



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA V
"Kontribusi Kimia dan Pendidikan Kimia dalam
Pembangunan Bangsa yang Berkarakter"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 6 April 2013



MAKALAH
PENDAMPING

KIMIA ANALITIK
(Kode : D-10)

ISBN : 979363167-8

MODIFIKASI SILIKA GEL DENGAN OKTADESILTRIETOKSISILANA DAN APLIKASINYA SEBAGAI FASE DIAM PADA KOLOM HPLC

Mugianton^{1*}, Roto², Adhitasari Suratman²

¹Program Studi Kimia FMIPA UGM

²Jurusan Kimia, FMIPA UGM, Sekip Utara Yogyakarta

*Keperluan korespondensi, Telp.: 08157950938, e mail: mugianton@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pembuatan fase diam oktadesilsilika (ODS) dengan metode *grafting* dan digunakan sebagai fase diam pada kolom HPLC. Fase diam ini digunakan untuk simulasi pemisahan campuran benzena, toluena, naftalena dan menentukan konsentrasi asam askorbat pada minuman ringan. Penelitian ini diawali dengan aktivasi silika gel menggunakan HCl 20% (v/v). Kalsinasi dilakukan pada 200, 300, 400 dan 450 °C selama 4 jam kemudian dilanjutkan modifikasi fase terikat n-oktadesiltri-etoksisilana (ODTS). Karakterisasi ODS menunjukkan penurunan luas permukaan, volume pori, jejari pori. Serapan kuat inframerah pada 2931,80 cm⁻¹ dan 2854,65 cm⁻¹ yang mengindikasikan berturut-turut vibrasi ulur asimetri dan simetri gugus metilana. Kondisi optimum diperoleh pada kalsinasi 300 °C dengan luas permukaan, volume pori dan jejari pori berturut-turut 281,82 m²/g; 0,42 mL/g dan 19,06 Å. Pemisahan optimal benzena, toluena dan naftalena diperoleh pada kondisi operasional menggunakan fase gerak metanol-akuabides (70:30, v/v) dan laju alir 0,8 mL/menit. Waktu retensi (t_R) dan HETP benzena, toluena, naftalen diperoleh berturut-turut sebesar 1,94; 2,51; 3,77 menit dan 0,38; 0,16; 0,34 mm. Resolusi (R_s) benzena-toluena 1,50 dan toluena-naftalena 1,99. Identifikasi asam askorbat menunjukkan waktu retensi 12,56 menit pada kondisi operasional alat menggunakan fase gerak asetronitril : buffer fosfat 0,025 M pH 4,5 (75:25, v/v) laju alir 0,8 mL/menit. Konsentrasi asam askorbat minuman bervitamin ringan lemon dan orange adalah 6,93 g/L dan 6,87 g/L. Rerata perolehan kembali asam askorbat adalah 94,39%.

Kata Kunci: oktadesilsilika, fase diam, HPLC, pemisahan, waktu retensi

PENDAHULUAN

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) telah berkembang sejak 1960. Kromatografi cair ini sering digunakan sebagai pilihan

utama dalam analisis kimia karena kemampuannya dalam memisahkan campuran berbagai senyawa tanpa derivatisasi [1,2]. Metode ini banyak digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa dalam berbagai

bidang antara lain kimia farmasi, kimia klinik, kimia forensik dan kimia pangan [2].

Keberhasilan teknik pemisahan kromatografi cair selain didukung oleh polaritas berbagai macam komposisi eluen yang digunakan juga selektivitas jenis fase diam pengisi kolom. Kontaminasi pada fase diam dapat menyebabkan terjadinya penurunan atau penambahan waktu retensi analit, gangguan pada *baseline* dan puncak negatif. Interaksi analit dengan kontaminan juga berpengaruh pada mekanisme pemisahan yang dapat menyebabkan pergeseran waktu retensi dan terjadi *tailing* [3,4]. Kontaminasi yang cukup banyak menyebabkan penyumbatan pada kolom dimana terjadi tekanan balik kolom dan tekanan pompa yang tinggi sehingga kinerja kolom menjadi tidak efektif.

Penelitian ini mengkaji tentang modifikasi fase diam dari bahan silika gel. Bahan ini mempunyai luas permukaan spesifik 50 – 430 m²/g, volume pori 0,7 – 1,2 mL/g, diameter pori 50 – 250 Å [5]. Modifikasi dapat dilakukan dengan mereaksikan silika gel dan alkilchlorosilana atau alkilalkoksisilana melalui reaksi silanisasi [2].

