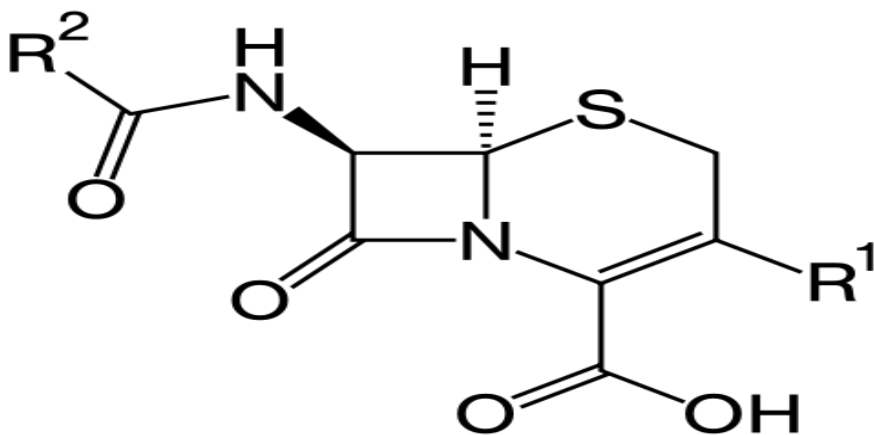


PENUNTUN

PRAKTIKUM

ANALISIS FARMASI



Disusun Oleh :

Dra. Herdini, M.Si., Apt

Lia Puspitasari, M.Si.,Apt.

Tim Praktikum :

1. Dra.Herdini,M.Si., Apt
2. Dr.Tiah R, M.Si.,Apt
3. Lia Puspitasari, M.Si.,Apt.

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Mahasiswa yang diperkenankan melakukan praktikum adalah mereka yang terdaftar secara akademik, yang selanjutnya disebut sebagai **Praktikan**.

Berikut tata tertib Praktikan Analisis Farmasi :

1. Praktikan wajib hadir 10 menit sebelum praktikum dimulai, keterlambatan lebih dari 10 menit sejak praktikum dimulai, praktikan dianggap tidak hadir.
2. Jika berhalangan hadir, praktikan harus dapat memberikan keterangan tertulis terkait dengan alasan ketidakhadirannya.
3. Praktikan seperti No. 2 diatas, jika tidak mengganti praktikum pada hari lain, wajib meminta rekomendasi tertulis terlebih dahulu dari koordinator pengampu praktikum.
4. Praktikan memasuki ruang laboratorium dengan telah mengenakan jas praktikum.
5. Praktikan wajib membawa : laporan, lembar kerja praktikum, masker, dan alat-alat yang dibutuhkan pada saat praktikum.
6. Sewaktu-waktu Dosen dapat mengadakan *Pre Test* atau *Post Test*, untuk materi-materi yang akan atau yang telah dikerjakan.
7. Praktikan tidak diperbolehkan makan, minum, dan atau merokok di dalam laboratorium selama praktikum berlangsung.
8. Praktikan tidak diperbolehkan bersenda gurau yang mengakibatkan terganggunya kelancaran praktikum.

Sanksi terhadap pelanggaran tata tertib No. 7 dan 8 diatas adalah dikeluarkan dari laboratorium atau tidak diperkenankan melanjutkan

9. Praktikan bertanggung jawab atas peralatan yang dipinjamnya, kebersihan meja masing-masing, serta lantai disekitarnya.
10. Setelah menggunakan *reagen*, praktikan wajib meletakkan kembali pada tempat semula.
11. Jika akan meninggalkan ruang laboratorium, praktikan wajib meminta ijin kepada dosen tim praktikum.
12. Praktikan melakukan analisis sesuai bagiannya masing-masing, mencatat hasilnya pada lembar kerja praktikum, serta meminta "ACC" pada dosen tim praktikum.
13. Perhiasan, *Hand Phone* dan barang berharga lain merupakan tanggung jawab masing-masing praktikan.

KEAMANAN DAN KESELAMATAN KERJA DI LABORATORIUM

1. Rencanakan percobaan yang akan dilakukan sebelum memulai praktikum.
2. Sediakanlah alat-alat yang akan dipakai di atas meja. Alat-alat yang tidak digunakan sebaiknya disimpan didalam almari supaya tidak mengganggu dalam bekerja.
3. Gunakan peralatan kerja seperti masker, jas laboratorium untuk melindungi pakaian dan sepatu tertutup untuk melindungi kaki.
4. Zat yang akan dianalisis disimpan dalam tempat tertutup agar tidak kena kotoran yang mempersulit analisis.
5. Dilarang memakai perhiasan yang dapat rusak karena bahan kimia.
6. Dilarang memakai "*contact Lens/Soft Lens*" karena dapat rusak karena bahan kimia.
7. Dilarang memakai sandal atau sepatu terbuka atau sepatu berhak tinggi.
8. Hindari kontak langsung dengan bahan kimia.
9. Hindari mengisap langsung uap bahan kimia, tetapi kipaslah uap tersebut dengan tangan ke muka anda.
10. Dilarang mencicipi atau mencium bahan kimia kecuali ada perintah khusus.
11. Bahan kimia dapat bereaksi langsung dengan kulit menimbulkan iritasi (pedih atau gatal).
12. Baca label bahan Kimia sekurang-kurangnya dua kali untuk menghindari kesalahan.
13. Jangan mengembalikan bahan kimia ke dalam botol semula untuk mencegah kontaminasi.
14. Biasakanlah mencuci tangan dengan sabun dan air bersih terutama setelah melakukan praktikum.
15. Bila kulit terkena bahan kimia, janganlah digaruk agar tidak tersebar.
16. Jagalah kebersihan meja praktikum, apabila meja praktikum basah segera keringkan dengan lap.
17. Hindarkan dari api bahan-bahan yang mudah terbakar seperti eter, kloroform, dsb.
18. Hati-hati dalam menggunakan bahan-bahan yang dapat menimbulkan luka bakar, misalnya asam-asam pekat (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl), basa-basa kuat (KOH , $NaOH$, dan NH_4OH) dan oksidator kuat (air brom, iod, senyawa klor, permanganat)
19. Percobaan dengan penguapan menggunakan asam-asam kuat dan menghasilkan gas-gas beracun dilakukan di almari asam.
20. Jangan memanaskan zat dalam gelas ukur/labu ukur.
21. Menetralkan asam/basa, dengan :
 - Asam pada pakaian : dengan amonia encer
 - Basa pada pakaian : dengan asam cuka encer, kemudian amonia encer
 - Asam/basa pada meja/lantai : dicuci dengan air yang banyak
 - Asam, basa, dan zat-zat yang merusak kulit : dicuci dengan air, kemudian diberi vaselin
22. Bila terjadi kecelakaan yang berkaitan dengan bahan kimia, laporkan segera pada dosen atau asisten jaga.

BAB 1

TEKNIK ANALISIS KUALITATIF

A. Pendahuluan

Kimia analisa adalah bagian dari ilmu kimia yang mempelajari tentang cara-cara mengenal (identifikasi) dan penetapan kadar suatu zat. Kimia Analisa dapat dibagi menjadi : Kimia Analisa Kualitatif dan Kimia Analisa Kuantitatif.

Dasar analisa kualitatif :

1. Dasar utama analisa adalah bahwa suatu zat bisa diidentifikasi dengan tepat adalah jika berada dalam kondisi murni.
2. Perlu dilakukan pemisahan.
3. Organoleptis : bentuk, warna, bau , rasa.
4. Reaksi penggolongan.
5. Rreaksi warna.
6. Reaksi kristal.

Macam-macam metode analisa kualitatif :

1. Metode konvensional
 - a. Reaksi mikro dan semi mikro
 - b. Reaksi kristal
 - c. Reaksi warna
 - d. Sublimasi
2. Metode modern
 - a. Spektrometri :
 - uv – vis : λ_{\max} (nm)
 - IR : siddik jari (bilangan gelombang)
 - b. Kromatografi :
 - KLT : Rf, warna noda
 - HPLC, GC : waktu retensi

Syarat reaksi yang dapat digunakan untuk kimia farmasi kualitatif adalah : hasil reaksinya dapat dan mudah diamati, reaksinya sederhana dan cepat, reaksinya peka (sensitive, reaksi tidak terganggu oleh zat yang lain).

B. Kimia Analisa Kualitatif

Kimia analisa kualitatif membahas tentang identifikasi zat-zat. Untuk mengetahui unsur atau senyawa apa yang terdapat dalam suatu zat.

1. Cara Fisika
 - a. Organoleptik
Analisa dilakukan dengan menggunakan panca indra, yang dilihat berupa sifat-sifat fisiknya seperti warna, bentuk, bau (**Jangan dihirup langsung!!!**) dan rasa (**Hati-hati !!! Jangan ditelan !!!**)
 - b. Tetapan Fisika
Dilakukan dengan mengukur tetapan fisika seperti kelarutan, titik lebur, titik didih, bobot jenis, indeks bias, rotasi jenis, kekentalan dan lain-lain.

c. Mikroskopik

Mengenal (identifikasi) serbuk kristal atau bentuk kristal dengan menggunakan mikroskop.

2. Cara Kimia

Dengan menggunakan pereaksi tertentu, suatu zat dapat memberikan reaksi yang spesifik pembentukan gas, endapan, warna atau perubahan-perubahan tertentu.

C. Penggunaan

Analisa kualitatif digunakan pada banyak bidang dengan berbagai tujuan, antara lain : Identifikasi, Kontrol koalitas, Investigasi, Penelitian, Klinis, Penegakan hukum.

Aplikasi Analisa kualitatif dalam bidang kefarmasian, antara lain : Pembuktian kebenaran bahan, Identifikasi/pemberian, Jaminan mutu obat, Kontrol kualitas di pasaran, Diagnosis-radio farmasi, Riset kefarmasian.

PERCOBAAN I REAKSI PENGGOLONGAN

Reaksi penggolongan bertujuan untuk memeriksa adanya gugus fungsi serta membedakan golongan dari senyawa yang dianalisa.

A. Tes untuk –OH

1. Golongan Alkohol

- a. Reaksi warna Diazo
- b. Reaksi Ceri ammonium nitrat
- c. Reaksi Deninges
- d. Reaksi Landwher
- e. Pembentukan ester
- f. Membedakan alkohol primer, sekunder, tersier
 - 1) Tes Lucas
 - 2) Oksidasi
 - a) Dengan batang tembaga pijar
 - b) Aqua brom
 - c) Reaksi Nessler
- g. Reaksi alkohol polivalen, dengan Reaksi Cuprifil.

METANOL

Pemerian : cairan beracun, mudah terbakar, jernih, bercampur dengan air, etanol dan pelarut organik lainnya.

Identifikasi :

- a. Reaksi Diazo
Zat + Diazo A (4) + Diazo B (1) + NaOH ----→ merah framboos
- b. Reaksi Oksidasi
Zat + Aqua brom ----→ bau acetaldehid
- c. Esterifikasi
Zat + asam salisilat + H₂SO₄ pekat ----→ metal salisilat
- d. Zat + Logam Cu + H₂O₂----→ Bau Formaldehid

ETANOL

Pemerian : cairan mudah menguap, mudah terbakar, jernih, rasa terbakar, bercampur dengan air, dan pelarut organik lainnya.

