PETUNJUK PRAKTIKUM

KIMIA ANALISIS II

Dr. Pudjono, S.U., Apt.

Nama : _____

NIM. : _____

Kelompok : _____

LABORATORIUM KIMIA FARMASI

JURUSAN FARMASI

UNIVERSITAS PERADABAN

2019

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL.....1

DAFTAR ISI ii

PERATURAN PRAKTIKUM iii

PRAKTIKUM I. PEMBUATAN LARUTAN INDUK BAKU DAN LARUTAN BAKU KERJA.....1

PRAKTIKUM II. PENENTUAN *OPERATING TIME* DAN λ MAKSIMUM.....2

PRAKTIKUM III. PEMBUATAN KURVA BAKU 3

PRAKTIKUM IV. PENETAPAN KADAR SULFADIASIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL 4

PRAKTIKUM V. PENETAPAN KADAR SULFADIAZIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV.....5

PRAKTIKUM VI. PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DAN KAFEIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI.....8

PRAKTIKUM VII. PENETAPAN pKaVITAMIN B_6.....11

DAFTAR PUSTAKA.....17

LAMPIRAN 18

universitas peradaban

PERATURAN PRAKTIKUM

1. Asistensi wajib diikuti seluruh praktikan
2. Pretes dilakukan 1 minggu/ sebelum praktikum dimulai dengan asisten praktikum yang telah ditentukan. Pada saat pre tes diwajibkan membawa laporan sementara *(lihat lampiran).*
3. Mahasiswa wajib hadir 15 menit sebelum praktikum dimulai.
4. Selama praktikum berlangsung dilarang meninggalkan laboratorium tanpa seizin dari asisten/dosen.
5. Sebelum praktikum selesai masing-masing praktikan meminta pengesahan data praktikum yang telah diperoleh pada asisten/dosen.
6. Praktikan yang tidak mengikuti acara praktikum lebih dari 1x (satu kali) dari jadwal yang telah ditetapkan tanpa alasan yang benar maka dinyatakan **GAGAL**
7. Laporan resmi dibuat individual dengan cover dan format yang telah ditentukan dan diserahkan 1 minggu berikutnya sebagai syarat untuk praktikum minggu yang bersangkutan.
8. Pembobotan Nilai
   a. Kehadiran : 5%
   b. Pretes : 20%
   c. Kerja : 25%
   d. Laporan : 10%
   e. Postes/ Ujian Akhir Praktikum : 40%
9. Demi kelancaran dan keamanan praktikum, hal-hal berikut perlu diperhatikan
   a. Praktikan harap memakai jas praktikum, bekerja dengan tenang dan tidak diperbolehkan bermain HP diluar kepentingan praktikum
   b. Gunakan kaca mata laboratorium, sarung tangan, masker bilamana diperlukan
   c. Pipet yang digunakan untuk mengambil larutan pereaksi harus bersih, dicuci dengan air untuk menghindari kontaminasi reagen ataupun zat yang akan ditetapkan
   d. Jangan megambil pereaksi yang berlebihan dan dilarang mengembalikan kelebihan pereaksi kebotol semula
   e. Hati-hati bila mengambil asam-asam pekat dan bahan-bahan yang mengiritasi.
   f. Pada waktu memanaskan cairan di dalam tabung reaksi, mulut tabung jangan diarahkan kepada sesama praktikan
   g. Hati-hati bila bekerja menggunakan eter, jauhkan dari api.
   h. Lampu spiritus hanya dinyalakan bila diperlukan saja.
   i. Kembalikan alat-alat yang telah digunakan dalam keadaan bersih ketempat almari penyimpanan semula

universitas peradaban

PRAKTIKUM I. PEMBUATAN LARUTAN INDUK BAKU DAN **LARUTAN BAKU KERJA**
PADA PENETAPAN KADAR SULFADIASIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Cara Kerja

1. Siapkan **Larutan Induk Baku (LIB)** Sulfadiasin **1g/L** dalam NaOH 0,5 N.
   a. Timbang seksama 100 mg sulfadiasin, lalu masukkan ke dalam labu takar 100 mL.
   b. Larutkan dalam NaOH 0,5 N hingga tanda tera.
   (Larutan ini disebut Larutan Induk Baku (LIB) yang mengandung Sulfadiasin 1g/L atau 1 mg/mL).

2. Siapkan 2 buah **Larutan Baku Kerja (LBK)** Sulfadiasin masing-masing dengan konsentrasi akhir 2 mg/L untuk penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dan *operating time*.
   a. Ambil LIB sebanyak 200 μL, lalu masukkan ke dalam labu takar 100 mL,
   b. Tambah 5,0 mL HCl 0,5 N dan 5,0 mL larutan Natrium Nitrit ($NaNO_2$) 0,1 %b/v.
   c. Biarkan larutan tersebut beberapa saat (± 3 menit) hingga reaksi diazotasi berjalan sempurna.
   d. Kelebihan asam nitrit dihilangkan dengan penambahan 5 mL pereaksi sulfamat 0,5 %b/v (hilangnya kelebihan asam nitrit) ditandai dengan tidak lagi timbul gelembung gas).
   e. Selanjutnya tambahkan 5,0 mL pereaksi pengkopling N-(1-naftil) etilen diamin dihidroklorida (NED.HCl) 0,1 %b/v,
   f. Lalu encerkan dengan akuades hingga tanda tera.

