PENGARUH FASA GERAK TERHADAP PEMISAHAN ION NITRAT DAN IODIDA SECARA KROMATOGRAFI ION PADA KOLOM ODS YANG DILAPISI SETILTRIMETILAMONIUM BROMIDA

Safni[1], Zaimi Abdullah[1], Dewi Sinta[1], Lasmiyati[1] dan Toyohide Takeuchi[2]
[1]Laboratorium Kimia Analisis Instrumen, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Padang, Indonesia
[2] Departement of Chemistry, Faculty of Engineering, Gifu University, 1-1 Yanagida, Gifu 501-1193, Japan

ABSTRACT

Separation of nitrate and iodide ions in ion chromatography has been investigated on octadecylsilica (ODS) column modified with cetyltrimethylammonium bromide (CTAB). Variation in composition of sodium chloride, sodium perchlorate and phosphate buffer solutions were used as eluent for separation of nitrate and iodide ions. Optimum condition for separation of nitrate and iodide ions was obtained on eluent composition; 0.3 M NaCl – 0.05 M $NaClO_4$ – 5.0 mM phosphate buffer (pH 6.0) at 1.0 mL/min of flow rate and UV detection at 227 nm. Retention times of nitrate and iodide ions were on 2.58 and 3.16 minutes, respectively and 1.16 of resolution. The determination coefficient (R^2) of each ion measured on range of 0-25 mg/L were 0.994 for nitrate and 0.992 for iodide. Relative standard deviation (RSD) of nitrate and iodide ions in sixth repeatedly were 4.84 and 7.42 % for detector signal and 0.70 and 1.04 % for retention time.

PENDAHULUAN

Para ahli kromatografi telah mengembangkan beberapa metoda kromatografi ion untuk pemisahan anion dengan menggunakan berbagai jenis tipe fasa diam penukar anion[1-3]. Material penyusun fasa diam dapat diperbaiki dengan melakukan modifikasi untuk meningkatkan kemampuan penukaran ion. Fasa diam penukar anion yang dimodifikasi dengan anionik polisakarida[4-11] dapat mempengaruhi kapasitas fasa diam penukar anion dan retensi dari anion. Fasa diam yang dimodifikasi dengan amonium kuarterner juga dapat digunakan sebagai fasa diam penukar anion dengan kapasitas yang tinggi untuk pemisahan anion anorganik[12-18].

Reagen pemodifikasi dari garam amonium kuarterner seperti: feniltrimetilamonium[12], tetrametilamonium[12], etiltrimetilamonium[12-16] dan setilpiridinium[12,14,18] digunakan sebagai pelapisan fasa diam untuk meningkatkan kapasitas penukar anion. Ion setiltrimetilamonium (CTA^+) dipilih sebagai reagen pelapisan kolom karena merupakan suatu surfaktan ionik yang bersifat hidrofobisitas tinggi dari gugus setil-nya dan reagen yang mudah larut dalam air[15]. Sisi aktif CTA^+ yang bermuatan positif dapat meningkatkan kapasitas pertukaran anion dan efisiensi kolom pada pemisahan anion[15,16]. Kekuatan elusi dapat dikontrol dan diperbaiki dengan memilih jenis fasa gerak yang tepat atau dengan menambahkan komponen anionik berupa garam atau buffer pada fasa gerak[1-3].

Pada penelitian sebelumnya, kolom TSKgel ODS-$80T_M$ dan Capcellpak-C_{18} yang dilapisi ion CTA^+ dengan komposisi fasa gerak NaCl dan buffer fosfat[17] serta kolom Capcellpak C_{18}-UG80 yang dilapisi ion CTA^+ dengan fasa gerak natrium 5-sulfoisoftalat[16] telah dapat digunakan untuk pemisahan anion. Hasil penelitian tersebut menunjukan bahwa kolom fasa terbalik yang dilapisi ion CTA^+ dapat meningkatkan penukar anion untuk pemisahan ion nitrit dan nitrat dalam sampel lingkungan[15,16].

Nitrat ditemukan secara alami sebagai hasil dari proses nitrifikasi dalam siklus nitrogen dan banyak digunakan dalam produk bahan makanan dan farmasi. Kadar nitrat yang tinggi dapat menstimulasi pertumbuhan ganggang pada daerah perairan. Iodida merupakan senyawa iodium yang berfungsi sebagai mikronutrien penting dalam tubuh. Kelebihan ataupun kekurangan konsumsi senyawa iodium dapat mengganggu aktifitas metabolisme hormon tiroid. Penentuan ion nitrat dan iodida dalam bahan makanan, sampel biologis dan limbah lingkungan telah menjadi penelitian penting di bidang medis, farmasi dan industri untuk dapat dianalisis secara metoda kromatografi ion.

Pada penelitian ini, kolom Inertsil ODS-2 yang dimodifikasi dengan ion CTA^+ dari garam amonium kuarterner digunakan sebagai fasa diam penukar anion. Hal ini diharapkan dapat meningkatkan selektitas dan efisiensi kolom untuk pemisahan ion nitrat dan iodida dengan variasi komposisi fasa gerak pada daerah deteksi UV. Kondisi optimum pemisahan ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi larutan NaCl, $NaClO_4$ dan pH buffer fosfat dalam fasa gerak dengan detektor UV.

