

KOMBINASI TEKNIK KROMATOGRAFI KOLOM GRAVITASI-SPEKTROMETER SEDERHANA SEBAGAI PERMODELAN KROMATOGRAFI CAIRAN KERJA TINGGI (KCKT)

Giner Maslebu¹, Suryasatria Trihandaru², Nur Aji Wibowo³

¹⁻³Program Studi Pendidikan Fisika, Fakultas Sains dan Matematika
Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga 50711, Indonesia,
e-mail : suryasatriya_trihandaru@yahoo.com

1. Pendahuluan

Dalam dunia sains, analisis kimia merupakan salah satu aspek penting dalam mempelajari sifat berbagai zat. Salah satu yang paling banyak digunakan untuk analisis kimia adalah teknik kromatografi. Dengan teknik ini, zat dapat dipisahkan menurut sifat spesifiknya yang tampak dari visualisasi warna. Terdapat berbagai macam teknik kromatografi antara lain : Kromatografi Lapisan Tipis (KLT), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), Kromatografi Gas (KG), dan yang paling terkini adalah Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT). Dari berbagai teknik ini, KLT dan KKG paling sering digunakan untuk analisis dasar di laboratorium mengingat biayanya yang tidak terlalu mahal dan teknik preparasi yang lebih sederhana, dibandingkan dengan KG dan KCKT[10].

KKG termasuk jenis teknik Kromatografi yang paling awal dikembangkan dan termasuk kromatografi serapan yang sering disebut kromatografi elusi. Kolom kromatografi dapat berupa pipa gelas yang dilengkapi dengan kran dan gelas penyaring di dalamnya. Ukuran kolom tergantung pada banyaknya zat yang akan

dipisahkan. Untuk menahan penyerap yang diletakkan di dalam kolom dapat digunakan *glass wolle* atau kapas[10]. Aplikasi teknik ini banyak digunakan untuk pemurnian senyawa setelah melewati teknik KLT, misalnya untuk pemurnian karotenoid, klorofil, serta senyawa bioaktif tumbuhan lainnya. Teknik ini tidak dilengkapi dengan spektrometer yang secara otomatis dapat mengukur spektrum serapannya. Biasanya, pengambilan fraksi cairan dilakukan secara manual dan kemudian diukur dengan spektrometer.

Untuk mengatasi keterbatasan analisa spektrum manual pada kromatografi kolom gravitasi, dalam penelitian ini diusulkan pemanfaatan teknik spektroskopi sederhana yang menggunakan *Compact Disc* (CD) dan kamera video. Hal ini dilandasi pemikiran bahwa Teknik spektroskopi sudah banyak dimanfaatkan dalam dunia pendidikan dan industri. Akan tetapi dengan teknik pemakaian yang sangat sensitif dan harganya mahal membuat pengenalan akan alat ini dan mekanisme kerjanya menjadi hal yang tidak umum dipelajari. *Winyard Planetarium & Observatory* merilis paper berjudul *Build a CD Spectrometer* dalam memperingati *International Heliophysical Year 2007* yang

berisi langkah-langkah membuat spektrometer sederhana menggunakan CD[1]. Penelitian lebih lanjut yang telah dilakukan oleh Silas, dkk (2011) berupa rancangan spektrometer sederhana menggunakan CD dan kamera digital serta hasil uji cobanya memberikan hasil yang baik[11].

Paper ini melaporkan rancangan kombinasi teknik Kromatografi dan spektrometer sederhana dengan CD dan *handycam* untuk mendapatkan analisis karakteristik zat hasil proses kromatografi secara *real time*. Artinya bahwa spektrum serapan fraksi dari kromatografi kolom akan terbaca secara otomatis sesuai dengan interval waktu gerakanya dalam kolom serta analoginya dengan permodelan teknik KCKT.