Identifikasi :

- a. Reaksi Diazo
Zat + Diazo A (4) + Diazo B (1) + NaOH ----→ merah framboos
- b. Zat + Asam asetat ----→ bau Cutex
- c. Esterifikasi
Zat + asam salisilat + H₂SO₄ Pekat ----→ etil salisilat
Zat + asam benzoat + H₂SO₄ Pekat ----→ etil benzoate

Propilenglikol

Pemerian : cairan kental, higroskopis, rasa agak pedas, getir, dapat bercampur dengan air, aseton.

Identifikasi :

- a. Reaksi Mullikan
Zat + pirogalol 1% + H₂SO₄ pekat ----→ Violet
- b. Reaksi Deninges
Zat + KMnO₄ + H₂SO₄ + Aqua brom ----→ asam laktat
- c. Cuprifil
Zat + CuSO₄ + NaOH ----→ biru tua, stabil pada pemanasan

2. Golongan fenol

- a. Reaksi warna diazo
- b. FeCl₃
- c. Reaksi warna POUGET
- d. Reaksi untuk fenol monovalen, antara lain : reaksi Landolt, reaksi Spiro, dan reaksi Indofenol
- e. Reaksi untuk fenol polivalen, antara lain : Aqua brom, Fehling dan Agamoniakal.

C. Tes untuk gugus amin

1. Reaksi umum, antara lain : bau, sifat alkalis, dengan NaOH keluar gas NH₃
2. Amin primer dianalisa dengan : Reaksi Isonitril, Reaksi *Mosterd-oil*, Reaksi Indofenol, Reaksi Diazo, Reaksi p-DAB HCl, Reaksi Hinsberg.

D. Tes gugus karboksilat

- a. Perubahan warna indikator
- b. Pembentukan ester
- c. Pengendapan S dari thiosulfat
- d. Reaksi khusus

E. Uji gugus amida

Reaksi Biuret

F. Reaksi warna

Suatu sampel ditambah pereaksi tertentu akan menimbulkan warna. Biasanya dilakukan di plat tetes atau tabung reaksi.

G. Reaksi kristal

Reaksi kristal dapat dilakukan dengan Sublimasi, Aseton – air, Fe-kompleks, Bi-kompleks, Cu-kompleks, Asam encer, asam pikrat, HgCl₂, Dragendorf, Maeyer, Bouchardat, dll.

H. Reaksi Penentuan

Berdasarkan organoleptis, reaksi penggolongan, reaksi warna dan reaksi kristal yang spesifik untuk masing-masing zat, maka dapat disimpulkan zat yang diidentifikasi.

PERCOBAAN II
ALKALOID & ANALGETIK

Alkaloid adalah senyawa yang mempunyai struktur heterosiklik yang mengandung atom N di dalam intinya dan bersifat basa, karena itu dapat larut dalam asam-asam dan membentuk garam.

A. Reaksi warna

1. H₂SO₄ pekat
2. HNO₃ pekat
3. Reaksi Erdmann : 12 ml H₂SO₄ pekat + 8 tetes HNO₃ pekat
4. Marquis : 2 tetes formalin + H₂SO₄ pekat
5. Reaksi Frohde : (Amm. Molibdat 0,5% dalam air) + H₂SO₄ pekat
6. Hoshida : campuran Frohde dan Marquis (Amm. Molibdat 0,3 gram + Formalin 40% 0,5 ml + H₂SO₄ pekat 60 cc)
7. Mandelin (Amm. Vanadat 10% H₂SO₄ pekat)
8. FeCl₃

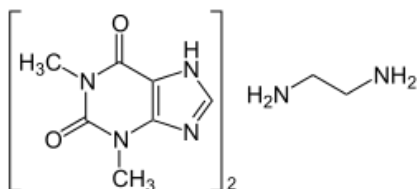
B. Reaksi Pengendapan/Kristal

1. Mayer
2. Bouchardat
3. Asam pikrat 10%
4. Dragendorf
5. HgCl₂
6. K₄Fe(CN)₆
7. K₃Fe(CN)₆
8. Asam fosfomolibdat : Amm. Molibdat dalam NaOH berlebih, NH₄OH nya diuapkan diatas w.b., kemudian dilarutkan dengan air.

C. Identifikasi

1. Aminophyllin

Rumus Bangun



- a. Zat bila dibakar → bau pandan
- b. Floresensi : biru lemah (dalam air/H₂SO₄ encer)
- c. Zat + Cu asetat → ungu + K₂Hg₄ → putih
- d. Zat + HCl → teofilin
- e. Zat + Aqua Brom → kristal putih

- f. Zat + Nessler → putih
- g. Zat+ Mayer → ungu
- h. Zat + Cu. Asetat → ungu
- i. Reaksi Murexide : positif
- j. Reaksi Parri : negatif
- k. Reaksi kristal dengan Dragendorf, Fe Kompleks.

2. Coffein

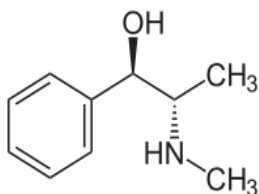
Rumus Bangun



- a. Reaksi Murexide : Zat + 1 tetes H₂O₂ 3% atau KClO₃ padat + 1 tetes HCl 25% panaskan → agak jingga + NH₄OH → ungu
- b. Larutan zat dalam air + I₂ tidak terjadi + HCl → coklat, larut dalam NaOH berlebih
- c. Reaksi Parri → positif
- d. Reaksi Francois → biru
- e. Zat + Air + NaOH 5 tetes panaskan + AgNO₃ → hitam
- f. Lar. Jenuh zat + HgCl₂ 5% → putih, panaskan → kristal jarum
- g. Reaksi Zwikker : (1 ml pyridin 10% + lar. CuSO₄). Zat + pereaksi → kristal batang panjang tidak berwarna (mikroskop)

3. Ephedrin

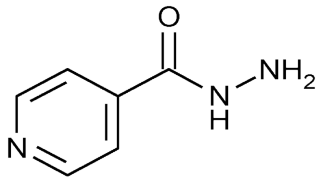
Rumus Bangun



- a. Mayer : negatif
- b. Bouchardat : positif
- c. Reaksi Iodoform : positif
- d. Zat + H₂SO₄ (e) + NaCl → 6 tetes NaOH 0,1 N, panaskan di wb → merah, setelah dingin → violet
- e. Zat + NaOH dipanaskan + Aqua Iod → Iodoform
- f. Reaksi Chen dan Kao : Zat + 1 ml air + 1 tetes garam CuSO₄ + 1 ml NaOH 4 N → violet, kocok dengan eter → merah ungu
- g. Zat + CuSO₄ encer + NaOH → ungu
- h. Zat + asam sulfanilat + NaNO₂ → merah tua/jingga
- i. Reaksi kristal dengan Dragendorf, K-oxalat padat.

4. Isoniazid

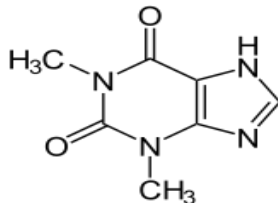
Rumus Bangun



- Zat + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ mereduksi
- Zat + vanilin + metanol + HCl \rightarrow kuning hijau
- Zat + $\text{KMnO}_4 \rightarrow$ netral perlahan warna,
 - Asam : (-)
 - Basa : cepat hijau
- Zat + asam fosfomolibdat + $\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow$ biru
- Zat + Roux \rightarrow merah coklat
- Zat + DAB HCl \rightarrow jingga kuning
- Zat + NaOH panaskan keluar NH_3
- Zat dalam metanol + HCl + DAB \rightarrow merah coklat kadang-kadang kuning
- Reaksi kristal dengan Dragendorff, HgCl_2 , Fe. Kompleks, Asam Pikrat

5. Theofillin

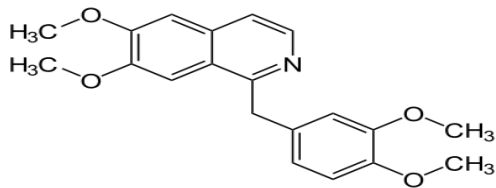
Rumus Bangun



- Reaksi Millon \rightarrow positif
- Reaksi Parri \rightarrow positif
- Zat + Air + NaOH 5 tetes panaskan + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ gel jernih tidak dapat dituang
- Zat + aqua Brom \rightarrow putih
- Zat + 1 tetes HCl + 1 tetes H_2O_2 , panaskan diatas w.b., sisa berwarna coklat + 1 tetes $\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow$ merah ungu
- 10 mg asam sulfanilat + 5 tetes HCl dilutus dinginkan dalam es. Kedalam larutan dicampurkan 10 mg zat dalam 1 ml NaOH dipanaskan, dinginkan dalam es \rightarrow merah
- 10 mg zat + 1 ml HCl + 10 mg KClO_4 , uapkan sampai kering \rightarrow sisa merah coklat + 1 $\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow$ merah violet (Murexide)
- Reaksi Kristal :
 - Zat + 1 ml HCl dilutus + $\text{HgCl}_2 \rightarrow$ kristal
 - Zat + 1 ml HCl dilutus + Dragendorff panaskan sebentar \rightarrow kristal
 - Zat + $\text{NH}_4\text{OH} + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow$ kristal roset

6. Papaverin

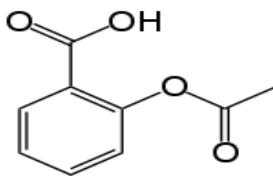
Rumus Bangun



- Zat + Erdmann → ungu, hijau biru pada kondisi dingin
- Zat + Marquis → coklat
- Zat + Frohde → violet merah sampai coklat
- Zat + $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$ → ungu kadang hijau biru
- Bosmann : lar zat + $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{e})$ + KMnO_4 , kocok dengan CHCl_3 → larutan CHCl_3 violet

7. Asetosal

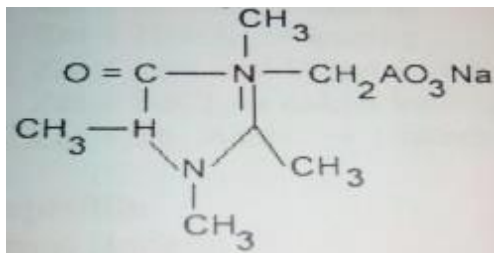
Rumus Bangun



- Zat + FeCl_3 → ungu
- Zat + Marquis → merah darah
- Zat + Frohde → ungu seketika
- Zat dalam alkohol + zwikker → sangat halus
- Zat + H_2O + CaCO_3 → kocok, saring. Filtrat + FeCl_3 → coklat muda
- Sublimasi : lihat kristal dibawah mikroskop

8. Antalgin

Rumus Bangun

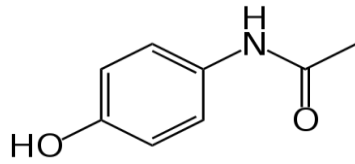


- Zat + Mayer → positif
- Zat + Bouchardat → positif
- Zat + HNO_3 → biru, hijau kuning
- Zat + FeCl_3 → biru, hijau kuning
- Zat + HCl + NaOCl → biru, hijau
- Zat direduksi dengan KMnO_4 → warna hilang
- Diazotasi : zat HCl + NaNO_2 + beta Naftol → jingga berubah coklat berubah hijau

- h. Zat + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ terbentuk kristal
- i. Reaksi kristal : Fe Kompleks

9. Acetaminophen

Rumus Bangun



- a. Zat + $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ biru ungu
- b. Zat + HCl didihkan + air dinginkan \rightarrow tidak terbentuk endapan
- c. Zat + p-DAB HCl, terbentuk endapan kuning
- d. Zat + Diazo A dan B, terbentuk larutan warna jingga

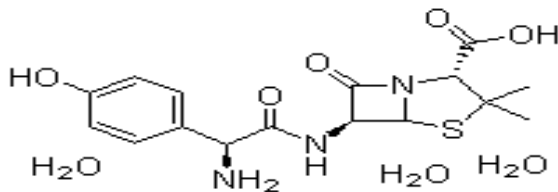
PERCOBAAN III ANTIBIOTIK & ANTIHISTAMIN

Antibiotika adalah suatu zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup yang berkhasiat bakteriostatik atau bakterisida terhadap mikroorganisme hidup lainnya.

