



VALIDASI METODE HPLC UNTUK ANALISIS SULFIT PADA PEMBUATAN KANDIDAT SRM Na_2ZrO_3

Budi Setiawan dan Dwi Purnomo

Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan-BATAN, Yogyakarta

Email : ptapb@batan.go.id

ABSTRACT

HPLC METHOD VALIDATION FOR SULFIT ANALYSIS IN PRODUCING SRM Na_2ZrO_3 CANDIDATE. HPLC method validation for sulfite analysis in producing SRM Na_2ZrO_3 candidate has been conducted through the zircon sand products. Eluent was obtained from experiments that used Na_2HPO_4 4mM with IC Pak Anion column and Conductivity Detector. The detection limit that obtained for sulfite are 0.669 ppm and 4.294 ppm thiosulfate with deviation recovery $101.09 \pm 1,095\%$ and thiosulfate $100,595 \pm 1,353\%$. Sulfite concentration of SRM Candidates Na_2ZrO_3 was below of the detection limit.

ABSTRAK

VALIDASI METODE HPLC UNTUK ANALISIS SULFIT PADA PEMBUATAN KANDIDAT SRM Na_2ZrO_3 . Telah dilakukan validasi metode HPLC untuk analisis sulfit pada kandidat SRM Na_2ZrO_3 dari hasil olah pasir zirkon. Dari percobaan didapat eluen yang digunakan Na_2HPO_4 4mM dengan kolom ICpak Anion dan detector Konduktivitas. Batas deteksi yang diperoleh untuk Sulfit, 0.669 ppm dan tiosulfat 4.294 ppm. dengan recovery untuk sulfit deviasi $101.09 \pm 1.095\%$ dan tiosulfat $100.595 \pm 1.353\%$. Konsentrasi Sulfit dari kandidat SRM Na_2ZrO_3 adalah di bawah batas deteksi.

PENDAHULUAN

Pembuatan Bahan acuan standar (SRM)⁽¹⁾, bertujuan untuk mengontrol kualitas dari data-data analisis yang dihasilkan. Sesuai dengan perkembangan zaman serta kemajuan teknologi, pembuatan bahan acuan standar masih terus dilakukan hingga sekarang seiring dengan berkembangnya metode analisis kimia dan munculnya peralatan-peralatan yang semakin canggih, sehingga bisa meningkatkan mutu hasil analisis, limit deteksi, presisi dan akurasi dari pengukuran-pengukuran atau analisis sampel dan validasi metode. Untuk mendukung Pilot Plant Zirconia perlu adanya SRM bahan produk maupun produk antara. Serbuk Na_2ZrO_3 sebagai produk antara perlu diketahui pengotor atau unsur ikutan, antara lain SO_3 (Sulfit)⁽²⁾

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan yang berdasarkan pada perbedaan migrasi komponen-komponen antara dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak⁽³⁾. Secara teori pemisahan kromatografi yang paling baik akan diperoleh, jika fasa diamnya mempunyai luas muka sebesar-

besarnya, sehingga terjadi keseimbangan yang baik antar fasa. Kemudian untuk fasa geraknya adalah yang mampu bergerak dengan cepat sehingga terjadi difusi sekecil-kecilnya, yaitu bergeraknya senyawa/unsur bukan karena perbedaan konsentrasi tetapi karena cepatnya fasa gerak. Untuk memperoleh luas muka fasa diam yang luas, digunakan serbuk dengan ukuran mikro, kemudian untuk memperoleh laju yang tinggi dari fasa gerak melewati fasa diam dilakukan dengan tekanan yang tinggi. Persyaratan tersebut telah dapat dipenuhi oleh HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)⁽³⁾

Pada sistem HPLC, fasa diam berupa serbuk berukuran μm , ditempatkan pada kolom secara mampat dengan diameter 0,5 cm dengan panjang 5 – 50 cm. Fasa gerak berupa cairan murni atau campuran ataupun larutan, untuk menggerakkan fasa gerak dengan tekanan tinggi digunakan pompa.