Modifikasi silika gel telah dilakukan beberapa peneliti antara lain dengan berbagai jenis fase terikat menggunakan gugus alil C₁-C₁₈ dan gugus alil dengan fase terikat pertama

pada permukaan silika dan diikuti dengan ikatan rangkap pada fase terikat yang kedua [4,5]. Pemisahan dengan fase diam silika termodifikasi menunjukkan faktor kapasitas meningkat dengan semakin panjangnya fase terikat, sedangkan efisiensi pemisahan tidak dipengaruhi oleh panjangnya fase terikat [6,7].

Keberhasilan metode ini tergantung pada jumlah silanol pada permukaan dan jenis fase terikat yang digunakan. Jumlah gugus silanol dapat dikontrol dengan melakukan variasi termal pada silika gel. Variasi termal silika gel pada temperatur 100 – 450 °C yang dilanjutkan modifikasi dengan oktadesiltrimetoksisilana menunjukkan penurunan total karbon 3,5-1,9 % dan jumlah gugus silanol 4,5–3,8 mmol/m², sedangkan variasi waktu termal pada temperatur yang sama dapat menurunkan luas permukaan dan menaikkan diameter pori [8, 9].

Penelitian ini mempelajari pembuatan fase diam ODS dari silika gel yang dimodifikasi dengan metode *grafting*. Modifikasi dilakukan pada kalsinasi 200, 300, 400 dan 450 °C, kemudian dilanjutkan dengan mereaksikan n-oktadesiltrioksisilana. Hasil modifikasi optimum digunakan sebagai fase diam pada kolom HPLC. Kinerja fase diam ODS diujicobakan untuk simulasi pemisahan campuran senyawa sederhana benzena, toluena, naftalena dan juga untuk menentukan

konsentrasi asam askorbat dari sampel minuman ringan.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat:

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas laboratorium, pengayak 400 mesh, hot plate dan *magnetic stirrer* (*Thermolyne Cimarec 2*), satu set alat reflux 100 ml (*Pyrex*), muffle furnace (*Thermoline 6000*), oven (*Memmert*), neraca Ohaus, pH meter (*Hanna HI 221*), spektrofotometer inframerah (*Prestige-21 Shimadzu*), *Gas Sorption Analyzer*, HPLC Shimadzu model LC-10 AT, detektor UV-Vis Shimadzu SPD-10A, kolom HPLC dengan ukuran 300 x 7,8 mm.

Bahan:

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: silika gel 60 (SiO_2), n-okta desiltrioksilana ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$) dan trimetilklorosilana ($\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$) masing-masing memiliki kualitas analitik (p.a) dari (*Nacalai Tesque*). Benzena (C_6H_6), toluena ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$), naftalena (C_{10}H_8), piridin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$), aseton (CH_3COCH_3), asetonitril (CH_3CN), methanol (CH_3OH), asam klorida (HCl) 37 %, natrium dihidrogen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), asam fosfat (H_3PO_4) dan asam askorbat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) masing-masing memiliki kualitas analitik (p.a) dari *Merck*. Sampel minuman ringan A (*lemon*) dan B (*orange*) merek tertentu.

Akuabides dari Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UGM, kertas saring Whatman 42 *ashless circles* 90 mm dan *syringe filter* 26 mm, 0.45 μm .

Cara kerja

Langkah-langkah yang dilakukan meliputi pembuatan fase diam ODS, karakterisasi hasil modifikasi silika gel, simulasi pemisahan senyawa aromatik hidrokarbon dan analisis asam askorbat pada minuman ringan merek tertentu yang diperoleh dari supermarket. Fase diam ODS dibuat dari bahan silika gel yang telah dihaluskan dan diayak 400 mesh. Aktivasi diawali dengan menambahkan larutan asam klorida : akuabides (20:80,v/v) dan dipanaskan pada temperatur 95-100 °C selama 4 jam. Filtrat disaring dan dicuci dengan akuabides sampai pH 7 kemudian dikeringkan pada temperatur 105-110°C selama 12 jam. Kalsinasi dilakukan dengan *muffle furnace* pada temperatur 200-450°C selama 4 jam. Modifikasi dilakukan dengan menambahkan larutan 1,57 mmol ODTS dalam 10 mL toluena pada 2 gram silika gel dan di *refluks* pada temperatur 80 °C selama 12 jam. Setelah dingin disaring dan dicuci berturut-turut dengan toluena, aseton dan akuabides. Dikeringkan pada suhu 105 °C selama 4 jam. Sisa silanol direduksi dengan menambahkan 1,57 mmol trimetilklorosilana dengan prosedur yang sama seperti diatas.