Antihistamin adalah suatu senyawa obat yang dapat mengurangi efek farmakologis dengan cara memblokir masuknya histamin ketempat reseptor dalam sel.

1. Amoxicillin

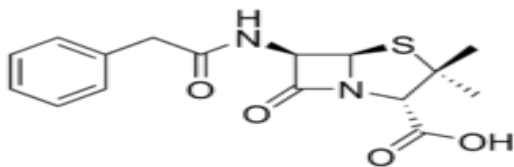
Rumus Bangun



- Zat + H₂SO₄ → kuning
- Zat + HNO₃ → kuning
- Zat + pereaksi Diazo A & B → merah
- Zat + FeCl₃ → coklat kuning
- Zat + Pb. Asetat → hitam

2. Ampisillin

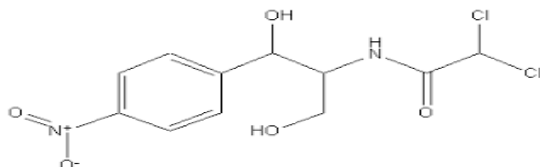
Rumus Bangun



- Lar Zat dalam air + Fehling → merah
- Zat + FeCl₃ → coklat
- Lar Zat dalam air + CuSO₄ dalam NaOH → ungu
- Reaksi kristal : aseton air, Mayer, Dragendorf

3. Kloramfenikol

Rumus Bangun

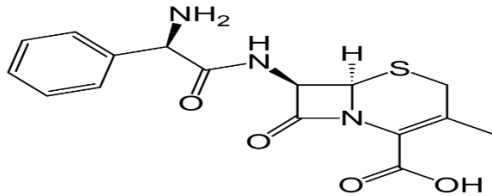


- Zat dalam air + H₂SO₄ → negatif
- Zat dalam air + 5 tetes Cu(NH₃)₂(NO₃)₂, diamkan 5 menit, panaskan 2 menit → coklat abu-abu

- c. Zat dalam air + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ tidak terbentuk endapan
- d. Zat dalam air + 2 ml NaOH 40% Pyridin, panaskan perlahan \rightarrow lapisan pyridin merah, lapisan air kuning ppt

4. Sefaleksin

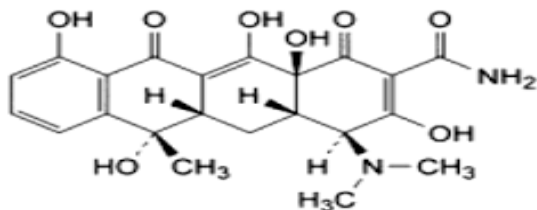
Rumus bangun



- a. Zat dalam air + Hidroksilamin HCl + NaOH, biarkan 5 menit + HCl + $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ ungu merah
- b. Zat dalam air + larutan Potasium Cupril tartrat \rightarrow ungu/hijau yang kemudian bila didiamkan menjadi warna kuning/coklat
- c. Zat dalam air + $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ tidak berwarna
- d. Zat + larutan parapormaldehid dalam $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow$ kuning, kemudian bila dipanaskan dengan w.b. 2 menit dan langsung didinginkan tetap berwarna kuning

5. Tetrasiklin

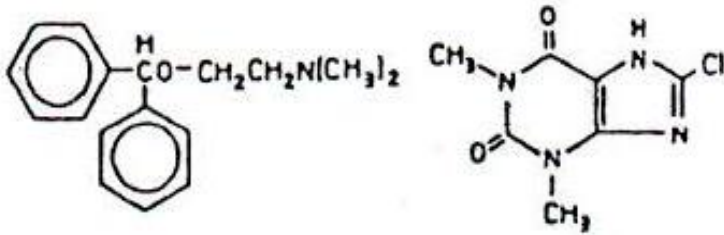
Rumus Bangun



- a. Zat + Marquis \rightarrow merah anggur
- b. Zat + Prohde \rightarrow merah anggur
- c. Zat + HNO_3 pekat \rightarrow negatif
- d. Zat + aqua brom \rightarrow kuning
- e. Zat + Nessler \rightarrow hitam seketika
- f. Zat + Millon \rightarrow rosa
- g. Zat + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ reduksi
- h. Zat + vanilin- $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow$ ungu hijau
- i. Zat + H_2SO_4 pekat \rightarrow ungu hijau

6. Menhidrinat

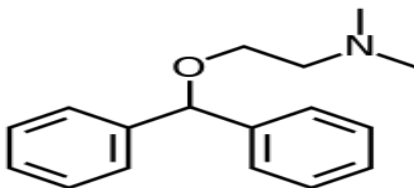
Rumus Bangun



- Zat + H₂SO₄ pekat → jingga hingga merah
- Zat + HCl pekat → rosa lemah
- Zat + HNO₃ pekat → negatif
- Zat + aqua brom → negatif
- Zat + Marquis → kuning sampai coklat
- Zat + Prohde → kuning jingga
- Zat + FeCl₃ → merah coklat
- Zat + Roux → coklat
- Reaksi kristal : Asam Pikrat, aseton air

7. Dipenhidramin

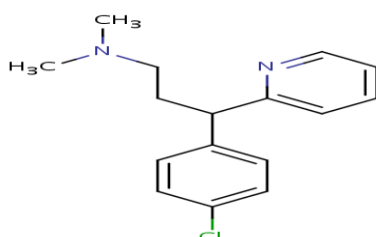
Rumus Bangun



- Zat + H₂SO₄ pekat → jingga hingga merah
- Zat + KMnO₄ dipanaskan → bau dimetilamin
- Zat dalam HNO₃ + H₂SO₄ → merah violet, + air + kloroform, kocok → lapisan kloroform violet
- Zat + aqua Iod → hitam keunguan
- Zat + Marquis → kuning
- Zat + Mayer → ungu muda
- Reaksi kristal : Asam Pikrat, aseton air

8. Clotrimeton

Rumus Bangun



- a. Zat + Cuprifil → positif
- b. Zat + Marquis → kuning
- c. Zat + Prohde → kuning
- d. Zat + p-DAB HCl → biru hijau
- e. Reaksi kristal : Asam Pikrat, aseton air

9. Eritromisin

Rumus Bangun

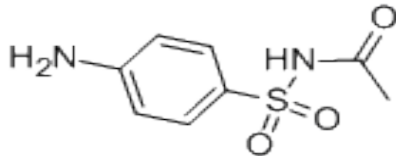
- a. Zat + Marquis → hitam
- b. Zat + FeCl_3 → kuning/jingga
- c. Zat + Cuprifil → ungu (kental)

PERCOBAAN IV SULFONAMIDA

Sulfonamida digunakan sebagai kemoterapeutika, antibiotika, desinfektan dan diuretika. Zat ini bersifat amfoter, mudah larut dalam aseton, umumnya tidak larut dalam air dingin.

1. Sulfoacetamid

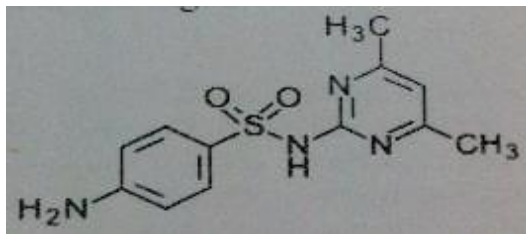
Rumus Bangun



- Reaksi Roux : hijau zamrud
- Zat + p-DAB-HCl \rightarrow hijau tua segera kuning jingga
- Zat + $\text{KBrO}_3 \rightarrow$ kuning jingga \rightarrow coklat tua
- Esterifikasi : Zat + etanol + H_2SO_4 pekat \rightarrow etil asetat
- Reaksi Parri : positif
- Reaksi kristal : p-DAB-HCl, aseton air, asam pikrat

2. Sulfadiazin

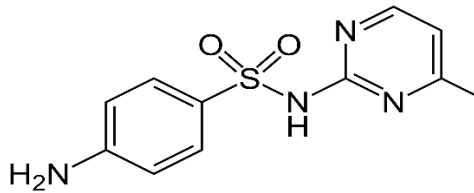
Rumus Bangun



- Reaksi Roux : segera ungu ---- biru hijau
- Zat + p-DAB-HCl \rightarrow kuning tua, jingga
- Zat + $\text{CuSO}_4 \rightarrow$ ungu kristal
- Zat dalam 2 ml NaOH 0,1 N + 10 ml air + 0,5 ml $\text{CuSO}_4 \rightarrow$ hijau dan hitam ---- kelabu ungu
- Reaksi Indofenol : merah rosa
- Reaksi Raybin : zat + H_2SO_4 pekat \rightarrow merah carmin + asam asetat glasial + $\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow$ biru berfluoresensi kuning hijau
- Esterifikasi : zat + etanol + H_2SO_4 pekat \rightarrow etil asetat
- Reaksi Parri : positif
- Reaksi kristal : sublimasi, Na. posfat, potasium triiodida

3. Sulfamerazin

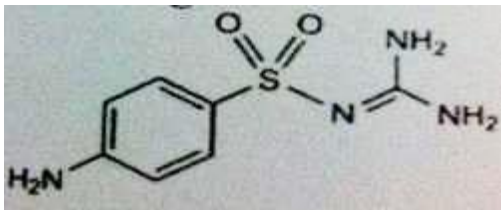
Rumus Bangun



- Reaksi Roux : violet – ungu biru – biru hijau – hijau
- Zat + p-DAB-HCl → jingga merah
- Zat + CuSO_4 → kelabu coklat
- Reaksi Vanilin → merah stabilatan
- Reaksi Indofenol : pink
- Reaksi Raybin : positif
- Reaksi kristal : sublimasi, aseton air, asam pikrat, dragendorf, Fe. Kompleks. Bouchardat