2. Dasar Teori

2.1 Kromatografi



C

Kromatografi pertama kali diperkenalkan oleh Michael Tswett, seorang ahli botani Rusia, pada tahun 1906[8]. Kromatografi berkembang dengan pesat setelah Archer John Porter Martin dan Richard Laurence Millington Synge menemukan prinsip dan teknik dasar kromatografi partisi, sehingga pada tahun 1952 mereka menerima hadiah nobel. Kromatografi berasal dari bahasa Yunani *Kromatos* yang berarti warna dan *Graphos* yang berarti menulis. Kromatografi mencakup berbagai proses yang berdasarkan pada perbedaan distribusi dari penyusun cuplikan antara dua fasa. Satu fasa tinggal pada system dan dinamakan fasa diam. Fasa lainnya, dinamakan fasa gerak, memperkolasi melalui celah-celah fasa diam. Gerakan fasa menyebabkan perbedaan migrasi dari penyusun cuplikan. Metode ini sangat bermanfaat dalam pemisahan suatu bahan alam kompleks seperti klorofil dan karotenoid.

Pada Kromatografi kolom, kolomnya diisi dengan bahan seperti alumina, silika gel atau pati yang dicampur dengan adsorben, dan pastinya diisikan kedalam kolom. Larutan sampel kemudian diisikan kedalam kolom dari atas sehingga sampel diasorpsi oleh adsorben. Kemudian pelarut yang berfungsi sebagai fase gerak ditambahkan tetes demi tetes dari atas kolom. Partisi zat terlarut berlangsung di pelarut yang turun ke bawah dan pelarut yang teradsorpsi oleh adsorben yang berfungsi sebagai fase diam.

Selama perjalanan turun, zat terlarut akan mengalami proses adsorpsi dan partisi berulang-ulang. Laju penurunan berbeda untuk masing-masing zat terlarut dan bergantung pada koefisien partisi masing-masing zat terlarut. Kemudian, zat terlarut akan terpisahkan membentuk beberapa lapisan zona berwarna yang disebut *kromatogram*. Akhirnya, masing-masing lapisan dielusi dengan pelarut yang cocok untuk memberikan spesimen murninya[2].

2.2 Spektroskopi

Spektroskopi merupakan studi mengenai interaksi cahaya dengan atom dan molekul. Bila cahaya dikenai pada suatu senyawa, maka struktur elektronik dari molekul zat akan mempengaruhi serapan cahaya oleh molekul tersebut pada daerah spektrum ultraviolet (UV) dan cahaya tampak. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan energi dari orbital-orbital yang bersangkutan. Keuntungan dari serapan ultraviolet yaitu

gugus-gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks[9]. Kuantitas energi yang diserap oleh suatu senyawa berbanding terbalik dengan panjang gelombang radiasi.

Daerah UV yang paling banyak penggunaannya secara analitik mempunyai panjang gelombang 200 - 380 nm dan disebut sebagai UV pendek[4]. Sedangkan panjang gelombang daerah tampak (visible) berkisar antara 380 - 760 nm[6].

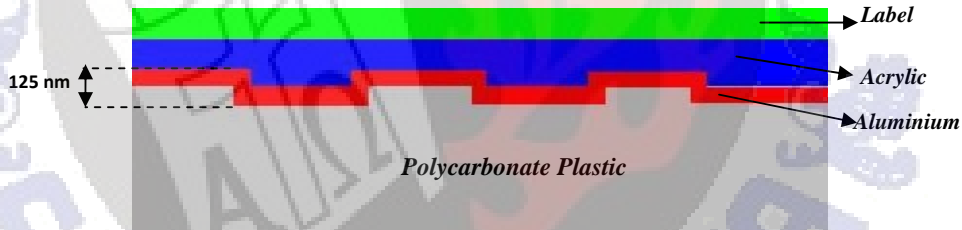


Gambar 3. Sebaran Spektrum cahaya tampak.