PRAKTIKUM II. PENENTUAN *OPERATING TIME* DAN λ MAKSIMUM PADA PENETAPAN KADAR SULFADIASIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Cara Kerja

1. Penentuan *operating time (OT)*

   Lakukan pengukuran absorbansi terhadap larutan hasil reaksi tersebut pada λ literatur 545 nm pada menit ke: 1, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 sesudah reaksi kopling, dan ukur terhadap blanko. Hasil pembacaan absorbansi ini akan memberikan gambaran *operating time*, yaitu waktu yang memiliki nilai absorbansi relatif konstan (tetap).

   Rentang waktu boleh dipersempit sesuai kebutuhan (misalnya diukur tiap menit) untuk memperoleh data yang lebih baik.

2. Penentuan λ_{maks}

   Lakukan scanning panjang gelombang terhadap larutan hasil reaksi tersebut terhadap blanko pada rentang λ 480 – 570 nm selama waktu OT-nya.

   Bila spektrofotometer tidak memungkinkan dilakukannya *scanning*, lakukan pembacaan pada λ 490, 495, 500, 505, 510, 515, 520, 525, 530, 535, 540, 545, 550, 555, 560, 565, dan 570 nm secara manual. Hasil pembacaan ini akan memberikan nilai λ_{maks}.

   (Larutan Blanko mengandung komponen yang sama dengan LB, namun tanpa Sulfadiasin).

universitas peradaban

PRAKTIKUM III. PEMBUATAN KURVA BAKU
PADA PENETAPAN KADAR SULFADIASIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Cara Kerja

1. Siapkan seri kadar LBK Sulfadiasin dengan konsentrasi akhir 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; dan 3,5 (atau μg/mL) untuk pembuatan kurva kalibrasi. Cara penyiapannya sama seperti pada Praktikum I poin 2, dimana pengambilan volume LI berturut-turut adalah: 100, 150, 200, 250, 300, dan 350 μL dan masing- masing dimasukkan ke labu takar dengan volume akhir 100 mL.
2. Masing-masing larutan LBK tersebut dibaca absorbansinya pada λ_{maks} dan selama/ pada daerah OT yang diperoleh.
3. Berdasarkan data tersebut, buatlah kurva kalibrasi menggunakan analisis regresi linier. Tentukan persamaan kurva kalibrasinya (y = bx + a), beserta parameter-parameter statistiknya seperti r, SEP, F, S_a, dan S_b. Tentukan pula nilai LOD (*Limit of Detection*)-nya.
   (*Analisis regresi dapat dilakukan menggunakan program Microsoft Excel atau QuantAnal.)*

universitas peradaban

PRAKTIKUM IV. PENETAPAN KADAR SULFADIASIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Cara Kerja

1. Penetapan kadar sampel.
   a. Penyiapan larutan sampel.
      Sampel berasal dari tablet sulfadiasin yang telah ditetapkan uji keseragaman bobotnya. Timbang seksama serbuk sampel sebanyak 100 mg, larutkan dalam NaOH 0,5 N dalam labu takar hingga 100 mL. Larutan ini disebut **Larutan Stok Sampel (LSS)**. Lakukan replikasi hingga diperoleh data 3 x penimbangan.
   b. Pembacaan absorbansi larutan sampel.
      Ambil sejumlah volume LSS, perlakukan sama seperti Praktikum I poin 2 hingga diperoleh **Larutan Sampel Kerja (LSK)**. Ukur absorbansinya, usahakan agar nilai absorbansi yang diperoleh berada dalam rentang absorbansi kurva kalibrasi. *Perhatikan faktor pengencerannya (FP).*
2. Perhitungan kadar sampel.
   Intrapolasikan nilai absorbansi LKS ke persamaan kurva kalibrasi (atau dengan mensubtitusikan nilai absorbansi LSK ke dalam persamaan kurva kalibrasi y = bx + a). Dengan mempertimbangkan FP, dan bobot sampel, hitunglah kadar sulfadiasin dalam sampel tablet.

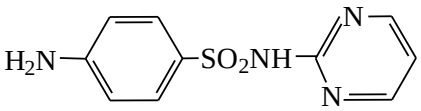
universitas peradaban

PRAKTIKUM V. PENETAPAN KADAR SULFADIAZIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV

A. TUJUAN INSTRUKSIONAL

1. **Tujuan Instruksional Umum**
   Setelah melakukan praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu melakukan penetapan kadar obat dengan metode spektrofotometri UV
2. **Tujuan Instruksional Khusus**
   Setelah melakukan praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu melakukan dan memahami cara penetapan kadar obat dengan metode spektrofotometri UV

B. URAIAN



Sulfadiazin, BM 250,28

Semua sulfonamida mempunyai spektra yang hampir sama pada daerah ultraviolet karena mempunyai gugus kromofor sama, *p*-anilin sulfonat. Oleh karena itu, metode spek-trofotometri ultraviolet tidak dapat digunakan pada campuran sulfonamid atau menetapkan sulfonamida yang sebagian sudah terurai. Langkah awal yang perlu dilakukan adalah pengujian dengan kromatografi lapis tipis apakah hanya menghasilkan satu bercak atau tidak. Jika hanya terdapat satu bercak maka dapat dilakukan analisis dengan metode spektrofotometri ultraviolet. Sulfadiazin dalam etanol menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 270 nm dan mempunyai nilai $E_{1cm}^{1\%}$ sebesar 844.