4. Sulfaguanidin

Rumus Bangun

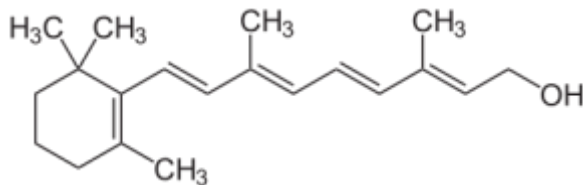


- Reaksi Roux : kuning hijau ---- hijau kotor
- Zat + p-DAB-HCl → jingga
- Zat + CuSO_4 → alkalis : biru ungu, netral : negatif
- Zat + KBrO_3 → ungu kecoklatan
- Reaksi Pyrolisa : ungu + gas NH_3
- Zat + 3 tetes HCl encer + air + 2 tetes NaNO_3 0,1% + 5 tetes diphenyl amin 1% dalam spiritus → merah ungu, tarik dengan kloroform → hijau kuning
- Reaksi kristal : sublimasi, asam picrolonat

PERCOBAAN V
VITAMIN & LAIN-LAIN

1. Vitamin A

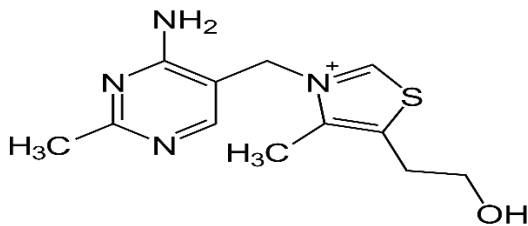
Rumus Bangun



- Fluoresensi : hijau kuning pupus
- Zat + $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ rosa
- Zat dalam air \rightarrow jingga
- Zat + Fosfomolibdat \rightarrow biru
- Reaksi Carr dan Price : Zat dalam kloroform + SbCl_3 dalam kloroform \rightarrow ungu coklat

2. Vitamin B1

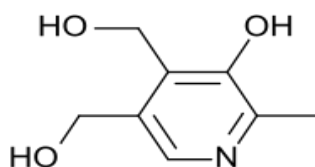
Rumus Bangun



- Formaldehyde Azo test : Zat + azo benzen + H_2SO_4 + NaOH + formaldehid \rightarrow merah
- Zat + $\text{HgCl}_2 \rightarrow$ putih
- Zat + Nessler \rightarrow kuning hitam
- Zat + $\text{NaOH} \rightarrow$ kuning hijau + $\text{KMnO}_4 \rightarrow$ hijau
- Zat + ninhidrin \rightarrow kuning stabil
- Zat + Fosfomolibdat \rightarrow biru
- Reaksi kristal : Fe. Kompleks, asam pikrat, Bouchardat

3. Vitamin B6

Rumus Bangun

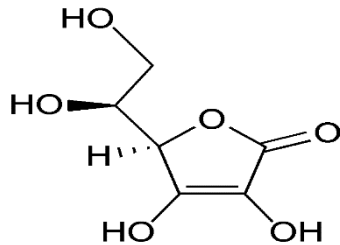


- Formaldehyde Azo test : Zat + azo benzen + H_2SO_4 + NaOH + fformaldehid \rightarrow merah
- Zat + $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ merah coklat
- Zat + Nessler \rightarrow kuning hitam
- Zat + $\text{NaOH} \rightarrow$ kuning hijau + $\text{KMnO}_4 \rightarrow$ hijau
- Zat + ninhidrin \rightarrow kuning stabil

- f. Zat + Fosfomolibdat → biru
- g. Zat + Diazo A & B + NaOH → kuning ---- jingga merah
- h. Reaksi kristal : Fe. Kompleks, asam pikrat, Bouchardat

4. Vitamin C

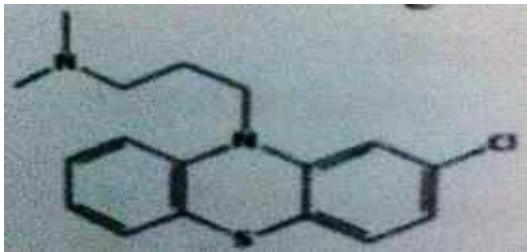
Rumus Bangun



- a. Zat + Nessler → hitam
- b. Zat + KMnO₄ dalam suasana dingin → warna ungu direduksi menjadi hitam
- c. Zat + air + NaHCO₃ + FeSO₄, kocok, diamkan → warna ungu
- d. Zat + Fosfomolibdat → ungu
- e. Zat + FeCl₃ → ungu
- f. Zat + HNO₃ + AgNO₃ → abu-abu
- g. Zat dalam air + Potasium Cupril Tartrat → jingga, dipanaskan → coklat merah

5. Chlorpromazine

Rumus Bangun



- a. Zat + H₂SO₄ pekat → rosa ---- rosa violet
- b. Zat + aqua brom → hitam ungu hijau
- c. Zat + FeCl₃ → rosa ---- rosa kecoklatan
- d. Reaksi Bleinstein : positif
- e. Reaksi Iodoform : positif
- f. Reaksi Roux : merah coklat
- g. Reaksi kristal : Fe kompleks, Dragendorf

BAB II ANALISIS FARMASI KUANTITATIF

Analisis kuantitatif fokus kajiannya adalah penetapan banyaknya suatu zat tertentu (analit) yang ada dalam sampel. Analisis kuantitatif terhadap suatu sampel terdiri atas empat tahapan pokok :

1. Pengambilan atau pencuplikan sampel (*sampling*).
2. Mengubah analit menjadi suatu bentuk sediaan yang sesuai untuk pengukuran.
3. Pengukuran.
4. Perhitungan dan penafsiran pengukuran.

Langkah pengukuran dalam suatu analisis dapat dilakukan dengan cara-cara kimia, fisika, biologi. Teknik laboratorium dalam analisis kuantitatif digolongkan ke dalam titrimetri (volumetri), gravimetri dan instrumental. Analisis titrimetri berkaitan dengan pengukuran volume suatu larutan dengan konsentrasi yang diketahui yang diperlukan untuk bereaksi dengan analit. Istilah analisis instrumental berhubungan dengan pemakaian peralatan istimewa pada langkah pengukuran.

Metode yang baik dalam suatu analisis kuantitatif seharusnya memenuhi kriteria, yaitu :

1. Peka (*sensitive*)
2. Presisi (*precise*)
3. Akurat (*accurate*)
4. Selektif
5. Praktis

Pemilihan metode yang memenuhi semua syarat di atas hampir tidak mungkin kita peroleh, sehingga perlu kita pilih kriteria yang sesuai dengan keadaan sampel yang kita uji. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan metode analisis adalah tujuan analisis, macam dan jumlah bahan yang dianalisis, ketetapan dan ketelitian yang diinginkan, lamanya waktu yang diperlukan untuk analisis, dan peralatan yang tersedia.

A. Alat-alat

1. Neraca (timbangan) analitik, syarat neraca yang baik, adalah sebagai berikut : akurat/teliti, stabil dan peka.
2. Alat ukur volume
Pada analisa volumetri alat ukur volume yang sering digunakan adalah :
 - a. Labu tentukur (*volumetric flask*)
 - b. Buret, berbentuk tabung dengan garis skala seperti pada pipet ukur dengan penampang yang sama dari atas ke bawah. Dibagian bawah dilengkapi dengan kran yang terbuat dari gelas atau teflon. Kapasitas yang sering digunakan 25 dan 50 ml, dengan pembagian skala 0,05 atau 0,1 ml.
 - c. Pipet, dibagi menjadi dua macam, yaitu :

- Pipet volume (*volumetric/transfer pipette*), sering disebut pipet gondok berbentuk pipa dibagian tengahnya terdapat pipa bulat dan pipa atas terdapat garis melingkar sebagai batas pengisian. Pipet ini digunakan untuk pengambilan cairan sebanyak volume yang teliti sesuai kapasitas pipet.
- Pipet ukur (*graduated/measuring pipette*), berbentuk tabung dengan garis skala seperti pada buret yang menyatakan banyaknya volume terukur. Titik nol terletak diatas sedang paling bawah menunjukkan kapasitasnya.

Cara Membersihkan Alat Gelas

Karena alat ukur volume hanya akurat bila dalam keadaan bersih, maka harus bebas dari pengotor minyak/lemak. Dapat diuji dengan menuang air suling dari alat, maka cairan yang tertinggal tidak boleh terputus-putus.

Untuk membersihkan lemak dapat digunakan detergen/'teepol', tuang larutan kedalam alat biarkan 2 menit.

Atau gunakan larutan jenuh kalium bikromat 5% dalam Asam sulfat pekat, isikan kedalam alat biarkan selama 1 malam. Keluarkan larutan bilas dengan air kran dan terakhir dengan air suling lalu keringkan, campuran pencuci setelah dipakai saring dan simpan.

B. Teknik Analisa Kuantitatif

1. **Pengendapan zat yang tidak akan dianalisis.** Gunakan pereaksi secukupnya sampai tidak terjadi endapan lagi. Untuk mengetahui apakah pereaksi sudah berlebihan atau tidak, dapat dilakukan dengan menguji cairan yang bening diatas endapan lagi menunjukkan pereaksi sudah berlebihan.
2. **Penimbangan.**Gunakan sendok untuk mengambil zat yang akan ditimbang. Pilih timbangan yang tepat sesuai kapasitasnya. Jangan menimbang zat melebihi kapasitas maksimal timbangan yang digunakan. Catat hasil timbangan.

Perhatikan contoh perintah penimbangan berikut :

"Timbang lebih kurang..." artinya : jumlah yang harus ditimbang tidak boleh kurang dari 90% dan tidak boleh lebih dari 110% dari jumlah yang harus ditimbang.

"Timbang dengan saksama..." artinya : deviasi penimbangan tidak boleh lebih dari 0,1% dari jumlah yang ditimbang.

Misalnya dengan pernyataan timbang seksama 500 mg, berarti batas kesalahan penimbangan tidak boleh lebih dari 0,5 mg. Oleh karena itu, penimbangan harus dilakukan dengan neraca analitik kepekaan minimal 0,5 mg.

Penimbangan saksama dapat juga dinyatakan dengan menambahkan angka 0 ddibelakang koma pada akhir bilangan bersangkutan.

Misalnya, dengan pernyataan timbang 200,0 mg dimaksudkan bahwa penimbangan harus dilakukan dengan batas kesalahan penimbangan tidak boleh lebih dari 0,2 mg.

3. **Pengukuran.** Pengukuran volume larutan bisa menggunakan gelas ukur, kecuali jika dinyatakan perintah *"ukur dengan salsama..."*, dimaksudkan bahwa pengukuran dilakukan

dengan memakai pipet standar dan harus digunakan sedemikian rupa sehingga kesalahannya tidak melebihi batas yang ditetapkan.