2.3 Kisi dari Compact Disc

CD yang selama ini digunakan sebagai media penyimpanan data elektronik dari computer ternyata dapat dikembangkan menjadi spektrometer sederhana. CD dapat berfungsi sebagai kisi yang disebut *blazed*

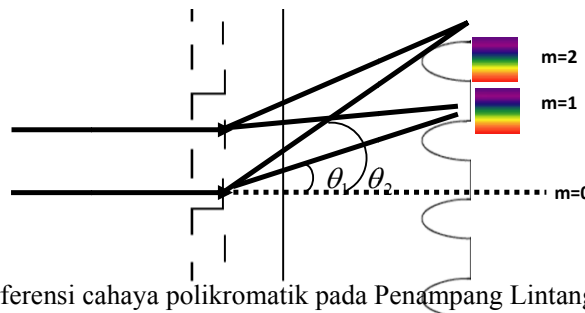
yang dapat menguraikan cahaya sehingga dapat terlihat spektrum cahaya. Apabila CD dikenai suatu cahaya, maka dari CD tersebut akan terbentuk pola gelombang elektromagnetik berupa spektrum warna pelangi. Panjang gelombang yang dihasilkan berkisar antara 400-700 nm[7].



Gambar 4. Struktur Compact Disc

Dari gambar 4, *polycarbonate plastic* adalah lapisan terluar memberi ketebalan pada *disc* dan menjaganya agar tetap datar. Lapisan *acrylic* berfungsi untuk melindungi lapisan aluminium yang bersifat reflektif. *Label* pada CD dicetak diatas lapisan *acrylic*. Ketinggian *track* aluminium adalah 125 nanometer[12].

Untuk mendapatkan pola interferensi cahaya pada layar, maka harus digunakan dua sumber cahaya yang koheren[5]. Jika cahaya polikromatik dilewatkan pada celah sempit yang dalam hal ini dimiliki oleh CD, maka cahaya tersebut akan diuraikan menjadi sinar-sinar monokromatis yang memiliki panjang gelombang berbeda-beda.



Gambar 5. Interferensi cahaya polikromatik pada Penampang Lintang Compact Disc

Jarak antar kisi d untuk sebuah CD tegak mempunyai jumlah track 625 per milimeter. Dengan demikian, jarak antar kisinya adalah 1,6 mikrometer. Jarak ini cukup ideal untuk memisahkan cahaya tampak dan dapat digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan untuk mengkaji struktur dan intensitas garis-garis spektrum. Persamaan untuk analisa celah banyak yaitu[5] :

$$d \sin \theta = m \lambda \quad (2)$$

dengan $m = 0, 1, 2, 3, \dots$ adalah orde difraksi. Bila banyaknya celah per satuan panjang pada CD adalah N , maka tetapan kisi d adalah :

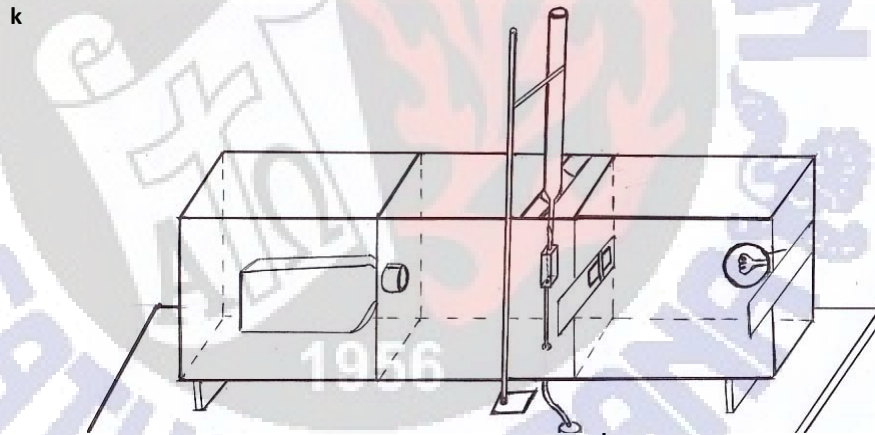
$$d = \frac{1}{N} \quad (3)$$

Misalkan untuk perhitungan warna biru dengan $\lambda = 475 \text{ nm}$, maka sudut untuk warna

biru yang terbentuk untuk orde pertama dan kedua adalah adalah 17.270° dan 36.42° .