Sistem analisis dengan HPLC terus berkembang, terutama dengan dibuatnya berbagai instrumen analisis seperti detektor Konduktivitas

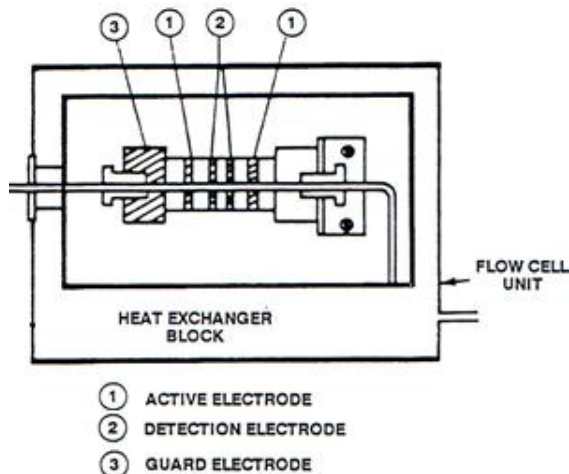


PROSIDING SEMINAR
PENELITIAN DAN PENGELOLAAN PERANGKAT NUKLIR
Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan
Yogyakarta, 26 September 2012

serta pengembangan kolom anion, sehingga analisis anion termasuk sulfat bisa dilakukan lebih cepat, akurat dengan batas deteksi lebih kecil. Pada awalnya untuk analisis sulfat digunakan detektor Indek Bias, yang memang secara umum setiap jenis bahan mempunyai indek bias yang berbeda, tetapi sistem ini batas deteksinya besar.

Dasar Kromatografi Ion Modern diperkenalkan oleh Small, Stevens dan Bauman pada tahun 1975 dengan menggunakan dua buah kolom untuk pemisahan secara bertahap dan detektor konduktivitas⁴. Dari sistem dua kolom tersebut akhirnya bisa dibuat kolom tunggal dengan sistem kolom yang lebih padat, sehingga mampu melakukan pemisahan, secara efisien.

Detektor Konduktivitas Waters 431 mempunyai lima elektroda yang tersusun sebagai sebuah rangkaian dalam sebuah *cell* dan semua eluen yang mengalir akan kontak dengan kelima elektroda tersebut⁵. Hal ini berbeda dengan detektor konvensional yang hanya mempunyai 2 elektroda. Detektor Konduktivitas Waters 431 adalah dua elektroda referensi, dua elektrode deteksi, dan satu elektroda khusus yang berfungsi sebagai *ground*. Sistem ini akan mampu mengeliminasi gangguan elektrik dan sejenisnya⁶. Untuk menghindari gangguan perubahan suhu *cell* ditempatkan pada sebuah *heat exchanger block* yang akan meminimalkan gangguan perubahan temperatur⁽⁷⁾



Gambar 1. Cell Konduktivitas

Penggunaan detektor ini memerlukan kondisi eluen yang sesuai serta membutuhkan waktu kestabilan yang cukup lama (12 jam) untuk penyesuaian antara daya hantar listrik eluen dengan detektor.

Fasa gerak yang digunakan berupa Na_2HPO_4 dengan konsentrasi tertentu serta kolom IC pak Anion, maka dapat dianalisis anion tio sulfat dan sulfat.

TATA KERJA

Bahan

Sampel Na_2ZrO_3 dari proses peleburan pasir zirkon, akuatrides (*HPLC grade*), Na_2HPO_4 , Manitol. Standar Na_2SO_3 dan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Alat

Bejana ultrasonik (Branson 32210), *Solvent Preparation Kit*, *Sample Preparation Kit*, *Norganic Water Treatment Kit*, seperangkat alat kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) yang terdiri dari : pompa model 6000 A (Waters Associates Inc.), injector 100 μL (Rheodyne 7161), detektor konduktivitas 431 (Waters), rekorder (Servogor 120), kolom IC Pak Anion 4,6 x 50 mm (Millipore), guard kolom (kolom pelindung), peralatan laboratorium umumnya

Cara Kerja :

Pembuatan eluen

- ◆ Dibuat larutan induk Na_2HPO_4 dan diencerkan 3, mM, 4mM, 5mM, 6mM dan 7mM.
- ◆ Dilakukan preparasi untuk menjadi eluen HPLC, menggunakan *Solvent Preparation Kit* dan *didegassing* menggunakan bejana ultra sonik

Pembuatan larutan standar

- ◆ Dibuat larutan induk sulfat 4000 ppm dengan menimbang Na_2SO_3 , dan dilarutkan dalam 100 ml akuatrides dan kemudian dibuat larutan standar 10;20; 30; 40; dan 50 ppm. Dengan cara yang sama dibuat larutan standar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Penyiapan cuplikan

- ◆ Ditimbang Na_2ZrO_3 padatan hasil olah pasir zirkon sebanyak 0,100 gr dan diencerkan dengan air hangat, setelah larut kemudian diencerkan sebanyak 10 ml dalam labu volumetrik. Sampel disaring menggunakan *Sample preparation kit*.