C. CARA KERJA

1. **Pembuatan larutan induk (Li)**:
   a. Timbang seksama 100 mg sulfadiasin
   b. Timbang seksama lebih kurang 100 mg sulfadiasin, masukkan ke dalam labu takar 100 mL. Tambahkan kurang lebih 50 mL etanol (p.a.), gojog hingga larut. Kemudian tambahkan etanol (p.a) hingga tanda tera. Larutan ini (=Li) memiliki konsentrasi 1mg/mL =1ug/1uL. Larutkan dalam 50 mL etanol, dalam labu takar 100 mL dan ditambah etanol sampai batas tanda. Larutan tersebut memiliki kadar 1mg/mL = 1ug/uL.

2. **Pembuatan larutan kerja (Lk):**
   Pipet 100 uL larutan induk (Li), masukan ke dalam labu takar 10 mL dan tambahkan etanol sampai tanda.
   Larutan tersebut memiliki kadar 100 ug/10 mL = 10 ug/mL.

3. **Menentukan panjang gelombang maksimum**
   a. Ambil kuvet dan peganglah pada bagian yang buram.
   b. Bersihkan kuvet pada bagian yang bening dengan kertas tissue.
   c. Masukkan larutan kerja (Lk) kedalam kuvet dengan pipet tetes kurang lebih ¾ volume kuvet dan bersihkan bagian luar kuvet dengan kertas tissue.
   d. Ukur absorbansi (A) pada panjang gelombang 200 sampai dengan 400 nm dengan blanko etanol.
   (Satu kuvet berisi larutan uji, sedangkan satu kuvet lainnya (kuvet blangko) berisi etanol sebagai pelarut senyawa uji. Panjang gelombang yang menunjukkan absorban tertinggi disebut λ maks).

4. **Pembuatan kurva baku**:
   a. Ambil larutan induk. Siapkan 5 labu takar 10 mL.
   b. Pipet 20, 40,60,80 dan 100 µL larutan induk (Li) dan masing-masing masukkan kedalam labu takar 10 ml. Tambahkan etanol sampai tanda.
   c. Ukur absorbansi masing-masing larutan butir 2 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya. (Penentuan panjang gelombang maks)

No	Volume larutan induk	Kadar	A
1.	20 µL	.....mg/mL	.....
2	40 µL	.....mg/mL	.....
3	60 µL	.....mg/mL	.....
4	80 µL	.....mg/mL	.....
5	100 µL	.....mg/mL	.....

   d. Tentukan persamaan garis regresi linier sehingga diperoleh persamaan y=bx+a.
   e. Tentukan nilai koefisien korelasinya.
   f. Untuk selanjutnya, persamaan garis regresi linier tersebut digunakan untuk perhitungan kadar sulfadiazin dalam sampel.

5. **Cara penetapan kadar sulfadiazin**
   a. Timbang seksama 100 mg serbuk sampel yang mengandung sulfadiasin (dengan neraca analitik dan harus lebih besar 100 mg)
   b. Masukkan kedalam dalam labu takar 100 mL dan ditambah etanol sampai batas tanda. Saring larutan, filtrat yang diperolah ditampung dalam beker gelas.
   c. Sebanyak 200 µL larutan butir 2 diambil dan dimasukkan kedalam labu takar 10mL lalu ditambah etanol sampai batas tanda.
   d. Selanjutnya larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Catat nilai absorban yang diperoleh.
   e. Hitung kadar sulfadiazin dengan menggunakan persamaan kurva baku diatas. Pada percobaan ini terdapat faktor pengenceran 50 kali dari larutan awal. Kadar yang diperoleh persamaan regresi harus dikalikan faktor pengenceran.

Perhitungan kadar sulfadiazin juga dapat dilakukan dengan mengukur absorbasi sampel (As) dan absorbansi baku (Ab) dari salah satu data yang diperoleh pada waktu membuat kurva baku. Pilihlah nilai Ab yang paling mendekati As. Untuk perhitungan kadar sampel digunakan rumus berikut ini:

$$\textbf{\textit{Kadar sulfadiazin}} = \frac{As}{Ab} \textbf{\textit{x konsentrasi baku x f.p}}$$

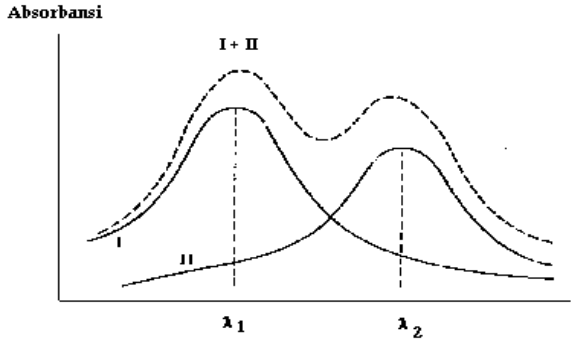
f.p = faktor pengenceran.

universitas peradaban

PRAKTIKUM VI. PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DAN KAFEIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI

A. Prinsip Dasar

Absorban yang terbaca pada suatu panjang gelombang adalah jumlah absorban dari senyawa-senyawa yang menyerap pada panjang gelombang tersebut. Prinsip ini dikenal dengan *additive nature of* Lambert-Beer.



