbang. Pekerjaan dilakukan rangkap 2 (duplo).

Penetapan Kadar Abu

Cawan porselin dikeringkan pada temperatur 600°C selama 30 menit, dinginkan dalam eksikator kemudian ditimbang. Kira-kira 2 g contoh dimasukkan ke dalam cawan porselin (timbanglah dengan teliti). Cawan dan isinya dipanaskan dengan nyala bunsen sampai tidak berasap lagi. Kemudian dimasukkan ke dalam tanur listrik dengan temperatur 600°C sampai contoh menjadi abu sama sekali (kira-kira 30 menit). Setelah didinginkan dalam desikator, ditimbang. Pekerjaan dilakukan rangkap dua.

PRAKTIKUM 7

PENENTUAN KADAR ASAM ASKORBAT DENGAN TITRASI REDOKS

PENDAHULUAN

Dalam penentuan asam askorbat, metode titrasi asam basa tidak tepat untuk digunakan. Hal ini dikarenakan banyaknya senyawa asam lain yang dapat mengganggu penentuan kadar asam askorbat. Masalah ini dapat diatasi dengan penggunaan metode titrasi redoks yang memanfaatkan interaksi antara asam askorbat dan larutan iodin. Asam askorbat bereaksi cepat dengan iodin menghasilkan ion iodida dan asam dehidroaskorbat. Reaksi inilah yang menjadi dasar dari titrasi langsung asam askorbat dengan larutan standar iodin. Titik akhir titrasi ini dapat ditentukan dengan menambahkan pati sebagai indikator. Ketika seluruh asam askorbat telah habis bereaksi, iodin yang ditambahkan selanjutnya akan bereaksi dengan pati membentuk kompleks berwarna biru.

TUJUAN PERCOBAAN

Praktikum ini bertujuan untuk menganalisis kadar asam askorbat dengan menerapkan prinsip titrasi redoks.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang dipakai adalah buret 50 ml, lempeng tetes, pipet 10; 20; 25; 100 ml, erlenmeyer 250 ml, pipet Mohr 5 ml, kertas fenol red. Bahan-bahan yang digunakan adalah buffer pH 10, Erio T, NH_4OH 4 M, CaCO_3 0.01 M, ZnSO_4 0.01 M, EDTA 0.01 M, contoh air keran, dan contoh Al^{3+} . Air keran digunakan sebagai sampel praktikum. Sampel yang digunakan dalam praktikum ialah tablet vitamin C dan minuman YOU C1000.

PROSEDUR PERCOBAAN

Preparasi Larutan Standar KIO_3

Timbang 2 gr padatan KIO_3 dan larutkan ke dalam gelas kimia 250 ml. Kemudian pindahkan ke dalam labu ukur 500 mL. Tambahkan air hingga tanda batas dan aduk larutan hingga homogen.

Preparasi Indikator Pati

Larutkan 0,25 gr pati dengan 50 ml akuades dengan pemanasan. Dinginkan larutan hingga mencapai suhu ruang sebelum digunakan.

Penentuan Kadar Asam Askorbat Sampel YOU C1000

Pipet sebanyak 25 mL larutan KIO_3 ke dalam dua labu Erlenmeyer 250 ml. Tambahkan 2 gr padatan KI dan 10 mL larutan H_2SO_4 0,5 M ke dalam Erlenmeyer yang pertama, kemudian tuangkan 10 mL larutan YOU C1000 ke dalamnya. Lalu titrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Ketika warna larutan yang dititrasi hampir hilang seluruhnya (berwarna kuning pucat), tambahkan 2 mL indikator pati. Lanjutkan titrasi hingga warna biru menghilang. Lakukan titrasi ini duplo dan hitunglah kadar asam askorbat.

Penentuan Kadar Asam Askorbat Sampel Tablet Vitamin C

Gerus satu tablet vitamin C hingga menjadi serbuk halus dengan mortar. Tambahkan 50 ml

air sedikit demi sedikit hingga seluruh serbuk larut dengan baik dan pindahkan larutan ke dalam labu ukur 100 ml.

Pipet sebanyak 25 ml larutan KIO_3 ke dalam dua labu Erlenmeyer 250 ml. Tambahkan 2 gr padatan KI dan 10 ml larutan H_2SO_4 0,5 M ke dalam Erlenmeyer yang pertama, kemudian tuangkan 20 ml larutan sampel ke dalamnya. Lalu titrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Ketika warna larutan yang dititrasi hampir hilang seluruhnya (berwarna kuning pucat), tambahkan 2 ml indikator pati. Lanjutkan titrasi hingga warna biru menghilang. Lakukan titrasi ini duplo dan hitunglah kadar asam askorbat.