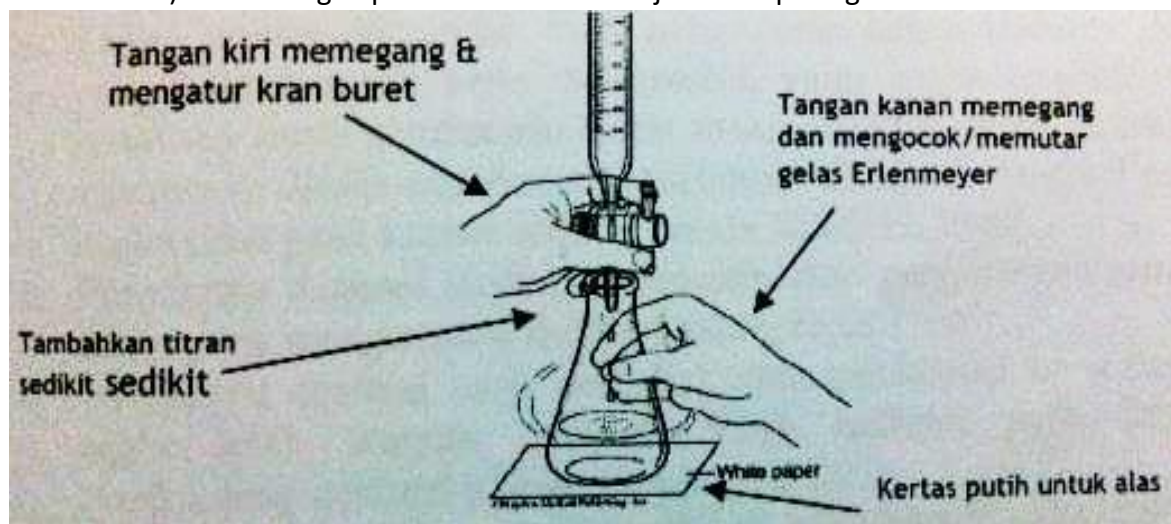
Pengukuran saksama dapat juga dinyatakan dengan menambahkan angka 0 di belakang angka koma terakhir bilangan yang bersangkutan. Misalnya dengan pernyataan pipet 10,0 ml bahwa pengukuran harus dilakukan dengan saksama.

4. **Penggunaan buret**

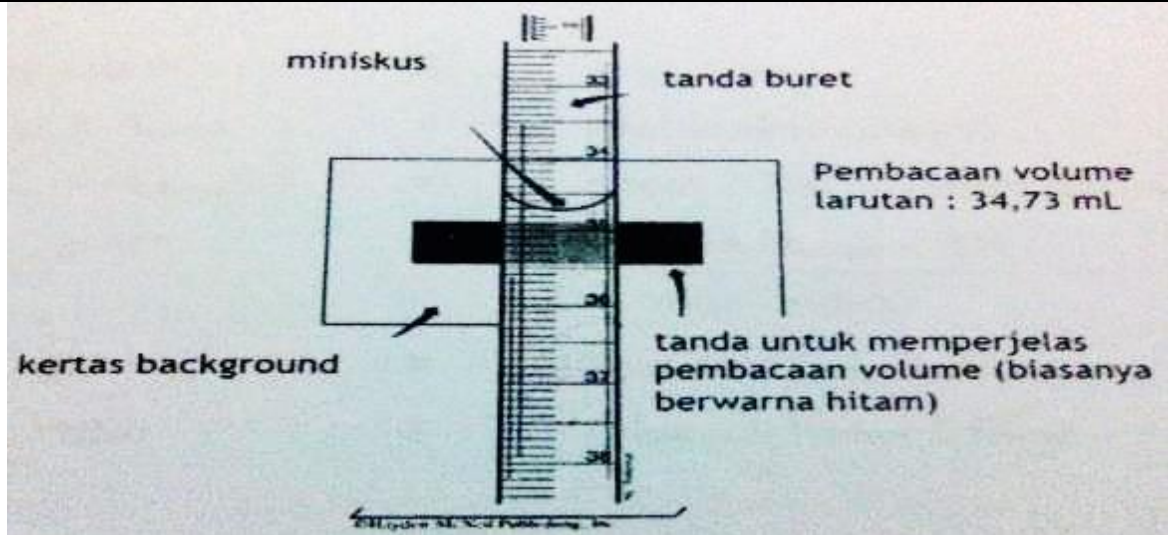
- Periksa terlebih dahulu apakah buret dalam kondisi baik (tidak pecah atau bocor), berikan sedikit saja vaselin pada kran agar pengaturan penetesannya mudah dilakukan.
- Bersihkan buret sebelum digunakan dengan air, bilaslah buret tersebut dengan sedikit zat kimia yang akan dimasukkan ke dalamnya.
- Masukkan zat kimia yang akan digunakan ke dalam buret tersebut dengan menggunakan corong. Lakukan pengisian sampai seluruh bagian buret terisi (perhatikan bagian bawahnya!) dan tidak terdapat gelembung gas pada buret.
- Pasang buret pada statif dan klem agar posisinya stabil dan tegak lurus.
- Untuk pembacaan skala digunakan kertas hitam-putih, pegang dibelakang buret sedikit dibawah permukaan garis lengkungan (miniskus).
- Pada buret *Schellbach* dinding belakang bagian dalam diberi garis biru diatas dasar putih, pembacaan tepat pada bagian lancip dari garis biru.

5. **Pemilihan buret.** Lakukan titrasi orientasi terlebih dahulu menggunakan buret kapasitas 50,0 ml. Untuk selanjutnya, pada titrasi replikasi pemilihan buret harus berdasarkan ketentuan : Volume terukur yang teliti adalah sebanyak 20-80% dari kapasitas buret. Jadi, jika dari hasil orientasi didapat volume titrasi 10,0 ml, maka titrasi selanjutnya gantilah dengan buret kapasitas 25,0 ml.

6. **Cara titrasi.** Zat yang akan dititrasi disebut sebagai **titrat** (ditampung dalam erlenmeyer), sedangkan larutan yang digunakan untuk menitrasi disebut sebagai **titran** (dimasukkan ke dalam buret). Posisi tangan pada saat titrasi ditunjukkan seperti gambar dibawah.



7. **Pembacaan volume titrasi.** Mata harus sejajar miniskus, gunakan miniskus bahwa untuk menentukan volume titrasi. Jangan lupa perhatikan skala buret, karena masing-masing kapasitas buret memiliki skala yang berbeda.



8. Penetapan dalam duplo. Lakukan penetapan paling sedikit dua kali. Jika kesesuaian hasilnya lebih dari 0,4 hasil tersebut tidak dapat dirata-rata. Jika digunakan volume larutan sampel yang sama, maka pembacaan buret tidak boleh berselisih lebih dari 0,05 ml. Jika syarat-syarat ini tidak tercapai, maka harus dilakukan titrasi ulang sampai diperoleh selisih yang tidak lebih dari 0,05 ml.

9. Penulisan angka penting

Angka penting adalah semua digit dalam suatu bilangan (diperoleh dari pengukuran) yang bersifat pasti plus satu yang mengandung suatu ketidakpastian (perkiraan).

Penulisan angka hasil pengukuran, pada hakekatnya berkaitan dengan ketelitian alat yang dipakai. Cara penulisan angka penting mengikuti kaidah sebagai berikut :

- Secara umum, penulisan hasil pengukuran hanya terdapat satu angka yang harganya tak tentu (*uncertain*), yaitu angka terakhir. Contoh : penulisan hasil pembacaan buret makro dengan skala terkecil 0,1 ml seharusnya ditulis dua desimal, misalnya 12,65 ml. Angka 5 merupakan angka tidak pasti karena terletak antara 12,60-12,70 ml.
- Banyaknya desimal hasil penjumlahan atau pengurangan sama dengan faktor yang mengandung desimal paling sedikit.
- Banyaknya desimal hasil perkalian atau pembagian sama dengan satu angka lebih banyak daripada yang terdapat pada faktor yang mengandung desimal paling sedikit.
- Penulisan hasil akhir yang memerlukan pembulatan angka desimal, maka angka desimal 5 atau lebih dibulatkan ke atas, sedangkan angka desimal <5 dibulatkan ke bawah.
- Untuk penulisan angka pada kadar sampel gunakan 4 desimal.

C. Cara Perhitungan Kadar

Secara teoritis, titrasi dihentikan pada saat tercapai titik ekuivalensi. Pada saat titik tersebut, jumlah gram ekuivalensi (grek) titrat sama dengan jumlah gram ekuivalensi (grek) titran, sehingga dapat diturunkan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{grek titran} &= \text{grek titrat} \\ V_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} &= \text{mol} \times \text{ekuivalensi} \\ V_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} &= \frac{\text{gram}}{\text{BM}} \times \text{ekuivalensi} \\ \text{gram} &= \frac{V_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} \times \text{BM}}{\text{ekuivalensi}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{atau} \quad \text{gram}_{\text{zat}} &= V_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} \times \text{BE}_{\text{zat}} \\ \text{mg}_{\text{zat}} &= \text{ml}_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} \times \text{BE}_{\text{zat}} \end{aligned}$$

Jadi

$$\text{kadar} = \frac{\text{mg}_{\text{zat}}}{\text{mg}_{\text{sampel}}} \times 100 \quad \% \text{b/b}$$

$$\text{kadar} = \left(\frac{\text{ml}_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} \times \text{BE}_{\text{zat}}}{\text{mg}_{\text{sampel}}} \times 100 \right) \% \text{b/b}$$

jika sampel dalam bentuk cairan, maka kadar dinyatakan dalam %b/v, sehingga rumus kadar menjadi:

$$\text{kadar} = \frac{\text{mg}_{\text{zat}}}{\text{ml}_{\text{sampel}} \times 1000} \times 100 \quad \% \text{b/v}$$

$$\text{kadar} = \left(\frac{\text{ml}_{\text{titran}} \times N_{\text{titran}} \times \text{BE}_{\text{zat}}}{\text{ml}_{\text{sampel}} \times 1000} \times 100 \right) \% \text{b/v}$$

D. Satuan dan Rumus yang diperlukan :

1. Molaritas

Molaritas (M) adalah : banyaknya mol zat terlarut dalam tiap liter larutan

$$M = \text{mol/L} = \frac{\text{g}}{\text{BM} \cdot V}$$

g = banyaknya zat terlarut (gram)

BM = berat molekul

V = volume larutan (liter)

2. Normalitas

Normalitas (N) adalah : banyaknya ekivalen zat terlarut tiap liter larutan

$$N = \frac{ek}{V}$$

$$ek = \frac{g}{BE}$$

$$BE = \frac{BM}{n}$$

$$N = \frac{g}{BE \cdot V} = \frac{g \cdot n}{BM \cdot V}$$

PERCOBAAN I TITRASI BEBAS AIR (TBA)

Titration bebas air atau titration non-Aqua adalah titration yang menggunakan pelarut organik sebagai pengganti air. Dengan pelarut organik tertentu, kekuatan asam atau basa lemah dapat diperbesar sehingga memungkinkan suatu titration yang tidak memuaskan dalam pelarut air. Di bidang farmasi teknik ini banyak dipakai karena banyak obat bersifat asam atau basa lemah yang suka larut dalam air. Dengan pemilihan pelarut yang tepat, penetapan kadar dari komponen campuran asam atau basa juga dimungkinkan. Teori asam-basa dari Arrhenius ternyata tidak berhasil menjelaskan sifat karakteristik dari asam dan basa dalam pelarut organik. Dalam hal ini, teori yang umum telah dikemukakan oleh Bronsted. Menurut teori ini, asam adalah pemberi proton, sedangkan basa adalah penerima proton.