Karakterisasi gugus metilena pada produk silika termodifikasi

dilakukan dengan spektrofotometer inframerah dan luas permukaan, volume total pori, jejari pori dilakukan dengan *Gas Sorption Analyzer*. Kolom yang berisi silika termodifikasi digunakan untuk memisahkan larutan senyawa yang terdiri atas benzena, toluena dan naftalena dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/L. Larutan sebanyak 20 μ L diinjeksikan ke dalam HPLC. Variasi laju alir 0,5 - 1,0 mL/menit dilakukan dengan metanol-akuabides (70:30, v/v). Variasi rasio metanol-akuabides (50:50, v/v) - (80:20, v/v) dilakukan pada laju alir 0,8 mL/menit. Masing-masing kromatogram dideteksi dengan detektor UV pada panjang gelombang 256 nm.

Analisis asam askorbat pada minuman ringan merek tertentu dilakukan dengan membandingkan konsentrasi standar baku asam askorbat. Larutan standar asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 mg/L. Minuman ringan *lemon* (A) dan *orange* (B) merek tertentu diperoleh dari supermarket. Masing-masing diencerkan 1000 kali dengan buffer fosfat 0,025 M pH 4,5. Larutan standar asam askorbat maupun sampel masing-masing disaring dengan syringe filter ukuran 0,45 μ m dan sebanyak 20 μ L disuntikkan ke HPLC. Analisis dilakukan pada kondisi operasional alat menggunakan fase gerak acetonitril -buffer fosfat 0,025 M pH 4,5 (75 : 25, v/v), laju alir 0,8

mL/menit dan temperatur 40 °C. Kromatogram dideteksi menggunakan detektor UV pada $\lambda = 254$ nm. Perolehan kembali ditentukan dengan menambahkan 5 ml minuman ringan *orange* (B) yang telah diencerkan 1000 kali pada 5 ml larutan baku asam askorbat dengan konsentrasi 5-30 mg/L. Masing-masing larutan dianalisis dengan langkah seperti diatas.

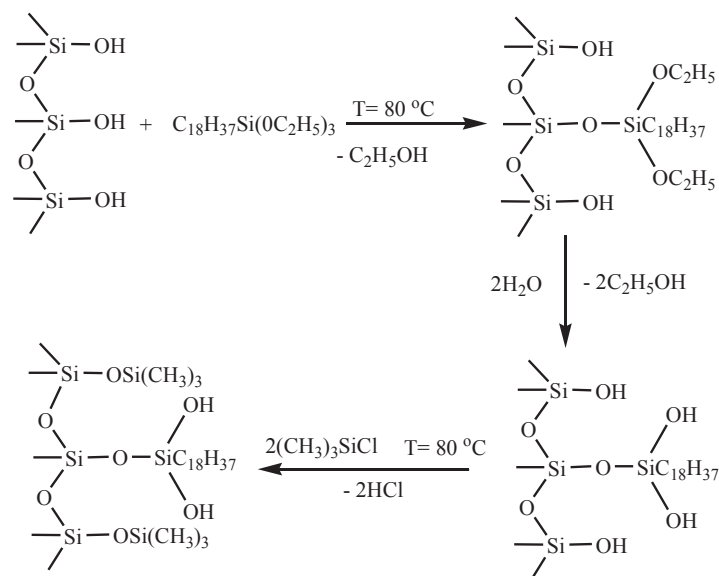
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan fase diam ODS diawali dengan menambahkan pelarut asam klorida-akuabides (20:80, v/v) pada silika gel untuk menghilangkan pengotor-pengotor oksida logam. Beberapa logam diantaranya Na, K, Ca, Al, Ti, Mg, dan Fe [7]. Kalsinasi dilakukan pada 200- 450 °C selama 4 jam dan direaksikan dengan 1,57 mol ODTs dalam 10 mL pelarut toluena dan direfluks selama 12 jam pada temperatur 80 °C. Persamaan reaksi silanisasi gugus silanol pada permukaan silika gel dengan ODTs dapat dituliskan pada Gambar 1. Faktor halangan sterik menyebabkan tidak seluruh gugus silanol pada permukaan silika gel dapat tersubstitusi ODTs sehingga sisa silanol direduksi dengan menambahkan 1,57 mol trimetilklorosilana dengan prosedur yang sama.