PRAKTIKUM 8

PENENTUAN KADAR ION LOGAM DENGAN TITRASI KELATOMETRI

PENDAHULUAN

Dasar titrasi kelatometri adalah pembentukan ion kompleks antara bahan yang dianalisis & titran. Terdapat dua metode yang terkenal dalam titrasi kompleksometri (kelatometri) yaitu: metode Liebig dan Schwarzenbach. Pada metode Schwarzenbach, EDTA dipergunakan sebagai titran & dipergunakan untuk penentuan ion-ion logam. EDTA (*Ethyline Diamine Tetraacetic Acid*) ialah suatu asam organik, yang jika direaksikan dengan ion logam, maka akan terbentuk suatu persenyawaan kompleks antara ion logam dan atom-atom dalam EDTA, yang disebut dengan "kelat" (*Chelate*). Tiap ion logam mengkompleks satu molekul EDTA. Umumnya kompleks ini kuat sekali terutama jika ion logamnya bervalensi 2-3. Indikator yang umum digunakan dalam titrasi ini ialah suatu zat organik yang juga mengkelat ion logam dan warnanya sebagai ion atau molekul bebas berbeda dari bentuk kelat-nya. Indikator yang dapat digunakan ialah Eriochrome Black-T.

Kesempurnaan reaksi titrasi ini juga tergantung pada pH larutan. Umumnya lebih sempurna pada pH yang lebih tinggi dan hanya ion logam yang membentuk kelat yang sangat kuat dapat dititrasi dengan baik pada pH rendah. Keuntungan titrasi dengan EDTA ialah dapat mentitrasi ion logam dalam konsentrasi yang rendah (0.01 atau 0.001 M) dan dapat dipergunakan untuk ion logam yang bermacam-macam sekali.

Kesadahan air disebabkan oleh garam-garam Ca dan Mg yang larut dalam air itu. Dengan EDTA, jumlah Ca^{2+} dan Mg^{2+} dapat ditentukan sekaligus dalam satu titrasi. Penentuan ini penting sekali bagi industri, sebab air sadah menimbulkan "batu ketel" yang merugikan dan menimbulkan bahaya ledakan. Selain Ca^{2+} dan Mg^{2+} , air keran juga berisi kation-kation lain juga bereaksi dengan EDTA, sehingga dapat mengganggu titrasi. Disebabkan titrasi berlangsung pada pH tinggi, maka kebanyakan kation-kation tersebut mengendap dan dapat disaring.

TUJUAN PERCOBAAN

Praktikum ini bertujuan untuk menganalisis kadar ion logam dengan titrasi kelatometri menggunakan EDTA sebagai titran.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang dipakai adalah buret 50 ml, lempeng tetes, pipet 10; 20; 25; 100 ml, erlenmeyer 250 ml, pipet Mohr 5 ml, kertas fenol red. Bahan-bahan yang digunakan adalah buffer pH 10, Erio T, NH_4OH 4 M, CaCO_3 0.01 M, ZnSO_4 0.01 M, EDTA 0.01 M, contoh air keran, dan contoh Al^{3+} . Air keran digunakan sebagai sampel praktikum.

PROSEDUR PERCOBAAN

Standardisasi EDTA

Tambahkan sebanyak 10 ml larutan CaCO_3 (jika asam dinetralkan dengan NaOH) ke dalam 0,5 ml larutan penahan (pH 10), serta 2-3 tetes indikator Eriochrome Black T (disingkat Erio T). Lakukan titrasi dengan EDTA sampai warna berubah dari merah ke biru. Jika dilakukan dengan baik, titik akhir tajam sekali dan dapat digunakan untuk mikrotitrasi yang memakai larutan EDTA sangat encer, misalnya 0.001M). Titrasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Penentuan Kesadahan Total Air Keran

Campurkan sebanyak 100 ml air keran dengan 2 ml buffer pH 10 dan 2-4 tetes Erio T. Lalu lakukan titrasi hingga terjadi perubahan warna seperti pada saat standardisasi EDTA. Titrasi dilakukan rangkap 3 (triplo).

Keterangan: "Derajat kesadahan" air dinyatakan dengan ppm (*part per million*) yaitu banyaknya mg CaCO_3 /liter air. Dianggap bahwa kesadahan hanya disebabkan oleh CaCO_3 ; dan EDTA yang terpakai seluruhnya mengkompleks Ca^{2+} .