B. Teori

Menurut hukum Lambert-Beer absorban berbanding lurus dengan absorptivitas (*a*), tebal kuvet (*b*) dan konsentrasi (*c*)

$A = a\ b\ c$ .....(1)

Jadi absorban senyawa 1 adalah $A_1 = a_1\ b_1\ c_1/k$, sedang absorban senyawa 2 adalah $A_2 = a_2\ b_2\ c_2$

Pengukuran campuran 2 senyawa dilakukan pada panjang gelombang 1(λ_1) dan panjang gelombang 2 (λ_2), oleh sebab itu absorbans pada kedua panjang gelombang tersebut merupakan jumlah dari absorbans senyawa 1 dan senyawa 2 yang dapat dituliskan sbb :

$A(\lambda_1) = (a_1\ b_1\ c_1)$ pada $\lambda_1 + (a_2\ b_2\ c_2)$ pada λ_1 .....(2)

$A(\lambda_2) = (a_1\ b_1\ c_1)$ pada $\lambda_2 + (a_2\ b_2\ c_2)$ pada λ_2 .....(3)

Jika *b* adalah tebal kuvet yang digunakan untuk pengukuran adalah sama, maka :

$A(\lambda_1) = (a_1\ c_1)$ pada $\lambda_1 + (a_2\ c_2)$ pada λ_1.....(4)
$A(\lambda_2) = (a_1\ c_1)$ pada $\lambda_2 + (a_2\ c_2)$ pada λ_2 .....(5)

dimana :

c_1 = konsentrasi senyawa 1,
c_2 = konsentrasi senyawa 2,
a_1 pada λ_1 = absorptivitas senyawa 1 pada panjang gelombang 1,

a_1 pada λ_2 = absorptivitas senyawa 1 pada panjang gelombang 2,
a_2 pada λ_1 = absorptivitas senyawa 2 pada panjang gelombang 1,
a_2 pada λ_2 = absorptivitas senyawa 2 pada panjang gelombang 2,
$A(\lambda_1)$ = absorbans senyawa canpuran pada panjang gelombang 1 (λ_1)
$A(\lambda_2)$ = absorbans senyawa canpuran pada panjang gelombang 2 (λ_2)

Nilai *a* (absorptivitas) dapat juga diganti dengan absorptivitas molar (epsilon =ε) jika konsentrasi dalam molar (M)

Kadar senyawa 1 dan 2 dapat dihitung dari persamaan (4) dan (5)

a. Contoh perhitungan

Diketahui : Absorbans obat A dengan kadar 0,0001 M dalam kuvet 1 cm pada λ 420 nm = 0,982 sedang pada λ 505 nm = 0,216. Absorbans senyawa B dengan kadar 0,0002 M dalam kuvet 1 cm pada λ 420 nm = 0,362 sedang pada λ 505 nm = 1,262.

Absorban campuran kedua obat dalam kuvet 1 cm pada λ 420 nm = 0,820 dan pada λ 505 nm = 0,908.

Ditanyakan : Berapa kadar masing-masing obat A dan obat B?

Jawab :

Pertama kali harus dicari absorptivitas molar (ε) obat A dan obat B pada panjang gelombang 420 nm dan 505 nm dengan rumus A= ε b c, sehingga diperoleh:

$$\varepsilon_A(420\text{ nm}) = \frac{0{,}982}{0{,}0001\text{ M x 1 cm}} = 9820\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

Dengan cara yang sama dapat didapatkan harga ε_A (505 nm) = 2160 M^{-1} cm^{-1} ; ε_B (420 nm) = 1310 M^{-1} cm^{-1} dan ε_B (505 nm) = 6310 M^{-1} cm^{-1}

Diketahui pula bahwa A_C (*Absorban campuran*) 420 nm = 0,820 dan Ac 505 nm = 0,908, dan dengan memasukan nilai ini kedalam persamaan (4) dan (5) akan diperoleh :

$0{,}820 = 9820\ C_A + 1310\ C_B$ .....(6)
$0{,}908 = 2160\ C_A + 6310\ C_B$ .....(7)

Dari persamaan 6 didapatkan harga $C_A = 0{,}820 - 1310C_B / 9820$, dan dengan mensubstitusikan harga C_A ke persamaan (7), maka akan diperoleh harga C_B (konsentrasi obat B) = 0,0001208 M atau 0,1208 x 10^{-4} M.

Konsentrasi obat A dapat dihitung dengan memasukkan nilai C_B ke dalam persamaan (6) atau (7). Diperoleh kadar obat A = 0,0000674 M atau 0,674 x 10^{-5} M

C. Penetapan kadar parasetamol dan kafein secara bersama-sama dalam campuran serbuk.

1. Penetapan panjang gelombang maksimum parasetamol dan kafein
   Buat larutan baku parasetamol dan kafein, masing-masing dengan NaOH atau etanol. Buat kadar kurang lebih 10 ppm dalam etanol. Rekam spektra masing-masing larutan. Tetapkan panjang gelombang maksimum parasetamol dan kafein
2. Penetapan absortivitas/absorptivitas molar parasetamol dan kafein pada panjang gelombang maksimum parasetamol dan panjang gelombang maksimum kafein.
   Larutan baku parasetamol dan kafein 10 ppm diukur absorbannya pada 2 panjang gelombang maksimum parasetamol dan kafein sebagaimana dalam butir 1. Dari rumus A = $a\ b\ c$ akan diperoleh harga absorptifitas parasetamol (a_P) dan absorptifitas kafein (a_K) pada masing-masing panjang gelombang maksimum parasetamol dan kafein
3. Larutkan lebih kurang 100 mg serbuk sampel yang telah ditimbang saksama dalam labu takar 25 mL dengan larutan NaOH 0,1N atau dalam etanol.
4. Ukur absorbans larutan sampel pada panjang gelombang maksimum parasetamol dan kafein menggunakan blangko pelarut yang digunakan. Bila perlu lakukan pengenceran sehingga absorban yang terbaca mempunyai nilai yang memenuhi persyaratan.
5. Hitung kadar parasetamol dan kafein dalam larutan sampel dan hitung pula kadar parasetamol dan kafein dalam serbuk sampel.