Dalam pemilihan pelarut, ada tiga hal yang harus diperhatikan, yaitu sifat asam-basa dari pelarut. Untuk menitrasi basa lemah, maka dipilih pelarut yang lebih bersifat asam dan demikian pula sebaliknya. Misalnya, pada titration basa lemah, asam asetat lebih baik daripada air, tetapan dan autoprotolisis serta tetapan dielektrik. Asam perklorat sejauh ini merupakan asam yang telah luas digunakan untuk titration basa lemah, karena asam ini adalah asam yang sangat kuat yang sangat mudah didapat. Basa lemah dititrasi paling sering dalam larutan asam asetat glasial. Normalnya pengaruh temperatur pada volume titran teukur dapat diabaikan dengan diabaikan dengan larutan berair pada variasi temperatur kamar basa. Pelarut organik seperti asam asetat, benzena, dan metanol sebaiknya mempunyai koefisien ekspansi termal yang agak besar, dan perubahan volumenya tidak bisa diabaikan jika titran tersebut berada pada temperatur standarisasinya.

Titration titrimetri dalam lingkungan bebas air, pelarut mengambil bagian yang amat penting untuk reaksi stoikiometri, dimana pelarut tersebut dapat mengambil bagian dalam reaksi. Ada tiga teori yang menerangkan reaksi netralisasi dalam suatu pelarut yaitu teori ikatan hidrogen, teori Lewis dan teori Bronsted. Penggunaan pelarut aprotik pada titration bebas air memberikan dua keuntungan. Pelarut tidak mempunyai efek menyettingkan keasaman/kebasaan asam basa yang bereaksi sesamanya. Garam yang terjadi pada titration tidak akan diuraikan secara protolitik oleh pelarut. Kerugiannya adalah sifat yang sedikit polar atau non polar yang mempunyai daya pelarutan kecil untuk protolit dan pendesakan kembali disosiasi. Disebabkan terdesaknya kembali disosiasi, maka kemampuan hantaran suatu larutan akan sangat dikurangi, sehingga misalnya penentuan potensiometri suatu titration tidak mungkin dilakukan

Seperti telah diuraikan diatas, kekuatan asam basa ditentukan pula oleh kemampuan pelarut untuk menerima dan melepaskan proton. Berdasarkan hal ini maka pelarut dapat dibedakan menjadi :

1. Pelarut protogenik, adalah pelarut yang mudah memberikan proton.

Misalnya : asam-asam

1. Pelarut protofilik, adalah pelarut yang mudah menerima proton.

Misalnya : basa-basa, eter, keton

1. Pelarut amfiprotik, adalah pelarut yang dapat menerima maupun memberikan proton.

Misalnya : air, asam asetat, alkohol

1. Pelarut aprotik, adalah pelarut yang tidak dapat menerima maupun memberikan proton.

Misalnya : kloroform, benzen, dioksan

Digunakan pelarut organik bukan air karena senyawa tersebut tidak dapat larut dalam air, disamping itu kurang reaktif dalam air seperti misalnya garam-garam amina, dimana garam-garam ini dirombak lebih dahulu menjadi basa yang bebas larut dalam air, sari dengan pelarut organik lain dan direaksikan dengan asam baku berlebih, yang kemudian pelarutnya diuapkan dan barulah kelebihan asam ditentukan kembali dengan basa baku sedangkan senyawa-senyawa organik yang mengandung nitrogen ditentukan dengan metode Kjeldahl. (Dhanar Dani, 1998).

1. Pembuatan larutan (diamkan 24 jam)

Asam perklorat 0,1 N : (FI III hal.744)

8,5 ml HClO₄ P 70% + 500ml HAc-glasial P + 21 ml anhidrida asetat P, dinginkan, + HAc glasial P
→ 1liter

Atau

11 ml HClO₄ P 60% + 500ml HAc-glasial P + 30 ml anhidrida asetat P, dinginkan, + HAc glasial P
→ 1liter

2. Pembakuan HClO₄ 0,1 N (FI III, 744)

Timbang saksama 700 mg Kalium Biftalat P (KHP) yang telah dikeringkan pada suhu 120°C selama 2 jam. Larutkan dalam 50 ml asam asetat glasial P dalam labu 250 ml.

Titiasi dengan larutan HClO₄ menggunakan indikator lautan Kristal violet P hingga warna hijau zamrud.

3. Penetapan kadar Vit.B6-HCl/Pyridoksin HCl (FI III, hal 541)

Timbang saksama 400mg zat uji, larutkan dalam campuran 10 ml asam asetat glasial P dan 10 ml larutan Hg(II)asetat P, hangatkan sedikit hingga larut, dinginkan pada suhu kamar tambahkan 2 tetes larutan Kristal violet P dan titiasi dengan asam perklorat 0,1 N. Lakukan penetapan blanko.



Catatan :

Gunakan asam asetat glasial P 100% yang baru, jangan gunakan yang sisa....!!!

PERCOBAAN II
TITRASI NITRIMETRI
(REAKSI DIAZOTASI)

A. Tujuan

Praktikan mampu mengidentifikasi zat dalam suatu sampel serta mampu menetapkan kadarnya menggunakan prinsip reaksi diazotasi.

B. Prinsip Reaksi

Pembentukan garam diazotanium

C. Teori

Metode nitrimetri ini berdasarkan pada reaksi antara amina aromatik primer dengan natrium nitrit dalam suasana asam membentuk garam diazonium (dikenal dengan reaksi diazotasi).



Nitrimetri adalah penetapan kadar suatu zat dengan jalan titrasi menggunakan larutan natrium nitrit sebagai titran. Titrasi ini digunakan untuk penetapan kadar Amin Primer Aromatik berdasarkan reaksi pembentukan garam diazonium dengan asam nitrit pada suhu dibawah 15°C. Reaksi diazotasi dapat dipercepat dengan menambahkan kalium bromida.

Reaksi yang terjadi sangat cepat, maka titrasi harus dilakukan perlahan-lahan. Untuk menjaga kondisi suhu dapat digunakan bongkahan es atau sirkulator. Diatas suhu 15°C garam diazonium yang terbentuk akan terhidrolisa menjadi fenol dan reaksi tidak berlangsung kuantitatif.

Titik akhir titrasi tercapai apabila terjadi warna biru seketika bila larutan dioleskan pada pasta kanji/kertas kanji iodida. Dan bila larutan dibiarkan 1 menit, dan larutan dioleskan pada pasta kanji/kertas kanji iodida akan menunjukkan hasil yang sama.



Penetapan titik akhir dapat juga ditunjukkan dengan campuran tropeolin-oo dan biru metilen sebagai indikator dalam. Titik akhir dapat juga ditunjukkan secara potensiometri dengan menggunakan elektroda kalomel platina.

D. Prosedur

1. Pembuatan Larutan Titer 0,1 N
Timbang seksama 7,5 gram NaNO₂, larutkan dalam 1000 ml air.
2. 1. Pembuatan Indikator

- Indikator Luar : pasta KI-amilum
 - 750 mg KI larutkan dalam 5 ml aquadest
 - 5 gram amylum larutkan dalam 35 ml air.
 - Tuangkan kedua campuran ke dalam 100 ml air mendidih, campur hingga rata dan dinginkan. Oleskan pada lempeng porselin.
 - Indikator dalam : Tropeolin OO dan metilen blue 0,1%
Setiap percobaan ditambahkan 5 tetes larutan tropeolin oo 0,1% dan 3 tetes metilen blue 0,1%. Amati perubahan wana dari merah violet menjadi biru.
3. Pembakuan Larutan Titer NaNO_2 0,1 N
Timbang saksama 100 mg sulfanilamid, masukkan dalam erlenmeyer. Tambahkan 5 ml HCl pekat dan 1 gram KBr, tambahkan 20 ml air, aduk hingga larut. Masukkan ke dalam penangas es dinginkan sampai suhu kurang dari 15°C . Titrasi dengan NaNO_2 dengan indikatorpasta KI-amilum sampai bila sedikit larutan titrasi digoreskan pada pasta KI-amilum segera menjadi biru (setelah sebelumnya larutan titrasi didiamkan selama ± 2 menit) . Lakukan titrasi triplo, hitung N NaNO_2 .
4. Penetapan Kadar Sulfadiazin
Timbang seksama 300 mg sampel, masukkan dalam erlenmeyer. Tambahkan 20 ml aquadest, aduk hingga larut. Tambahkan HCl pekat dan 100 mg KBr, masukkan dalam penangas es dinginkan sampai suhu $\leq 15^\circ\text{C}$. Titrasi dengan NaNO_2 0,1 N, sampai terjadi warna biru setelah digoreskan pada pasta KI-amilum (setelah sebelumnya larutan titrasi didiamkan selama ± 2 menit). Lakukan titrasi triplo, hitung kadar sampel sulfadiazine.

PERCOBAAN III KOMPLEKSOMETRI

Titration kompleksometri didasarkan pada terbentuknya kompleks antara suatu ligan dengan suatu logam. Syarat suatu senyawa kompleks yang dapat digunakan untuk titration kompleksometri adalah :

1. Jangka waktu pembentukan kompleks tidak terlalu lama
2. Kompleks yang terbentuk harus stabil
3. Reaksi harus berjalan kuantitatif
4. Tidak terbentuk reaksi samping
5. Adanya suatu perubahan yang nyata untuk menentukan titik akhir titration yang dapat ditunjukkan oleh suatu indikator atau secara potensiometri

Ada 2 bentuk ikatan kompleks yang terjadi yaitu kompleks biasa dan kompleks khelat.

Kompleks khelat diawali oleh seorang ahli kimia yang bernama Schwarzenbach yang menyadari bahwa ion asetat mampu membentuk kompleks aseto yang rendah kestabilannya dengan kebanyakan kation logam. Karena itu dibentuk suatu asam aminokarboksilat yang merupakan zat pengompleks dengan sifat stabil. Salah satunya adalah Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA) yang akan membentuk kompleks 1:1 yang stabil dengan semua logam kecuali logam alkali.

EDTA merupakan pengompleks yang paling luas dipakai dengan beberapa alasan diantaranya :

1. Senyawa dengan aksi pengompleks yang sangat kuat
2. Titik akhir titration dapat diamati dengan jelas
3. Tersedia secara komersial

Penetapan Kadar Kalsium Laktat, $C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$, BM 308,3

Larutan pereaksi dan pembuatannya :

1. Larutan dinatrium etilendiamina (Na_2EDTA) 0,05 M
Sebanyak 18,61 gram Na_2EDTA dilarutkan dengan air suling, cukupkan sampai volume 1 liter

2. Larutan Magnesium sulfat, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, BM 246,47
Sebanyak 12,398 magnesium sulfat dilarutkan dengan aquadest, cukupkan sampai volume 1 liter sampai tanda batas.

3. Indikator Kalkon
100 mg kalkon dicampur dengan 10 gram Na_2SO_4 anhidrat P

4. Indikator EBT 1%

1 g EBT dalam 100 g NaCl

5. Larutan Dapar Salmiak

Sebanyak 7 gram NH_4Cl dilarutkan didalam 57 ml NH_4OH P, encerkan dengan aquadest 100,0 ml sampai pH yang dikehendaki (pH 10).