3. Rancangan Alat dan Prinsip Kerjanya

Dalam penelitian ini, potongan CD ditempatkan di depan lensa *handycam* merek Sharp VL-WD250 dan posisinya diatur sedemikian rupa sehingga dapat menangkap pola pelangi orde pertama atau kedua akibat dispersi dari lampu. Sinar yang melewati kisi difraksi akan mengenai kuvet yang pada awalnya berisi cairan tertentu sebagai pelarut dalam teknik kromatografi. Dengan menggunakan menu *zoom* dan *cat eye* pada *handycam*, dapat ditampilkan pola spektrum yang baik. Selanjutnya zat yang akan dianalisis dengan teknik kromatografi ini akan terpartisi melalui kolom dan saat masuk ke dalam kuvet akan menampilkan pola spektrum yang berbeda-beda sesuai dengan warna dominannya. Data secara otomatis direkam, disimpan, dan dianalisis dengan pemrograman matlab.



Gambar 6. Rancangan alat

Keterangan Gambar :

a=lampu, b=diafragma, c=kolom, d=kuvet, e=selang, f=penampung zat, g=klem, h=statif, i=compact disc, j=handycam, k=laptop, l=kotak hitam

Analisis data dengan bahasa program matlab R.2008a diperoleh dengan logika berpikir sebagai berikut. Pertama-tama, spektrum warna diatur pada daerah tertentu agar mendapatkan sebaran warna yang baik, kemudian gambar dalam format RGB dikonversikan menjadi skala abu-abu (*grayscale*)[13]. Kemudian diambil rata-rata intensitas pada daerah tegak lurus warna

pelangi. Setelah itu, diperoleh vektor intensitas dalam koordinat nomor pixel gambar. Untuk kalibrasi digunakan LED merah dan hijau yang masing-masing diketahui puncak gelombangnya λ_m dan λ_h . Agar didapatkan koordinat z dalam *nanometer*, maka dilakukan transformasi linier terhadap koordinat gambar z (*pixel*)

dengan koordinat puncak LED merah z_m dan LED hijau z_h sebagai berikut :

$$x = A_z + B \quad (4)$$

$$\text{dengan } A = \frac{\Delta\lambda}{\Delta z} \quad (5)$$

$$B = \frac{(\lambda_m \cdot z_h) - (\lambda_h \cdot z_m)}{\Delta z} \quad (6)$$

$$y(t) = \frac{1}{\lambda_{\max} - \lambda_{\min}} \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} I(t, \lambda) d\lambda \quad (7)$$

dengan λ_{\min} adalah panjang gelombang minimum dan λ_{\max} adalah panjang gelombang maksimum. Zat-zat tertentu akan berhubungan dengan puncak-puncak yang ditunjukkan oleh grafik $y(t)$.