universitas peradaban

PRAKTIKUM VII. PENETAPAN pKaVITAMIN B_6

A. URAIAN

Penentuan konstante keseimbangan membutuhkan suatu perkiraan konsentrasi-konsentrasi reaktan pada keadaan setimbang dengan analisis langsung atau dengan analisis yang digabungkan dengan pengetahuan tentang stoikiometri reaksi. Jika spektra absorbsi spesies-spesies yang terlibat dalam reaksi cukup berbeda, maka penentuan konstante kesetimbangan dengan spektrofotometri dapat dilakukan. Sebagaimana pada analisis kuantitatif secara spektrofotometri, maka teknik penentuan konstante kesetimbangan juga mendasarkan pada hukum Beer. Penentuan konstante kesetimbangan akan digambarkan dengan kesetimbangan asam basa, meskipun demikian prinsip-prinsipnya dapat digunakan untuk kesetimbangan apapun. Perhatikan suatu disosiasi asam lemah (HA) dalam larutan air:

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

Nilai konstante asam sesungguhnya (*apparent*) adalah:

$$K_a^{'} = a_{H^+} \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Bentuk logaritma persamaan ini adalah:

$$pK_a^{'} = pH - \log \frac{c_{A^-}}{c_{HA}}$$

yang mana C_{A^-} dan C_{HA} dapat ditulis dengan $[A^-]$ dan [HA] supaya konsisten dengan penulisan sebelumnya.

pH larutan dapat diukur secara potensiometri dan rasio C_{A^-}/ C_{HA} dapat ditentukan secara spektrofotometri jika spektra absorbsi A^- dan HA berbeda. Karena sensitivitas spektra analisis yang besar, maka digunakan asam dan konjugat basa dengan konsentrasi yang sangat rendah. Nilai pH dikontrol dengan penambahan bufer.

Perkirakan bahwa A^- dan HA mempunyai spektra yang berbeda. Panjang gelombang analisis harus dipilih pada suatu nilai yang mana absorbtivitas molar keduanya sangat berbeda. Harus diasumsikan bahwa hukum Beer's dipenuhi untuk kedua spesies, sehingga:

$A_{HA} = a_{HA} b c_{HA}$

$A_{A^-} = a_{A^-} b c_{A^-}$ ..... (1)

yang mana kedua persamaan ini mengacu pada panjang gelombang yang sama. A_{HA} merupakan absorbansi HA dalam larutan, dan A_{A^-} merupakan absorbansi A^- dalam larutan. Absorbansi yang teramati dari larutan apapun yang mengandung HAdan A^- adalah:

$A_{obs} = A_{HA} + A_{A^-}$ ..... (2)

$A_{obs} = b(a_{HA} c_{HA} + a_{A^-} c_{A^-})$ ..... (3)

Karenanya memungkinkan untuk mendefinisikan absorptivitas sesungguhnya (absorptivitas "*apparent*", a_{obs}) campuran spesies sesuai dengan:

$$A_{obs} = a_{obs}bc \quad \text{.....} (4)$$

Yang mana c merupakan konsentrasi formal suatu asam, sehingga:

$$c = c_{HA} + c_{A-} \quad \text{.....} (5)$$

karena absorbansi yang diberikan oleh persamaan (3) identik dengan absorban pada persamaan (4) maka keduanya dapat dianggap setara dan penggabungannya dengan persamaan (5) akan memberikan:

$$a_{obs}(c_{HA} + c_{A-}) = a_{HA}c_{HA} + a_{A-}c_{A-} \quad \text{.....} (6)$$

persamaan (6) dapat disusun ulang menjadi:

$$\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{a_{obs} - a_{obs}}{a_{A^-} - a_{obs}} \quad \text{.....} (7)$$

untuk kasus yang mana $a_{A^-} > a_{HA}$.

Jika $a_{HA} > a_{A^-}$ maka bentuk ekivalennya adalah:

$$\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{a_{HA} - a_{obs}}{a_{obs} - a_{A^-}} \quad \text{.....} (8)$$

Dengan menggabungkan persamaan (7) atau (8) dengan persamaan (1), maka akan diperoleh persamaan:

$$pK_a = pH - log\frac{a_{obs} - a_{HA}}{a_A - a_{obs}} \quad \text{.....} (9)$$

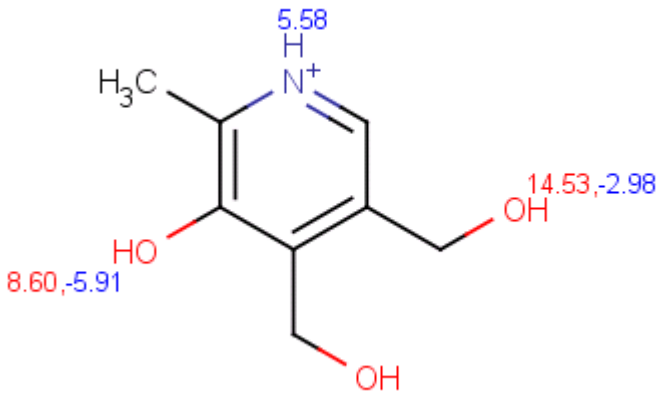
Persamaan (9) memberikan dasar untuk penentuan konstanta disosiasi dengan spektrofotometri.