Optimasi Eluen

Masing-masing komposisi eluen dicoba untuk operasi HPLC, pada kondisi operasi :

- Flow rate : 1,2 ml/mnt
- Tekanan : 900 psi
- Vol injeksi : 100 μl
- Kolom : IC pak Anion 4,6 x 50 mm
- Detektor : - Sensitivitas = 0,01
- Base Range : 500 μS
- Recorder : CS 1cm/mnt

Standar tiosulfat, dan sulfat diinjeksikan pada sistem HPLC.

Uji Resolusi

Untuk mendapatkan faktor pemisahan yang terbaik, dilakukan uji resolusi antara puncak sulfat dan tiosulfat menggunakan variasi eluen.



Uji Recovery

- ◆ Uji Recovery digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu alat dalam memperoleh kembali konsentrasi sampel yang dianalisis, yaitu konsentrasi yang terukur mendekati konsentrasi cuplikan yang dibuat. Secara umum hasil analisis dapat diterima bila mempunyai nilai deviasi $\leq 10\%$ dari nilai sebenarnya. Sebanyak 2 ml cuplikan (simulasi) dan 0,15 ml standar sulfit 4000 ppm dilarutkan dengan akuatriades hingga 10 ml. Campuran tersebut diinjeksikan dan dihitung dengan memasukkan luas puncak kromatogram pada persamaan regresi yang telah ada. Dengan cara yang sama dilakukan juga untuk tiosulfat.
- ◆ Data hasil uji recovery ini sekaligus digunakan untuk menghitung akurasi dan presisi

Uji batas deteksi dan daerah kerja

- ◆ Batas deteksi yang merupakan konsentrasi analit terendah yang masih terukur atau konsentrasi analit yang memberikan sinyal (respon) sebesar sinyal blanko ditambah 3 kali simpangan baku blanko. Hal ini dinyatakan dalam persamaan respon batas deteksi : $Y_b = a + 3 S_y/x$, dan nilainya dihitung dari persamaan regresi linier kurva kalibrasi standar. Data ini sekaligus juga un tuk menghitung daerah kerja
- ◆ Untuk uji sampel, dengan melihat kromatogram yang terjadi; yaitu tidak adanya *peak* (puncak) pada posisi sulfit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Resolusi masing-masing puncak dapat dihitung dari kromatogram standar sulfit dan

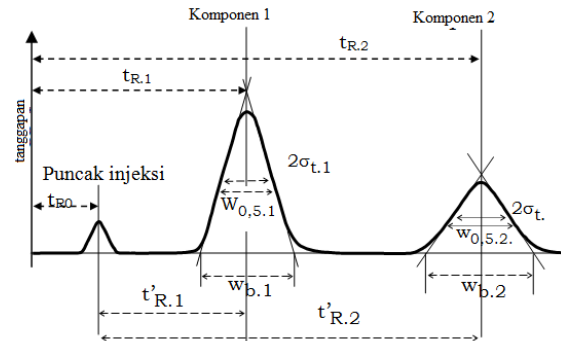
Tabel 1. Perhitungan Nilai Resolusi sesuai variasi eluen

| Eluen (mM) | Sulfit | | | | Thiosulfat | | | | R |
|------------|--------|-----|-------|------|------------|-----|-------|------|-------|
| | tR | H | W 0,5 | L | tR | H | W 0,5 | L | |
| 3 | 6 | 2,4 | 0,5 | 1,2 | 9,5 | 1,1 | 0,7 | 0,77 | 3,433 |
| 4 | 4,5 | 2,4 | 0,4 | 0,96 | 9 | 1,2 | 0,6 | 0,72 | 5,297 |
| 5 | 4 | 2,3 | 0,4 | 0,92 | 8 | 1,2 | 0,6 | 0,72 | 4,708 |
| 6 | 3 | 2,2 | 0,4 | 0,88 | 6 | 1,2 | 0,6 | 0,72 | 3,531 |
| 7 | 2,5 | 2,2 | 0,4 | 0,88 | 5,5 | 1,3 | 0,5 | 0,65 | 3,923 |

Tabel 2 A. Perhitungan Batas Deteksi Anion Sulfit

| X | Y | Y [^] | (Y-Y [^]) ² | SB | YB | Y | BD |
|----|-------|----------------|----------------------------------|----------|--------|----------|----------|
| 10 | 0,225 | 0,243 | 0,000324 | | | | |
| 20 | 0,45 | 0,409 | 0,001681 | | | | |
| 30 | 0,56 | 0,575 | 0,000225 | 0,023833 | 0,0166 | 0,088098 | 0,668569 |
| 40 | 0,72 | 0,741 | 0,000441 | | | | |
| 50 | 0,92 | 0,907 | 0,000169 | | | | |

tiosulfat pada Gambar 2, dengan menghitung dan memperbandingkan jarak (t_R), lebar (L), dan tinggi (h).