6. Pembakuan Larutan Na_2EDTA

Sebanyak 10,0-ml $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ diatur keasamannya dengan menambahkan dapar salmiak pH $9-10 \pm 5$ ml, kemudian tambahkan indicator kalkon 40-50 mg, titrasi dengan larutan Na_2EDTA 0,05 M sampai terbentuk warna merah jadi biru.

7. Penetapan Kadar Kalsium Laktat

Timbang sampel $\pm 100-150$ mg larutkan didalam 30 ml air, tambahkan 5 ml dapar salmiak dan tambahkan indicator EBT 40-50 mg, titrasi dengan Na_2EDTA dari warna merah jambu sampai warna biru.

Perhitungan

1 ml Na_2EDTA 0,05M setara dengan 10,91 mg kalsium laktat

PERCOBAAN
TITRASI OKSIDASI-REDUKSI
(REAKSI REDOKS)

A. TUJUAN UMUM

Praktikan mampu mengidentifikasi zat dalam suatu sampel serta mampu menetapkan kadarnya menggunakan prinsip reaksi oksidasi dan reduksi.

B. MATERI TERKAIT

Oksidasi adalah pelepasan satu atau lebih elektron dari suatu atom, ion atau molekul. Sedang reduksi adalah penangkapan satu atau lebih elektron oleh suatu atom, ion atau molekul. Tidak ada elektron bebas dalam sistem kimia, dan pelepasan elektron oleh suatu zat kimia selalu disertai dengan penangkapan elektron oleh bagian yang lain, dengan kata lain reaksi oksidasi selalu diikuti reaksi reduksi.

Dalam reaksi oksidasi reduksi (redoks) terjadi perubahan valensi dari zat-zat yang mengadakan reaksi. Disini terjadi transfer elektron dari pasangan pereduksi ke pasangan pengoksidasi. Kedua reaksi paro dari suatu reaksi redoks umumnya dapat ditulis sbb :



Di mana **red** menunjukkan bentuk tereduksi (disebut juga reduktan atau zat pereduksi), **oks** adalah bentuk teroksidasi (oksidan atau zat pengoksidasi), **n** adalah jumlah elektron yang ditransfer dan **e** adalah elektron.

Reaksi redoks secara luas digunakan dalam analisa titrimetrik dari zat-zat anorganik maupun organik. Untuk menetapkan titik akhir pada titrasi redoks dapat dilakukan secara potensiometrik atau dengan bantuan indikator.

Analisis volumetri yang berdasarkan reaksi redoks diantaranya adalah bromatometri, yodometri, yodimetri, yodatometri, permanganometri dan serimetri.

TITRASI PERMANGANOMETRI IV

A. Tujuan

Penetapan kadar sampel berdasarkan atas reaksi reduksi oksidasi dengan KMnO_4 .

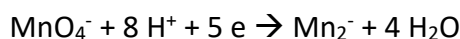
B. Prinsip reaksi

Oksidasi-Reduksi

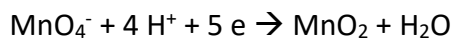
C. Teori

Kalium permanganat merupakan oksidator kuat yang dapat bereaksi dengan cara berbeda-beda tergantung pada pH larutannya. Titrasi permanganometri digunakan untuk menetapkan kadar reduktor dalam suasana asam sulfat encer. Dalam suasana penetapan basa atau asam lemah akan terbentuk endapan coklat yang MnO_4 yang mengganggu.

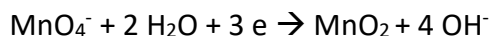
a. Dalam asam sulfat encer :



b. Dalam asam lemah :



c. Dalam larutan netral atau basa :



Pada prinsipnya Titrasi permanganometri dilakukan dengan bantuan pemanasan ($\pm 70^\circ\text{C}$) untuk mempercepat reaksi. Pada awal reaksi titrasi warna merah mantap untuk beberapa saat menandakan reaksi berlangsung lambat.



Pada penambahan titran selanjutnya, warna merah hilang makin cepat karena ion Mangan (II) yang terjadi berfungsi untuk mempercepat reaksi. Selanjutnya titran dapat ditambahkan lebih cepat sampai titik terakhir, yaitu sampai pada tetesan dimana warna merah jambu pucat mantap. Titrasi permanganometri tidak memerlukan indikator karena larutan KMnO_4 sendiri sudah berfungsi sebagai indikator.

D. Prosedur

1. Pembuatan larutan titer KMnO_4 0,1 N

Masukkan 3,161 gram KMnO_4 dalam labu tentukur encerkan dengan air hingga 1000,0 ml, didihkan selama 15-30 menit, dinginkan pada suhu kamar. Simpan dalam botol coklat.

2. Pembakuan larutan titer KMnO_4 0,1 N

Timbang seksama 150 mg asam oksalat. Masukkan dalam Erlenmeyer 100 ml, tambahkan dengan 15 ml H_2SO_4 2N. Titrasi dengan KMnO_4 0,1 N hingga warna merah jambu mantap.

3. Penetapan kadar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Timbang saksama 150 mg sampel, tambahkan 10 ml asam sulfat encer. Titrasi dengan larutan KMnO_4 0,1 N. Lakukan titrasi triplo. Hitung kadar sampel.

PERCOBAAN V TITRASI IODIMETRI

Iodimetri tergolong kepada reaksi reduksi oksidasi (redoks). Iodimetri adalah suatu metode analisis kuantitatif yang mana suatu agen pereduksi dititrasi langsung dengan iodium (I_2). Titrasi yang melibatkan iodium dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu titrasi langsung (iodimetri) dan titrasi tidak langsung (iodometri).

Iodium merupakan oksidator yang relative kuat dengan nilai potensial oksidasi sebesar +0,535 V. Pada saat reaksi oksidasi, iodium akan direduksi menjadi iodide sesuai dengan reaksi :



Iodium akan mengoksidasi senyawa yang mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil dibanding iodium. Vitamin C mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil daripada iodium sehingga dapat dilakukan titrasi langsung dengan iodium. Larutan baku iodium yang telah dibakukan dapat digunakan untuk membakukan larutan natrium tiosulfat. Deteksi titik akhir pada iodimetri ini dilakukan dengan menggunakan indikator amilum yang akan memberikan warna biru pada saat tercapainya titik akhir.

Prosedur :

1. Pembuatan larutan titer I_2 0,1 N
Larutkan 18 gram KI dalam 30 ml air dalam labu tertutup. Timbang sekitar 12,69 gram I_2 dalam gelas arloji, tambahkan sedikit demi sedikit ke dalam larutan KI. Tutup labu dan kocok hingga Iodium larut. Diamkan larutan dalam suhu kamar dan tambahkan air hingga 1000,0 ml.
2. Pembuatan Indikator Amilum 0,5%
0,5 gram amylum disuspensikan dalam 5 ml aquadest. Tambahkan sedikit-sedikit sambil diaduk kedalam 95 ml air mendidih. Panaskan terus sampai larutan bening.
3. Pembakuan larutan titer I_2 dengan As_2O_3
 - Keringkan As_2O_3 pada suhu 105° - $110^{\circ}C$ selama 2 jam
 - Timbang As_2O_3 lebih kurang 49,46 mg dengan saksama masukkan hati hati kedalam Erlenmeyer
 - Teteskan NaOH 8% LP (b/V) secukupnya ad As_2O_3 larut sempurna, encerkan dengan air secukupnya. Masukkan sepotong kecil kertas lakmus ke dalam Erlenmeyer, lalu teteskan HCl encer/ asam sulfat encer P sampai larutan netral (lakmus menjadi merah).
 - Tambahkan 2 g $NaHCO_3$, lalu titrasi dengan larutan iodium 0,1 N menggunakan indikator amilum 0,5%.
4. Penetapan kadar metampiron
 - Timbang saksama 200 mg sampel, masukkan dalam erlenmeyer 100 ml tambahkan 5 ml larutan HCl 0,02 N dan 1 indikator amilum 0,5%. Titrasi dengan I_2 0,1 N sampai terbentuk warna biru yang mantap selama 2 menit. Lakukan titrasi triplo
5. Perhitungan :
1 ml larutan iodium 0,1 N setara dengan 16,67 mg metampiron.

PERCOBAAN VI BROMATOMETRI

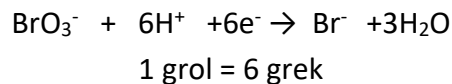
Brom dapat digunakan sebagai oksidator seperti iodium. Brom akan direduksi oleh zat-zat organik dengan terbentuknya senyawa hasil substitusi yang tidak larut dalam air misalnya tribromofenol, tribromoanilin, dan sebagainya yang reaksinya berlangsung secara kuantitatif. Brom juga dapat digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa organik yang mampu bereaksi secara adisi atau substitusi dengan brom. Selain bromnya sendiri, brom dapat juga diperoleh dari hasil pencampuran kalium bromat dan kalsium bromida dalam lingkungan asam kuat sesuai dengan reaksi. 2 cara titrasi :

1. Langsung :

KBrO_3 dalam suasana asam bersifat oksidator dan zat yang akan dititrasi dapat bereaksi secara langsung dengan KBrO_3

Cara:

Zat dilarutkan dalam suasana asam, lalu dititrasi dengan KBrO_3 (KBrO_3 akan mengoksidasi zat)



Pada titik akhir titrasi (setelah semua zat bereaksi dengan KBrO_3 , BrO_3^- akan mengoksidasi Br^- menjadi Br_2 yang bebas, warna larutan menjadi kuning → tanda berakhirnya titrasi. Cara lain untuk mengetahui titik akhir titrasi dengan menggunakan indikator, titik akhir titrasi lebih jelas.

Indikator :

1. Irreversible (indikator teroksidasi oleh Br_2)
Metil red, metil orange, Fuchsin dll
2. Irreversible (Br_2 akan tersubstitusi)
Quinolin yellow, p-etoksi krisoidin

2. Tidak langsung :

Untuk zat-zat yang tidak dapat bereaksi dengan KBrO_3 secara langsung, tetapi dapat bereaksi dengan Br_2 yang terbentuk sebagai hasil reaksi.

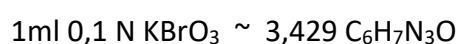
Penetapan kadar INH, BM

Pembuatan larutan baku KBrO_3 0,1N

Larutkan 2,783 g KBrO_3 dalam 1000,0 ml aquadest

Prosedur-1

Timbang saksama $\pm 0,150$ g INH dan diadkan sampai 100,0 ml dengan aquadest. Pipet 20,0 ml larutan, tambahkan 100 ml air, 20 ml HCl, 0,2 g KBr dan 2 tetes larutan etoksi krisoidin. Titrasi pelan-pelan dengan 0,1 N KBrO_3 , kocok kuat-kuat sampai warna merah hilang.