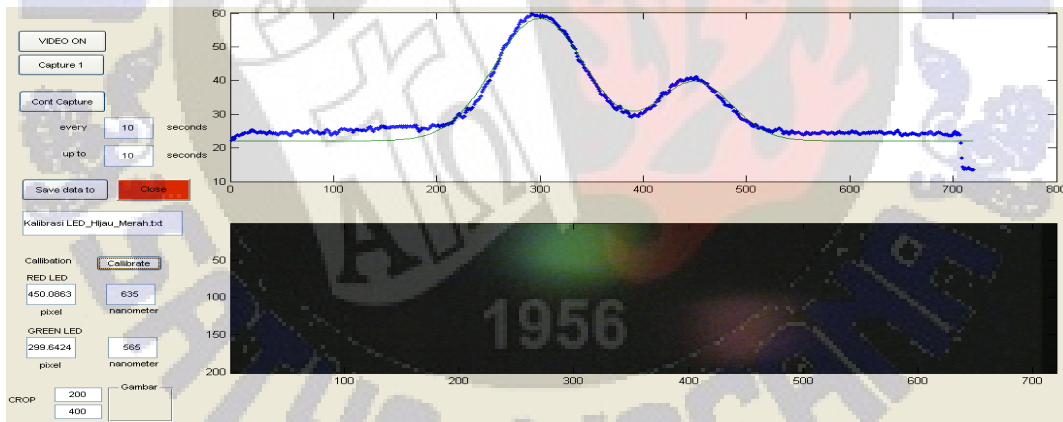
$y(t)$ Zat 1 Zat 2

4. Metode Analisa, Hasil, dan Pembahasan

Data yang direkam adalah pasangan data intensitas sebagai fungsi panjang gelombang dan waktu yaitu $I(t, \lambda)$. Intensitas cahaya mempunyai skala 0 sampai 225. Bilangan 0 berarti gelap dan 225 berarti terang. Terdapat dua tahap analisa, yaitu pertama berupa perataan terhadap panjang gelombang (λ) dan yang kedua adalah untuk analisa komposisi zat. Perataan terhadap panjang gelombang yang diberikan oleh persamaan :

Gambar 7. Ilustrasi puncak spektrum zat

Ketika zat-zat tertentu dapat terlihat dari puncak-puncak grafik $y(t)$, maka kandungan pada puncak tersebut dapat diperlihatkan dengan menggambarkan $I(t, \lambda)$ untuk t yang menunjukkan puncak tadi.

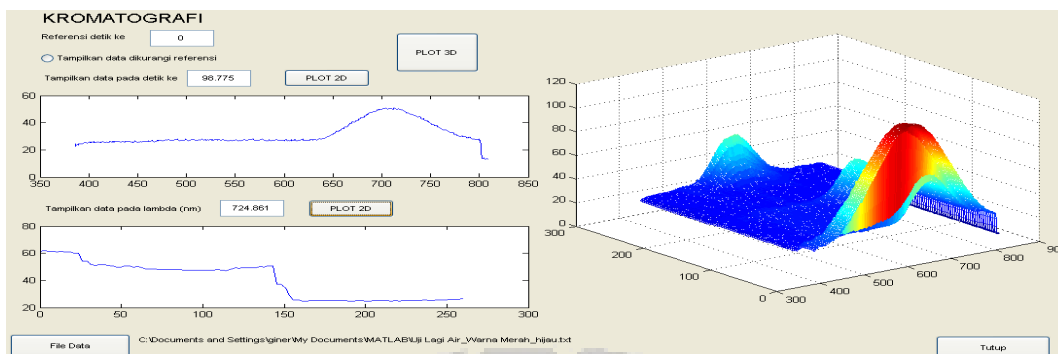


Gambar 8. Tampilan Program Dengan Kalibrasi *Light Emitting Diode* Merah dan Hijau

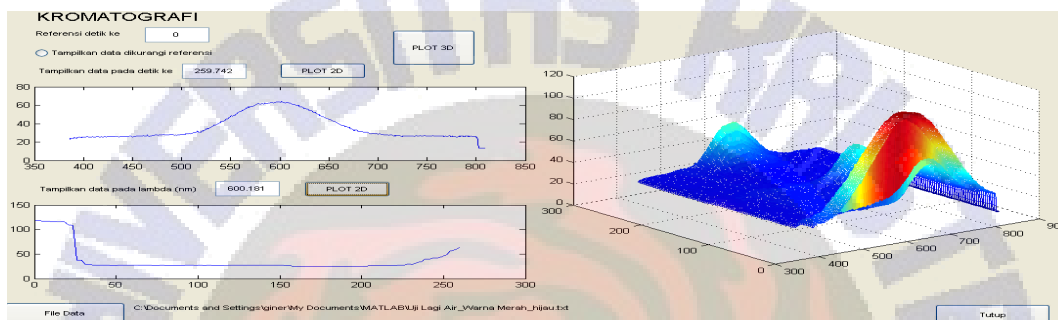
Dari gambar 8 terlihat bahwa dua warna yang berbeda menunjukkan puncak yang berbeda pula. Dimana secara otomatis ditampilkan puncak warna LED Merah adalah pada 450,0863 Pixel dan LED hijau pada 299,6424 pixel. Hal ini mengindikasikan bahwa alat yang dibuat

sudah dapat bekerja dengan baik untuk menampilkan puncak-puncak gelombang dari tiap fraksi zat yang melewati kuvet tiap waktu.