Data hasil karakterisasi luas area permukaan, volume total pori dan jejari pori pada silika gel dan silika gel termodifikasi disajikan pada Tabel 1.

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa kalsinasi silika gel dan dilanjutkan dengan modifikasi cenderung menurunkan luas permukaan, volume pori dan jejari pori. Kalsinasi pada 200, 300, 400, 450 °C menyebabkan penurunan luas permukaan berturut-turut 27,26%; 31,92%; 24,53%; 23,77%, volume pori berturut-turut 33,43%; 37,98%; 31,09%; 29,32% , dan jejari pori berturut-turut 21,79%; 22,52%; 16,15%; 16,04%. Penurunan luas permukaan, volume pori dan jejari pori pada silika termodifikasi disebabkan oleh reaksi substitusi gugus silanol terjadi

baik di dalam maupun di luar pori sehingga menyebabkan volume total pori, rerata diameter pori dan luas area permukaan silika gel termodifikasi menurun. Temperatur kalsinasi optimum ditunjukkan dengan penurunan luas permukaan, volume total pori dan jari pori paling tinggi silika termodifikasi pada temperatur 300 °C. Pada temperatur tersebut terjadi pemutusan ikatan hidrogen pada molekul air dari gugus silanol sehingga diperoleh silika gel dengan konsentrasi silanol yang optimal.



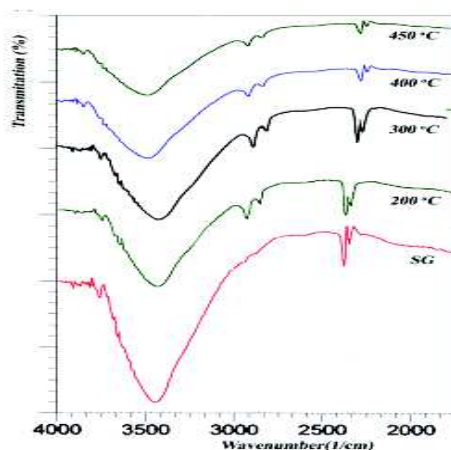
Gambar 1. Reaksi silanisasi silika gel dengan n-oktadesiltriethoxsilana

Tabel 1. Luas permukaan, total volume pori dan jejari pori setelah kalsinasi

Sampel	Luas permukaan spesifik, m ² /g	Volume pori total, mL/g	Jari-jari pori, Å
SG	413,97	0,68	24,59
200 °C	301,12	0,45	19,24
300 °C	281,82	0,42	19,06
400 °C	312,41	0,47	20,62
450 °C	315,56	0,48	20,65

Hasil indentifikasi gugus metilena menggunakan spektrofotometer inframerah (IR) dengan variasi temperatur kalsinasi disajikan Gambar 2. Spektra inframerah dari bahan awal silika gel (SG) pada Gambar 2 tidak menunjukkan adanya vibrasi ulur asimetri dan simetri metilena,

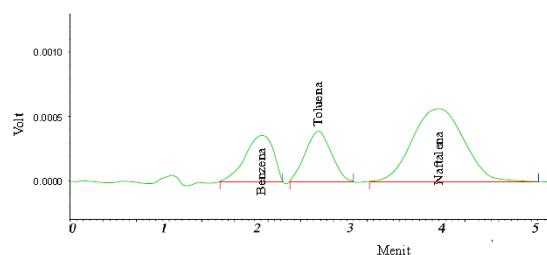
sedangkan silika gel setelah dilakukan modifikasi dengan ODTs dengan variasi kalsinasi 200-450 °C menunjukkan adanya vibrasi ulur asimetri dan simetri metilena yaitu serapan kuat pada 2862,91 cm^{-1} dan 2931,80 cm^{-1} . Hal ini menunjukkan adanya gugus oktadesil (C18) telah terikat pada permukaan silika gel melalui reaksi substitusi gugus silanol pada permukaan silika gel dengan ODTs.