Gambar 2. Perhitungan Resolusi

Perhitungan resolusi seperti pada Gambar 2., dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$R = \frac{1,177(t_{R2} - t_{R1})}{W_{0,5,2} + W_{0,5,1}}$$

Hasil perhitungan resolusi dapat dilihat pada Tabel 1

Dari Tabel 1 dengan memperhatikan waktu retensi (t_R) dan resolusi maka dipilih eluen 4 mM Na_2HPO_4 untuk penelian selanjutnya. Pemilihan ini didasarkan pertimbangan faktor resolusi yang memberikan hasil terbesar (5,297). Pada kromatogram hal ini ditunjukkan dengan *base line* yang panjang.

Hasil uji batas deteksi hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2 A dan 2 B. Tabel ini menunjukkan data dan proses perhitungan untuk menghasilkan batas deteksi



**PROSIDING SEMINAR
PENELITIAN DAN PENGELOLAAN PERANGKAT NUKLIR
Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan
Yogyakarta, 26 September 2012**

Tabel 2 B. Perhitungan Batas Deteksi Anion Tiosulfat

| X | Y | Y [^] | (Y-Y [^]) ² | SB | YB | Y | BD |
|----|-------|----------------|----------------------------------|----------|---------|----------|----------|
| 10 | 0,09 | 0,112 | 0,000484 | | | | |
| 20 | 0,225 | 0,2075 | 0,000306 | | | | |
| 30 | 0,32 | 0,303 | 0,000289 | 0,015984 | 0,00955 | 0,057503 | 4,293519 |
| 40 | 0,4 | 0,3985 | 2,25E-06 | | | | |
| 50 | 0,48 | 0,494 | 0,000196 | | | | |

Tabel 3 A. Perhitungan Uji Recovery Sulfit

| Anion | h | W | Luas | Konsentrasi | | Recovery | Standar |
|--------------------------------------|------|------|--------------------|-------------|--------|----------|---------|
| | (cm) | (cm) | (cm ²) | Terukur | Dibuat | (%) | Deviasi |
| SO ₃ ²⁻ 15 ppm | 0,4 | 1 | 0,4 | 14.982 | 15 | 99.880 | 0.120 |
| | 0,4 | 1 | 0,4 | 14.982 | | 99.880 | 0.120 |
| | 0,4 | 1 | 0,4 | 14.982 | | 99.880 | 0.120 |
| | 0,45 | 1 | 0,45 | 15.620 | | 104,133 | 4.133 |
| | 0,4 | 1 | 0,4 | 14.982 | | 99.880 | 0.120 |
| | 0,45 | 1 | 0,45 | 15.620 | | 104,133 | 4.133 |
| | 0,4 | 1 | 0,4 | 14.982 | | 99,880 | 0.120 |
| Rerata | | | | 15.194 | | 101.09 | 1.095 |
| Akurasi | | | | 101,298% | | | |
| Presisi | | | | 0,33% | | | |

Tabel 3 A. Perhitungan Uji Recovery Tiosulfat

| Anion | H | W | Luas | Konsentrasi | | Recovery | Standar |
|--|------|------|--------------------|-------------|--------|----------|---------|
| | (cm) | (cm) | (cm ²) | Terukur | Dibuat | (%) | Deviasi |
| S ₂ O ₃ ³⁻ 15 ppm | 0,35 | 2 | 0,35 | 14.867 | 15 | 97.348 | -2.652 |
| | 0,35 | 2 | 0,35 | 14.867 | | 97.348 | -2.652 |
| | 0,40 | 2 | 0,40 | 15.246 | | 104.924 | 4.924 |
| | 0,35 | 2 | 0,35 | 14.867 | | 97.348 | -2.652 |
| | 0,35 | 2 | 0,35 | 15.246 | | 104.924 | 4.924 |
| | 0,40 | 2 | 0,40 | 15.246 | | 104.924 | 4.924 |
| | 0,35 | 2 | 0,35 | 14.867 | | 97.348 | 2.652 |
| Rerata | | | | 15,029 | | 100.595 | 1.353 |
| Akurasi | | | | 101,962% | | | |
| Presisi | | | | 1,34% | | | |

Dari Tabel 2A dan Tabel 2B, tersebut dapat diketahui batas deteksi untuk Sulfit, 0,669 ppm dan tiosulfat 4,294 ppm.