Absorptivitas bentuk-bentuk konjugat asam dan basa diukur dalam larutan dengan keadaan yang sangat basa atau keadaan sangat asam (paling tidak 2 unit pH dari nilai pKa-nya). Senyawa-senyawa ini (konjugat asam dan basa) selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan bufer yang sudah diketahui pH-nya (kurang lebih 1 unit pH di sekitar nilai pKa-nya) dan nilai absorptivitas *apparent* campuran pada keadaan setimbang dapat diukur. Jika konsentrasi solute (c) dibuat konstan dalam semua pengukuran maka absorbansi A_{HA}; A_{A^-} dan A_{obs} dapat disubsitusikan untuk nilai a_{HA}; a_{A^-} dan a_{obs} dalam persamaan (9).

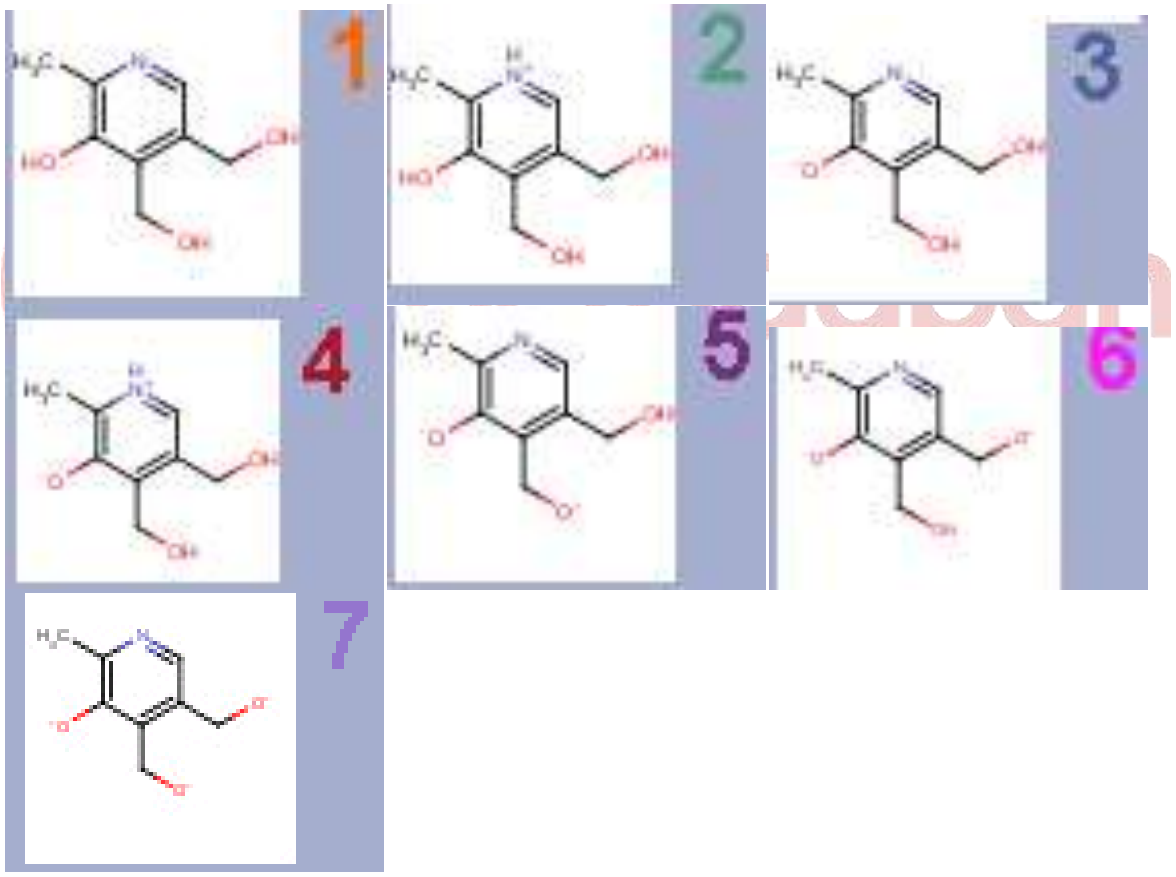
B. Penentuan konstante disosiasi vitamin B_6 secara spektrofotometri

Piridoksin stabil dalam larutan asam akan tetapi terdekomposisi dengan adanya sinar dalam larutan netral atau basa, karenanya merupakan suatu praktek yang baik untuk melindungi larutan-larutan dari sinar yang tidak diperlukan dan untuk menyempurnakan pengukuran spektra secara cepat setelah larutan-larutan disiapkan.