Gambar 2. Spektre inframerah silika gel dan silika gel termodifikasi

Kemampuan kolom yang berisi silika termodifikasi diujicobakan untuk memisahkan campuran senyawa benzena, toluena dan naftalena dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/L. Analisa dilakukan pada kondisi operasional alat HPLC menggunakan fase gerak metanol-akuabides (70:30,v/v) dengan laju alir 0,8 mL/menit, detektor UV panjang gelombang 254 nm dan temperatur 40 °C dihasilkan kromatogram yang disajikan pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan fase diam hasil modifikasi

dapat digunakan untuk memisahkan senyawa benzena, toluena dan naftalena. Waktu retensi dan efisiensi senyawa benzena, toluena, naftalena berturut-turut 1,94; 2,51; 3,77 menit dan 0,38; 0,16; 0,34 mm. Urutan pemisahan masing-masing komponen ini menunjukkan kekuatan interaksi masing-masing komponen dengan fase diam. Senyawa polar akan terelusi lebih cepat yang disebabkan kekuatan interaksi dengan fase diam lebih lemah dari pada senyawa non polar. Urutan tingkat polaritas benzena > toluena > naftalena. Hal ini mengindikasikan fase diam hasil modifikasi ini merupakan jenis kolom fase balik yang mempunyai sifat non polar. Masing-masing senyawa dapat terpisahkan dengan sempurna yang ditunjukkan dengan resolusi benzena-toluena sebesar 1,50 dan toluene - naftalena sebesar 1,99.

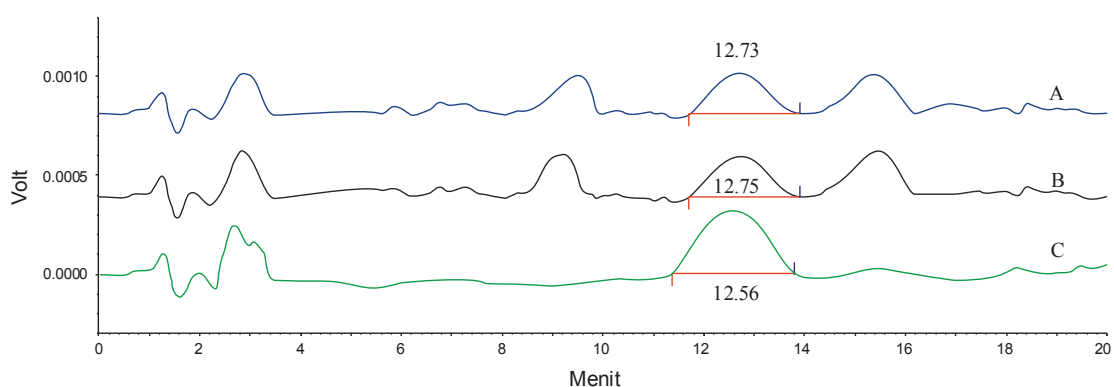


Gambar 3. Kromatogram simulasi pemisahan senyawa benzena, toluena dan naftalena

Kemampuan fase diam silika termodifikasi juga digunakan untuk memisahkan dan menentukan konsentrasi asam askorbat pada sampel minuman ringan merek tertentu yang diperoleh dari supermarket. Sampel

minuman ringan *lemon* (A) dan *orange* (B) masing-masing diencerkan 1000 kali dengan dilarutkan buffer fosfat pH 4,5 dan disaring dengan syringe filter 0,45 μm . Larutan diambil sebanyak 20 μL dianalisa dengan HPLC pada kondisi operasional alat menggunakan fase

gerak acetonitril : buffer fosfat 0,025 M pH 4,5 (75:25, v/v) laju alir 0,8 mL/menit dan panjang gelombang 254 nm. Data kromatogram hasil analisa asam askorbat disajikan pada Gambar 4.

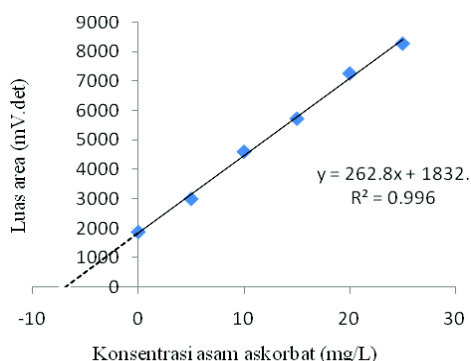


Gambar 4. Kromatogram sampel A (*lemon*), B (*orange*) dan C (asam askorbat 15 mg/L)

Adanya senyawa asam askorbat pada konsentrasi 15 $\mu\text{g/mL}$ teridentifikasi dengan munculnya peak pada waktu retensi 12,56 menit dan luas area puncak 3834 mV.det (Gambar 4C), sedangkan pada kondisi operasional alat yang sama, analisa sampel A (*lemon*) dan B (*orange*) minuman ringan merek tertentu menunjukkan waktu retensi yang relatif sama yaitu 12,73 dan 12,75 menit. Luas area puncak sampel *lemon* dan *orange* masing-masing 1879 dan 1893 mV.det (Gambar 4A dan 4B). Hasil perhitungan menunjukkan konsentrasi *lemon* (A) dan *orange* (B) 6,93 g/L dan 6,87 g/L.