Prosedur-2 (Acta Helvetica)

40mg zat murni (INH) dilarutkan dalam 10ml air (kelarutan 1:10) dalam labu Erlenmeyer 100-200ml. Tambahkan 25ml HCl 2%. Titrasi dengan larutan baku KBrO_3 0,1 N dengan 2 tetes indicator merah metil, titrasi dilakukan perlahan sekali (3-4ml/menit) sampai warna hilang.

$$1\text{ml KBrO}_3\ 0,1\ \text{N} \sim 3,429\text{mg INH}$$

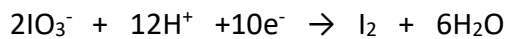
Prosedur-3 (suara farmasi No.3)

Larutkan 500 mg zat (vit-C) dalam 10 ml air, tambahkan 5ml HCL 2,5N dan 1 g KBr. Titrasi dengan 0,1 N KBrO_3 menggunakan indicator merah metil sampai warna merah menjadi kuning.

PERCOBAAN VII IODATOMETRI

Iodatometri adalah suatu metode titrasi oksidimetri menggunakan kalium iodat (KIO_3) sebagai oksidatornya. Titrasi iodatometri merupakan salah satu titrasi redoks. Titrasi redoks didasarkan pada perpindahan electron antara titran dengan sampel yang diuji. Larutan KIO_3 dibuat dengan melarutkan sejumlah tertentu KIO_3 dalam air secukupnya. KIO_3 merupakan baku primer karena mempunyai kemurnian tinggi dan bersifat stabil.

Larutan baku KIO_3 tidak menggunakan normalitas tapi molaritas. Normalitas KIO_3 dapat bermacam-macam tergantung reaksi yang terjadi. Hal ini dapat dilihat pada 2 reaksi dibawah ini :



Pada penetapan kadar dengan KIO_3 digunakan pelarut organik seperti kloroform atau CCl_4 untuk menetapkan titik akhir titrasi. Permukaan kloroform menjadi berwarna pada permulaan titrasi, setelah semua zat pereduksi sudah dioksidasi maka iodat dan iodidanya bereaksi dengan I^- sehingga warna dari lapisan kloroform akan hilang.

Penetapan kadar

Sampel uji Vit C, BM 176,13

Pembuatan larutan pereaksi dan indikator

Larutan KIO_3 0,1 N

Sebanyak 3,586 gram KIO_3 dilarutkan dalam labu tentukur 1 liter dengan aquadest sampai tanda batas.

Penetapan kadar vit C

Zat (vit C) dilarutkan dalam air (10ml) + 15 ml HCl 2N, lalu ditambahkan indikator CHCl_3 (5ml). Titrasi dengan KIO_3 0,1 N sampai lapisan kloroform berwarna ungu

1 grol ~ 2 grek

PERCOBAAN VIII
SPEKTROFOTOMETER
ULTRAVIOLET-VISIBEL

A. TEORI

Teknik spektroskopik adalah salah satu analisis fisiko kimia yang mengamati tentang interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Interaksi REM dengan molekul akan menghasilkan satu atau dua macam dari tiga kejadian yang mungkin terjadi sebagai akibat interaksi atom molekul dengan REM adalah hamburan (scattering), absorpsi (*absorption*) dan emisi (*emission*) REM oleh atom atau molekul yang diamati.

Pada teknik spektroskopik ada dua macam instrumen yaitu spektrometer dan spektrofotometer. Spektrometer menggunakan monokromator celah yang tetap pada bidang fokal, sedangkan spektrofotometer adalah spektrometer yang dilengkapi dengan detektor yang bersifat foto elektrik.

Dalam bidang farmasi analisa menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dikenal sebagai metode utama, baik untuk identifikasi, pemeriksaan kemurnian maupun untuk penetapan kadar. Spektrofotometri serap adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik, yang diserap zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190-380 nm) atau pada daerah tampak (panjang gelombang 380-780 nm).

Suatu molekul akan menyerap energi dari luar apabila energi tersebut besarnya sama dengan energi yang dibutuhkan oleh molekul tersebut untuk melakukan transisi pada level energinya, oleh karena molekul tiap level yang berbeda maka energi yang dibutuhkan oleh senyawa tidak sama, yakni tertentu jumlahnya sesuai dengan rumus :

$$E = h\nu = hc / \lambda$$

E = energi (erg)

h = tetapan Planck ($6,62 \times 10^{-27}$ erg^{-sec})

v = frekuensi (cps)

c = kecepatan cahaya (3×10^{10} cm/sec)

λ = panjang gelombang (nm)

Intensitas cahaya yang diserap tergantung dari jumlah molekul atau kadar larutan dari zat peresap. Ini merupakan dari analisa kuantitatif dan dapat dinyatakan dengan **Hukum Beer** sebagai berikut :

$$A = a \cdot b \cdot c$$

A = resapan

a = daya serap

b = tebal larutan (cm)

c = konsentrasi (g/L)

PENGARUH pH TERHADAP BENTUK SPEKTRUM

A. Tujuan

Untuk mengetahui pengaruh bentuk spektrum terhadap pH pelarut.

B. Alat dan Bahan

- | | |
|---------------------|-----------------------|
| a. Baku Vitamin B1 | f. Spektrofotometer |
| b. Baku Parasetamol | g. Aquadest |
| c. NaOH/HCl 0,1 N | h. Timbangan Analitik |
| d. Alat-alat gelas | |

C. Cara Kerja

1. Pembuatan Spektrum (UV)

- Timbang seksama 100,0 mg baku murni Vitamin B1, masukkan dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan aquadest sampai tanda batas (larutan Baku primer/Induk), pipet 2,0 ml dari larutan induk masukkan dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan aquadest.
- Lakukan hal yang sama pada Vitamin B1 dengan pelarut NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N.
- Ukur serapan dari masing-masing larutan berbeda pH dengan Spektrofotometer.

2. Pembuatan Spektrum Asam Salisilat

- Timbang seksama 100,0 mg baku murni Asam Salisilat, (larutkan dengan etanol) masukkan dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dengan aquadest sampai tanda batas (larutan Baku primer/Induk), pipet 2,0 ml dari larutan induk masukkan dalam labu tentukur 100,0 ml, encerkan dengan aquadest.
- Lakukan hal yang sama pada asam salisilat dengan pelarut NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N.
- Tambahkan pereaksi warna $\text{FeCl}_3/\text{FeNO}_3$
- Ukur serapan dengan Spektrofotometer

D. Hasil Spektrum Ultra Violet

E. Hasil Spektrum Visibel

F. Pembahasan

PERCOBAAN IX

PENETAPAN KADAR KAFEIN DALAM MINUMAN ENERGI DENGAN KCKT

TUJUAN PERCOBAAN :

1. Mahasiswa mengetahui prinsip dasar analisis sampel dengan alat KCKT
2. Mahasiswa mampu menentukan kadar kafein dari suatu sampel

TEORI SINGKAT

KCKT adalah alat yang sangat bermanfaat dalam analisis. Sebenarnya alat ini merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Selain dari pelarut yang menetes melalui kolom dibawah grafitasi, didukung melalui tekanan tinggi sampai dengan 400 atm.

KCKT memperbolehkan penggunaan partikel yang berukuran sangat kecil untuk material terpadatkan dalam kolom yang mana akan memberi luas permukaan yang lebih besar berinteraksi antara fase diam dan molekul-molekul yang melintasinya. Hal ini memungkinkan pemisahan yang lebih baik dari komponen-komponen dalam campuran.

Melalui metode KCKT dimungkinkan analisis campuran dalam jumlah kecil dalam waktu yang cepat, keunggulannya bila dibandingkan dengan kromatografi gas antara lain, dengan teknik ini dapat dilakukan analisis campuran zat yang bersifat termolabil dan kemungkinan pemisahan diperluas dengan memvariasikan komposisi fase gerak (*solvent programming*) disamping kecepatan aliran, suhu dan jenis fase diam.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada analisis KCKT antara lain :
Kolom harus dijaga jangan terkontaminasi dengan sisa-sisa sampel maupun pelarut yang digunakan sebelumnya. Setiap percobaan selesai kolom harus dicuci dengan air-metanol, asetonitril-air, atau isopropanol 10% selama kurang lebih 15 menit. Pelarut harus jernih dan bebas udara, aerasi dapat dilakukan dengan mengaliri gas He atau menggunakan *vacuum degasser*.

Metode KCKT dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Untuk analisis kualitatif dengan membandingkan kromatogram sampel dengan kromatogram baku pembanding berdasarkan waktu retensinya. Sedangkan untuk analisis kuantitatif dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan :

$$C_x = A_x/A_p \times C_p$$

Keterangan :

A = peak area = luas puncak

C = konsentrasi

X = Sampel

P = Pembanding

Atau dapat pula ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi larutan standar.

ALAT DAN BAHAN

Alat :

a.KCKT

b.Kolom : C18 (nonpolar)

c. Syringe

- d. Pipet volume 10 ml
- e. Labu tentukur 50 ml

Bahan :

- a. Kafein
- b. Minuman berenergi
- c. Methanol p.a
- d. Asetonitril
- e. Aqua bidest

Prosedur Kerja :

A. Pembuatan Larutan Baku Kafein

1. Timbang saksama 25 mg kafein, masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml tambahkan pelarut metanol pa 30% 25 ml, kocok hingga larut.
2. Lakukan aerasi terhadap larutan 1 dengan ultasonic bath selama 15 menit
3. Encerkan dengan metanol p.a 30% sampai garis tanda, kemudian saring (Karutan stock A)
4. Pipet 10 ml (Larutan Standar A), masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan pelarut metanol p.a 30% sampai garis tanda
5. Pipet 5 ml (Larutan Standar B), masukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan pelarut metanol p.a 30% sampai garis tanda
6. Ambil masing-masing 1 ml larutan standar A dan B, masukkan ke dalam vial dan injeksikan sebanyak 10 μ l ke dalam kolom KCKT. Tentukan komposisi fase gerak yakni 70% metanol : 28% air dan 2% asetonitil serta laju alir 1 ml/menit dan panjang gelombang detektor 254 nm
7. Tentukan berapa % area untuk kedua larutan standar dan buatlah kurva kalibrasi untuk kedua larutan standar tersebut

B. Larutan Sampel

1. Ambil sebanyak 5 ml larutan sampel, masukkan kedalam labu tentukur 10 ml, encerkan dengan metanol p.a 30% sampai garis tanda. Kemudian aerasikan selama 15 menit
2. Pipet 1 ml larutan sampel, masukkan ke dalam vial dan lakukan pemisahan dengan parameter yang sama seperti pada larutan standar
3. Tentukan kadar kafein dalam sampel

DATA PENGAMATAN

Catat hal-hal penting dan data pengamatan anda pada lembaran tersendiri

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, 1979, Farmakope Indonesia Edisi III, Departemen Kesehatan Rrepublik Indonesia, Jakarta.
2. Anonim, 1995, Farmakope indonesia edisi IV, Departemen Kesehatan Rrepublik Indonesia, Jakarta.
3. Day, R. A. dan Underwood, A. L., 1999, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi V, diterjemahkan oleh : Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta.
4. Mursyidi, A., & Rohman, A., 2006, Pengantar Kimia Farmasi Analitik : *vulometri dan Gravimetri*, Yayasan Farmasi Indonesia, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
5. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F J., Crouch, S.R., 1999, *Analytical Chemistry : an Introduction*, 7th Edition, Thomson Learning, Inc., United States of America.