Dalam proses perhitungan validasi suatu analisis, penggunaan SRM sangat diperlukan, tetapi dikarenakan sulitnya didapat SRM untuk anion dalam air, maka digunakan uji recovery, dengan menggunakan sampel simulasi, dan didapat hasil seperti pada Tabel 3 A dan 3B

Dari uji recovery didapat untuk sulfit deviasi $101,09 \pm 1,095\%$ dan tiosulfat $100,595 \pm 1,353\%$, keduanya menunjukkan simpangan < 10%, dari nilai sebenarnya. Sementara untuk akurasi

analisis sulfat 101,298% dan presisi 0,33%. Sedangkan untuk tiosulfat akurasi 101,962% dan presisi 1,34%.

Untuk analisis sample pada proses olah pasir zirkon, tidak dijumpai adanya sulfit, atau kandungan sulfit di bawah batas deteksi. Kemudian dikarenakan perbandingan untuk unsur sulfit dengan kandungan dalam sampel kecil, maka perlu dicermati jumlah sampel yang akan dilarutkan agar kandungan sulfit bisa dideteksi.

Optimasi pada penentuan konsentrasi eluen yaitu dengan merubah konsentrasi Na₂HPO₄. Eluen mengandung ion lawan yang akan bersaing dengan ion cuplikan (sulfit) berinteraksi dengan ion HPO₄⁻.



Penambahan konsentrasi HPO_4^- akan menurunkan waktu retensi (t_R) sulfit.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Penambahan konsentrasi HPO_4^- eluen akan mempercepat atau menurunkan waktu retensi (t_R) dari ion sulfit
2. Untuk analisis sulfit dan tiosulfat pada proses pengolahan pasir zirkon dapat digunakan larutan Na_2HPO_4 dengan konsentrasi 4mM
3. Kandungan Sulfit pada Na_2ZrO_3 hasil olah pasir zirkon tidak terdeteksi atau di bawah limit deteksi
4. Batas deteksi minimum pengujian sulfit dalam proses pengolahan pasir zirkon adalah Sulfit, 0,669 ppm dan tiosulfat 4,294 ppm. dengan recovery untuk sulfit deviasi $101,09 \pm 1,095\%$ dan tiosulfat $100,595 \pm 1,353\%$ Untuk sulfit dengan presisi 0,329% dan akurasi 101,298% dan tiosulfat presisi 1,347% dan akurasi 101,962%

PUSTAKA

1. WIKIPEDIA, Standard Reference Method, http://en.wikipedia.org/wiki/Standard_Reference_Method; 23 Agustus 2012.
2. MERCK, Catalog, Natrium Sulfit, 2007
3. DJOKOWIDODO, Kromatografi, Kursus Instrumentasi Dasar Kimia, FMIPA, IKIP, Yogyakarta, 1992

4. MARKUS LAUBLI, Ion Chromatography, Metrohm Monograph
5. PAUL HADDAD AND PETER EJ, Ion Chromatography, Dept of Analytical Chemistry University of NSW, Australia, 1990
6. WATERS, Waters IC-Pak Column and Guard Column, Care and Use Manual, Milipore Corporation, Masachusset, 1994
7. WATERS, Waters 431 Conductivity Detector, Milipore Corporation, Masachusset, 1989

TANYA JAWAB

Bambang Irianto

- Berapa nilai resolusi dinyatakan baik?

Budi Setiawan

- ✧ Nilai resolusi dinyatakan baik jika dari selisih waktu retensi komponen 2 (t_{R2}) dengan komponen 1 (t_{R1}) dibagi dengan nilai faktor/konstanta hasilnya ≥ 2

Sutanto WW

- Mengapa tidak menggunakan SRM untuk uji validasi?

Budi Setiawan

- ✧ Karena tidak mempunyai SRM dengan matrik yang sama, maka cukup dilakukan uji recovery (uji pungut kembali)