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui adanya gangguan matriks di dalam contoh uji terhadap pereaksi

yang digunakan atau untuk mengetahui ketepatan metode yang digunakan. Perolehan kembali dan linieritas ditentukan dengan menambahkan enam variasi konsentrasi larutan baku berturut-turut 0, 5, 10, 15, 20, 25 mg/L sebanyak masing-masing 5 mL ke dalam 5 mL larutan sampel *orange* (B) yang telah diencerkan 1000 kali. Hasil perhitungan perolehan kembali asam askorbat antara 82,88 -100,56% dengan rerata persen perolehan kembali asam askorbat sebesar 94,39%. Linieritas dari adisi standar asam askorbat disajikan pada Gambar 5 dan diperoleh persamaan regresi linier adisi standar $y = 262,8x + 1832$ dan koefisien korelasi (r) 0,996.



Gambar 5. Kurva adisi standar asam askorbat

KESIMPULAN

Kondisi optimum modifikasi silika gel diperoleh dengan perlakuan kalsinasi pada temperatur 300 °C Hasil modifikasi dapat digunakan sebagai fase diam pada kolom HPLC. Pemisahan optimal benzena, toluena dan naftalena diperoleh pada kondisi operasional alat HPLC menggunakan fase gerak metanol-akuabides (70:30v/v). Identifikasi asam askorbat menunjukkan waktu retensi 12,56 menit pada kondisi operasional alat menggunakan fase gerak acetonitril : buffer fosfat 0,025 M pH 4,5 (75:25, v/v) laju alir 0,8 mL/menit. Konsentrasi asam askorbat dalam minuman ringan *lemon* dan *orange* adalah 6,93 g/L dan 6,87 g/L. Rerata persen perolehan kembali asam askorbat 94,39%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ini kami sampaikan kepada segenap pengelola Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada yang telah membimbing dalam penelitian ini,

Laboratorium Pangan Hasil Ternak dan Laboratorium Ternak Perah Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada yang telah memfasilitasi penelitian ini hingga selesai.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Budhiraja, R.P., 2004, *Separation Chemistry*, New Age International (P) Ltd, New Delhi.
- [2] Hendrayana, S., 2006, *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*, Remaja Rosdakarya, Bandung.
- [3] Poole, C.F., dan Schuette, S.A., 1985, *Cotemporary Practice of Chromatography*, Second impression, Elsevier, New York.
- [4] Karch, K., Sebastian, I., dan Halasz, I., 1976, Preparation and Properties of Reserved Phases, *J. Chromatogr.*, 122, 3-16.
- [5] Kamiusuki, T., Monde, T., Yano, K., Yoko, T dan Konakahara, T., 1999, Preparation of Branched-Polyfluoroalkylsilane_Coated Silica Gel Columns and their HPLC Separation Characteristics, *Chomatographia*, 11-12, 49.
- [6] Pesek, J.J., Matyska, M.T., dan Takhar, S., 1998, Synthesis and Characterization of Long Chain Alkyl Stationary Phase on a Silica Hydride Sulfate, *Chromatographia*, 48, 9-10.
- [7] Stella, S., Rudaz, S., Veuthey, J.L., dan Tchaplá, A., 2001, Silica and

Other Materials as Supports in Liquid Chromatography. Chromatographic Tests and their Importance for Evaluation these Supports, *Chromatographia Supplement*, 53, 113-131.

[8] Brambilla, R., Pinto, F.C., Miranda M.S.L., dan dos Santos, J.H.Z., 2008, Octadecylsilane-Modified Silicas in the Adsorption of Toluene, *Anal. Bioanal. Chem.*, 391, 2673–2681.

[9] Hayrapetyan, S.S., dan Khachatryan, H.G., 2005, Wide-Porosity Silica for High Performance Liquid Chromatography, *Acta Chromatographica*, 15