PRAKTIKUM 9

PEMBUATAN SPEKTRUM SERAPAN DAN PENENTUAN JUMLAH SENYAWA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI

PENDAHULUAN

Metode spektrofotometri memanfaatkan serapan pada panjang gelombang tertentu untuk menentukan jumlah suatu senyawa atau zat. Panjang gelombang yang dipilih ialah panjang gelombang yang memberikan absorbansi terbesar. Untuk menentukan pemilihan panjang gelombang, perlu diketahui spektrum absorpsi senyawa tersebut sehingga puncaknya dapat diketahui.

Asam amino adalah padatan berbentuk kristal dengan titik didih yang cukup tinggi, dan kebanyakan sangat larut dalam air. Pemanasan asam amino dalam pereaksi ninhidrin menghasilkan senyawa kompleks berwarna ungu. Intensitas warna ini berbanding langsung dengan konsentrasi asam amino bebas.

TUJUAN PRAKTIKUM

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui spektrum serapan suatu senyawa dan menentukan kandungan asam amino bebas pada suatu bahan dengan metode spektrofotometri.

ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan dalam praktikum ini adalah spektrofotometer beserta kuvet, labu ukur 50 ml, tabung reaksi, penangas air, centrifuge, gelas piala, dan buret 50 ml, pipet ukur, serta kapas. Bahan yang digunakan adalah salah satu larutan standar pada penentuan kadar asam amino bebas, piridin 10 %, ninhidrin 2 %, larutan asam amino lisin. Sementara sampel yang akan dianalisis adalah kentang.

PROSEDUR PERCOBAAN

Pembuatan larutan standar dan blanko

Siapkan larutan standar dengan menggunakan analat asam amino lisin, dengan konsentrasi 5 ppm sampai 25 ppm (interval konsentrasi 5 ppm). Ambil sebanyak 10 ml larutan standar dan tempatkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml piridin 10% dan 1 ml ninhidrin 2%. Tutup tabung dengan kapas dan tempatkan dalam penangas air mendidih selama 30 menit. Setelah dingin, lakukan pengenceran dalam labu ukur 50 ml. Siapkan larutan blanko dengan mengganti analat menggunakan air destilasi.

Pembuatan Spektrum Serapan Zat

Isi kuvet dengan salah satu standar larutan yang digunakan pada penentuan kadar asam amino bebas. Siapkan larutan blanko dengan mengganti analat dengan air destilasi pada penentuan kadar asam amino bebas. Baca absorbansi larutan pada kisaran panjang gelombang 475 - 575 nm, dengan interval 5 nm. Gunakan larutan blanko untuk mengoreksi larutan standar pada setiap panjang gelombang. Buat kurva hubungan panjang gelombang dengan absorbansi standar terkoreksi. Tentukan panjang gelombang yang tepat (λ dengan serapan maksimum) untuk larutan tersebut dan gunakan untuk pengukuran selanjutnya.

Analisis asam amino pada sampel

Suspensikan 1 g kentang ke dalam 40 ml air dan lakukan sentrifugasi. Tampung supernatan dalam labu ukur 100 ml. Ulangi proses tersebut, lalu tambahkan air destilasi hingga tanda tera. Kemudian ambil ekstrak sebanyak 10 ml dan tempatkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml piridin 10% dan 1 ml ninhidrin 2%. Tutup tabung dengan kapas kemudian tempatkan dalam penangas air mendidih selama 20 menit. Setelah dingin, lakukan pengenceran dalam labu ukur 50 ml. Baca absorbansi larutan pada panjang gelombang dengan serapan maksimum hasil pembuatan spektrum serapan sebelumnya. Berdasar kurva standar, hitung konsentrasi dan kadar asam amino pada kentang.

PRAKTIKUM 10

ANALISIS KANDUNGAN ZAT AKTIF DENGAN THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC)

PENDAHULUAN

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan yang menggunakan sistem dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak. Dalam kromatografi, campuran analit akan dibawa oleh fasa gerak melewati fasa diam. Ketika melewati fasa diam, senyawa-senyawa yang ada dalam campuran akan berinteraksi dengan fasa diam dengan afinitas (ketertarikan) yang berbeda-beda. Senyawa yang memiliki afinitas lebih rendah terhadap fasa diam (tidak begitu terikat pada fasa diam) akan bergerak lebih cepat daripada senyawa yang memiliki afinitas yang lebih tinggi. Dengan cara inilah campuran senyawa dapat dipisahkan satu sama lain. Jadi, teknik pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan afinitas senyawa analit terhadap fasa diam dan fasa gerak.