Pengujian dengan pewarna makanan dalam kolom berisi pelarut air menghasilkan pola spektrum seperti gambar dibawah ini.



Gambar 9. Uji coba Dengan Pewarna makanan merah



Gambar 10. Uji coba Dengan Pewarna makanan hijau

Gambar 9 dan 10 menunjukkan bahwa puncak-puncak gelombang dalam bentuk 3 dimensi muncul pada selang waktu tertentu, yang kemudian dapat diplot untuk melihat sebaran spektrumnya dalam 2 dimensi pada cuplikan waktu tertentu. Pada detik ke 98.775 grafik menunjukkan sebaran gelombang pada daerah 650-750 nm yang termasuk di dalam sebaran spektrum warna merah. Pada detik ke 259.742 grafik menunjukkan sebaran gelombang pada daerah 500-650 nm yang mana daerah sebaran spektrum hijau berada pada daerah 490-560 nm.

5. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kombinasi teknik Kromatografi kolom gravitasi dan CD spektrometer dapat digunakan untuk mengidentifikasi spektrum partisi zat berdasarkan visualisasi warna dan berfungsi sebagai analogi Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT) dengan pengolahan data intensitas sebagai fungsi panjang gelombang dan waktu yaitu $I(t, \lambda)$ secara otomatis. Data perubahan spektrum ditampilkan dalam format 3 dimensi sehingga dapat diamati puncak-puncak gelombang pada selang waktu tertentu, yang kemudian dapat dipilih

cuplikan waktu tertentu dengan plot 2 dimensi. Spektrum perwarna makanan merah dalam air terbaca pada daerah 650-750 nm sedangkan warna hijau berada diantara sebaran daerah 490-650 nm.

6. Referensi

- [1] Anonim. 2007. *Build a CD Spectrometer*. Wynyard Planetarium & Observatorium
- [2] Anonim. 2011. *Panduan Kuliah Kimia Instrumentasi & II Semester II 2011-2012*. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana.
- [3] Anonim. *LED Color Chart*. http://www.oksolar.com/led/led_color_chart.htm. (diakses tanggal 2/8/2012).
- [4] Anonim. *Modern Chemical Technique: Ultraviolet/Visible Spectroscopy*. The Royal Society of Chemistry. hal. 93.
- [5] Halliday & Resnick. 2005. *Fundamental of Physics, Vol. 2*. John Wiley & Sons.
- [6] Heri Sugito, Wahyu SB, K. Sofjan Firdausi, Siti Mahmudah. 2005. *Pengukuran Panjang Gelombang Sumber Cahaya Berdasarkan Pola Interferensi Celah Banyak*. Berkala Fisika. Vol.8, No.2, April 2005, hal 37-44 (ISSN : 1410 - 9662)

- [7] Kees A. Schouhamer Immink. *The CD Story*. Institute for Experimental Mathematics, Essen, Germany. Reprinted from the Journal of the AES, 458-465, 1998.
- [8] Raymond P. W. Scott. 2003. *Principles And Practice Of Chromatography*. Book 1 Chrom-Ed Book Series. Library For Science.
- [9] Sastrohamdjojo Hardjono. 1991. *Spektroskopi*. Liberty : Yogyakarta.
- [10] Sastrohamdjojo Hardjono. 2002. *Kromatografi*. Liberty : Yogyakarta.
- [11] Silas Elsavior., Rondonuwu Ferdy S., Trihandaru Suryasatria., 2011. *Rancangan Spektrometer Sederhana Menggunakan Compact Disc (CD) dan kamera Digital serta Hasil Uji Cobanya*. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana.
- [12] Sri Waluyanti, dkk. 2008. *Rancangan Dasar CD*. Direktorat Pembinaan SMK.
- [13] Wijaya Marthin Ch., Prijono Agus. 2007. *Pengolahan Citra Digital Menggunakan Matlab Image Processing Toolbox*. Bandung : Informatika.