Vitamin B6 mempunyai 3 pKa sebagai berikut :



Secara komputasional, bentuk molekul atau ion vitamin B6 tergantung pada pH seperti pada tabel berikut :



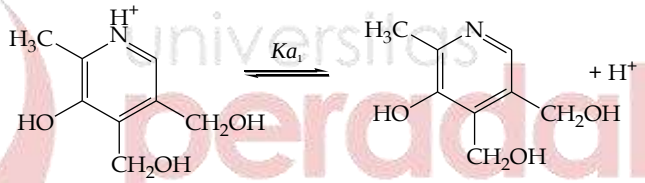
Keterangan :

pH	%-1	%-2	%-3	%-4	%-5	%-6	%-7
0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.20	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.40	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.60	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

0.80	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.20	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.40	0.01	99.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.60	0.01	99.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.80	0.02	99.98	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.00	0.03	99.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.20	0.04	99.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.40	0.07	99.93	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.60	0.10	99.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.80	0.16	99.84	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.00	0.26	99.74	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.20	0.41	99.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.40	0.65	99.35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.60	1.02	98.98	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.80	1.61	98.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4.00	2.53	97.47	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
4.20	3.95	96.04	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
4.40	6.12	93.87	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
4.60	9.36	90.62	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
4.80	14.06	85.90	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
5.00	20.58	79.36	0.01	0.05	0.00	0.00	0.00
5.20	29.11	70.81	0.01	0.07	0.00	0.00	0.00
5.40	39.40	60.48	0.03	0.10	0.00	0.00	0.00
5.60	50.71	49.11	0.05	0.12	0.00	0.00	0.00
5.80	61.92	37.83	0.10	0.15	0.00	0.00	0.00
6.00	71.92	27.73	0.18	0.18	0.00	0.00	0.00
6.20	80.02	19.46	0.32	0.20	0.00	0.00	0.00
6.40	86.04	13.21	0.55	0.21	0.00	0.00	0.00
6.60	90.14	8.73	0.91	0.22	0.00	0.00	0.00
6.80	92.63	5.66	1.48	0.23	0.00	0.00	0.00
7.00	93.78	3.62	2.38	0.23	0.00	0.00	0.00
7.20	93.73	2.28	3.76	0.23	0.00	0.00	0.00
7.40	92.47	1.42	5.88	0.23	0.00	0.00	0.00
7.60	89.85	0.87	9.06	0.22	0.00	0.00	0.00
7.80	85.59	0.52	13.68	0.21	0.00	0.00	0.00
8.00	79.39	0.31	20.11	0.19	0.00	0.00	0.00
8.20	71.11	0.17	28.55	0.17	0.00	0.00	0.00
8.40	60.97	0.09	38.79	0.15	0.00	0.00	0.00
8.60	49.71	0.05	50.12	0.12	0.00	0.00	0.00
8.80	38.44	0.02	61.44	0.09	0.00	0.00	0.00
9.00	28.28	0.01	71.64	0.07	0.00	0.00	0.00
9.20	19.93	0.00	80.01	0.05	0.00	0.00	0.00

universitas peradaban

9.40	13.58	0.00	86.39	0.03	0.00	0.00	0.00
9.60	9.02	0.00	90.96	0.02	0.00	0.00	0.00
9.80	5.89	0.00	94.10	0.01	0.00	0.00	0.00
10.00	3.80	0.00	96.19	0.01	0.00	0.00	0.00
10.20	2.43	0.00	97.56	0.01	0.00	0.00	0.00
10.40	1.55	0.00	98.44	0.00	0.00	0.00	0.00
10.60	0.98	0.00	99.00	0.00	0.01	0.01	0.00
10.80	0.62	0.00	99.36	0.00	0.01	0.01	0.00
11.00	0.39	0.00	99.58	0.00	0.01	0.01	0.00
11.20	0.25	0.00	99.70	0.00	0.02	0.02	0.00
11.40	0.16	0.00	99.77	0.00	0.04	0.04	0.00
11.60	0.10	0.00	99.78	0.00	0.06	0.06	0.00
11.80	0.06	0.00	99.75	0.00	0.09	0.09	0.00
12.00	0.04	0.00	99.67	0.00	0.14	0.15	0.00
12.20	0.02	0.00	99.51	0.00	0.23	0.23	0.00
12.40	0.02	0.00	99.25	0.00	0.36	0.37	0.00
12.60	0.01	0.00	98.83	0.00	0.57	0.58	0.00
12.80	0.01	0.00	98.17	0.00	0.90	0.92	0.01



(a) (b)

Spektrum konjugat asam (a) akan diperoleh pada pH 2, sementara spektrum konjugat basa akan diperoleh pada pH 10. Pada pH yang lebih tinggi akan muncul perubahan spektra lebih lanjut yang disebabkan oleh disosiasi proton fenolik.

C. Reagen-reagen yang dibutuhkan:

1. *Larutan induk piridoksin hidroklorida*: ditimbang 25 mg piridoksin hidroklorida dan dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL.
2. *Larutan natrium asetat*: sebanyak 4,1 g natrium asetat anhidrat dilarutkan dalam akuades *sampai* 1 L.
3. *Bufer fosfat pH 7,1*: dibuat dengan melarutkan 2,8 g Na_2HPO_4 dan 1,4 g NaH_2PO_4 dalam akuades *sampai* 1 L.