Salah satu metode kromatografi yang cepat, murah, dan banyak digunakan dalam laboratorium organik adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) / Thin Layer Chromatography (TLC). Sampel yang ingin dianalisa akan diteteskan pada pelat, kemudian diletakkan dalam gelas kimia atau *chamber* yang berisi larutan pengelusi (fase gerak). Larutan pengelusi ini akan bergerak membawa analit ke atas di sepanjang pelat berdasarkan prinsip kapilaritas. Pemilihan pelarut akan sangat mempengaruhi pergerakan analit pada fasa diam. Pelarut yang polar akan cenderung membawa analit yang lebih polar ketika bermigrasi di sepanjang pelat, begitu pula sebaliknya.

Ketika kromatografi telah selesai dilakukan, proses visualisasi perlu dilakukan dengan cara mengaplikasikan reagen pewarna tertentu pada pelat TLC. Reagen ini akan bereaksi dengan analit menghasilkan titik-titik yang dapat terlihat dengan jelas pada pelat. Metode visualisasi lain yang dapat digunakan adalah dengan menambahkan senyawa fluoresen, seperti zinc silikat yang telah diaktivasi dengan mangan, ke dalam material adsorbent.

TUJUAN PRAKTIKUM

Tujuan praktikum ialah memisahkan dan mengidentifikasi bahan-bahan aktif dalam obat analgesic menggunakan metode kromatografi lapis tipis atau Thin Layer Chromatography (TLC).

ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan pada praktikum ini ialah *chamber* kromatografi, pelat TLC, mortar, labu ukur 50 ml, dan pipet tetes. Bahan yang digunakan antara lain aseton, etanol, heksana, etil asetat, asam asetat, diklorometana. Obat analgesik digunakan sebagai sampel, sementara asetaminofen, aspirin, kafein, dan ibuprofen digunakan sebagai pembanding sampel.

PROSEDUR PERCOBAAN

Siapkan *chamber* kromatografi yang telah diberi kertas saring. Tambahkan pelarut ke dalam *chamber* hingga ketinggian 5 mm. Pelarut yang digunakan adalah heksana : etil asetat (1 : 1) dan etil asetat : asam asetat (95 : 5) kemudian tutup *chamber*. Siapkan pelat TLC yang telah dimodifikasi untuk berfluoresensi di bawah sinar UV 254. Buatlah garis yang sangat tipis dengan pensil 1 cm dari tepi bawah pelat, kemudian pada garis tersebut tandai 5 buah titik yang masing-masing berjarak 1 cm satu sama lain. Beri label setiap titik tersebut untuk asetaminofen, ibuprofen, kafein, aspirin, dan sampel obat analgesik. Buatlah sebuah garis yang sangat tipis lainnya, kira-kira 1 cm dari bagian atas pelat. Garis ini akan menjadi garis batas pelarut.

Buat larutan standar dengan cara melarutkan standar ke dalam campuran etanol : diklorometana (1 : 1). Sedangkan untuk preparasi obat analgesik, gerus 1.5 tablet obat analgesik dengan mortar, kemudian larutkan ke dalam 5 ml campuran etanol : diklorometana (1:1). Saring sampel dengan pipet tetes yang telah disumbat dengan kapas untuk memisahkannya dari material yang tidak terlarut. Bilas sekali lagi wadah dengan 5 ml campuran etanol : diklorometana (1:1) dan saring kembali dengan pipet tetes yang telah disumbat dengan kapas. Kumpulkan seluruh larutan dalam sebuah tabung reaksi.

Teteskan sedikit cairan standar dan sampel pada titik-titik yang telah diberi tanda pada pelat TLC. Lakukan perlahan-lahan dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 4-5 kali. Usahakan agar titik yang diaplikasikan kecil dan tidak melebar. Keringkan terlebih dahulu titik awal sebelum menitikkan sampel kembali. Letakkan pelat TLC di dalam *chamber* dan biarkan proses pemisahan berlangsung sampai pelarut mencapai garis batas pelarut yang telah dibuat sebelumnya. Angkat pelat TLC dari *chamber* dan keringkan. Lalu, amati pelat TLC Anda di bawah lampu UV, dan tandai lingkari titik-titik noda yang terlihat dengan pensil secara perlahan. Jangan melihat lampu UV secara langsung.