D. Cara Penentuan Nilai pKa vitamin B_6

1. Penyiapan larutan:
   Disiapkan 5 *larutan* pada pH yang berbeda akan tetapi masing-masing mengandung konsentrasi total piridoksin yang sama sesuai dengan arahan Tabel di bawah ini:

Larutan	Vol Larutan Induk Piridoksin 25 mg % (mL)	Volume HCl 0,1 N (mL)	Vol. Na Asetat 0,05 M (mL)	Vol. Bufer Fosfat pH 7 (mL)	Volume Total (mL)
A	2,5	2,5	0	0	25
B	2,5	1,5	6,25	0	25
C	2,5	1	6,25	0	25
D	2,5	0,5	6,25	0	25
E	2,5	0	0	12,5	25

2. Pemilihan panjang gelombang analitik:
   Lakukan *scanning* spektra UV larutan A (bentuk konjugat asam) dan E (bentuk basa) dalam kuvet 1 cm pada kisaran panjang gelombang 230-375 nm. Lakukan *superimposed* terhadap 2 spektra dan pilihlah panjang gelombang untuk pengukuran.

3. Penentuan nilai pKa
   Ukurlah absorbansi tiap-tiap larutan pada panjang gelombang terpilih. Ukur pH larutan B, C, dan D. Catatlah, bahwa karena konsentrasi total piridoksin adalah sama untuk semua larutan, sehingga absorbansi dapat digunakan sebagai ganti absorptivitas.

   Lakukan analisis hasil secara statistik dan bandingkan nilai pKa dengan nilai-nilai yanganda temukan di literatur.

DAFTAR PUSTAKA

Christian, G.D., 1994, *Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Connors, K.A., 1982, *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, John Wiley & Sons, New York.

Galichet ,L.Y., (Managing Editor), 2005 dan 2011,Clarke's Analysis of Drugs and Poisons,Pharmaceutical Press, London.

Harris, D.C.,1987, *Quantitative Chemical Analysis*, Second Edition, W.H. Freeman and Company, New York.

Jeffery, G.H., Basset, J., Mendham, J., and Denny, R.C., 1989, *Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis*, Fifth Edition, Longman Scientific & Technical, John Wiley & Sons Inc., New York.

Methrom Herisau, 1973, Application Bulletin of Karl Fisher Water Determination, Switzerland.

Pescok, R.L., Shields, L.D., Cairns, T., and McWilliam, I.G., 1976, *Modern Methods of Chemical Analysis*, Second Edition, John Wiley & Sons, New York.

Watson,D.G., 2003, Pharmaceutical Anaysis, A Text-book fo Pharmacy students and Pharmacetical chemists,Churchill Livingstone, Edinburgh.

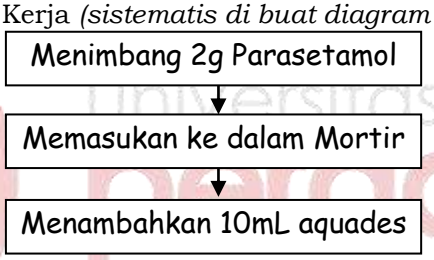
universitas peradaban

LAMPIRAN

1. Format Laporan Sementara
   Mengikuti format laporan resmi namun hanya sampai BAB 2
2. Format Laporan Praktikum Resmi memuat:
   a. COVER *(memuat: judul topik/ praktikum, lambang Universitas Peradaban, nama semester, NIM, kelompok, gelombang dan menuliskan bulan serta tahun di bawah kata Bumiayu)* sesuai pada lampiran.
   b. BAB 1 PENDAHULUAN
      A. Dasar Teori *(dicari dari sumber buku/ jurnal bukan kopas dari laporan praktikum)*
         Salep adalah.....……. (Anief, 2008: 100).
      B. Tujuan

   c. BAB 2 METODE PERCOBAAN
      A. Alat dan Bahan
         1. Alat
            a. Gelas Beker
            b. ....dst
         2. Bahan
            a. Tragakan
            b. Sulfadiasin...dst

      B. Prosedur Kerja *(sistematis di buat diagram alir)*



   d. BAB 3 HASIL, ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN
      A. HASIL
      B. ANALISIS DATA *(analisis deskriptif meliputi: mean, pencilan, SD, CV)*
      C. PEMBAHASAN *(sesuaikan dengan hasil praktikum, analisis data dan dasar teori)*

   e. BAB 4 KESIMPULAN *(sesuaikan dengan tujuan praktikum)*
      Berdasarkan uraian pembahasan.....dapat ditarik simpulan:
      1. .....
      2. .....dst
   f. DAFTAR PUSTAKA *(mengacu pada buku dan/atau jurnal)*
      Day R.A. and Underwood alih bahasa Pudjaatmaka A,J,; 1996, *Analisis Kimia Kuantitatif, Ed. V*, Penerbit Erlangga, Jakarta
      Kanti, Feri. 2017. Penetapan Kadar Parasetamol menggunakan Metode Spektrofotometri UV dan KLT. *Jurnal Kimia Farmasi.* 10(2):200-210
   g. LAMPIRAN
      1. Hasil Praktikum (yang sudah di ACC asisten/ dosen)
      2. Dokumen Foto (jika ada)
      3. Jawaban Soal (jika ada)

3. Cover Laporan Praktikum

LAPORAN PRAKTIKUM FARMASETIKA II

.....

Oleh :

Nama

.....

SMT/ NIM

.....

Kelompok/Gelombang

.....

LABORATORIUM KIMIA FARMASI
JURUSAN FARMASI
UNIVERSITAS PERADABAN
BUMIAYU

.....