 ISSN : 0853-8018

METODOLOGI

Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari sistem peralatan HPLC Shimadzu model SCL-10A*VP* yang dilengkapi dengan pompa LC-10AT *VP*, *sample loop* volume 20 µL Rheodyne 7725i Injector (Cotati, California, USA), detektor Shimadzu UV-Vis model SPD-10 AV.*VP*, kolom Inertsil ODS-2 (250 x 4,6 mm i.d.), (Gasukuro, Tokyo, Japan); *syringe*, rekorder U-228-IP-123 Shimadzu, seperangkat alat *Spectrophotometer* UV-160A Shimadzu, pH meter Denver Instrument dan *water jet vacum*/aspirator.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari: Setiltrimetilamonium Bromida (CTAB), Natrium Perklorat monohidrat ($NaClO_4.H_2O$), Natrium Klorida (NaCl), buffer fosfat ($NaH_2PO_4.H_2O$ dan Na_2HPO_4). Natrium Iodida (NaI) dan Natrium Nitrat ($NaNO_3$) yang berasal dari E. Merck dan akuabides.

Modifikasi Kolom ODS dengan CTAB

Modifikasi dilakukan dengan cara mengalirkan larutan yang mengandung ion CTA^+ 0,1 M tersebut melalui kolom ODS yang telah dipersiapkan dengan kecepatan alir 0,1 mL/menit. Pelapisan ion CTA^+ dianggap sempurna setelah didapatkan absorban yang stabil. Sisa CTAB yang tidak terlapisi pada fasa diam dapat dielusi dengan cara mengalirkan akuades 0,1 M NaCl.

Kolom ODS yang dimodifikasi dengan ion CTA^+ pada kecepatan alir 0,1 mL/min ini bertujuan agar interaksi antara ion CTA^+ terhadap permukaan fasa diam ODS berlangsung lebih lama sehingga pelapisan akan lebih sempurna. Luas permukaan fasa diam dan konsentrasi ion CTA^+ mempengaruhi jumlah ion CTA^+ yang melapisi permukaan fasa diam[19]. Lapisan yang bermuatan positif ini memiliki hidrofobisitas yang tinggi dengan adanya gugus setil (C_{16}) dan ion akilammonium sebagai gugus fungsional penukar anion yang kuat[15].

HASIL DAN DISKUSI

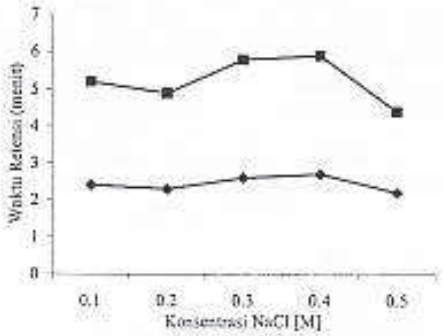
Panjang Gelombang Serapan Maksimum UV Ion Nitrat dan Iodida

Hasil pengukuran dari larutan ion nitrat dan iodida 20 mg/L diperoleh spektrum UV pada panjang gelombang 225,9 nm untuk ion nitrat dan 227,5 nm untuk ion iodida dengan nilai serapan maksimum masing-masingnya yaitu 0,081 dan 1,938. Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan hukum Lambert–Beer diperoleh nilai absortivitas molar (ε) untuk ion nitrat dan iodida masing-masing sebesar 251,11 L/(mol.cm) dan 12306 L/(mol.cm). Perbandingan nilai absortivitas molar dari kedua ion tersebut dapat dinyatakan bahwa ion iodida memiliki nilai absorbtivitas yang lebih besar dibanding ion nitrat sehingga lebih sensitif terhadap sistem deteksi yang digunakan.

Sensitivitas terbesar ditentukan pada panjang gelombang dimana terjadi penyerapan maksimum dari larutan ion. Nilai absorbtivitas molar menunjukan kesensitifan pengukuran dari suatu metoda dan secara tak langsung nilai tersebut akan berubah dengan berubahnya panjang gelombang[2]. Panjang gelombang hasil pengukuran dengan spektroskopi UV digunakan untuk pemilihan panjang gelombang pada kondisi pemisahan ion nitrat dan iodida.

Pengaruh Konsentrasi NaCl terhadap Pemisahan Ion Nitrat dan Iodida

Variasi konsentrasi NaCl, $NaClO_4$ 0,05 M dan buffer fosfat 5,0 mM (pH 6,0) dalam fasa berpengaruh terhadap pemisahan ion nitrat (NO_3^-) dan iodida (I^-). Pada Gambar 1 memperlihatkan pengaruh konsentrasi NaCl 0,1–0,5 M terhadap waktu retensi pemisahan ion nitrat dan iodida.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap waktu retensi ion nitrat (♦) dan iodida (■). *Eluen: $NaClO_4$ 0,05 M – buffer fosfat 5,0 mM (pH 6,0) – variasi NaCl. Analit: 10 mg/L nitrat, 10 mg/L iodida.*

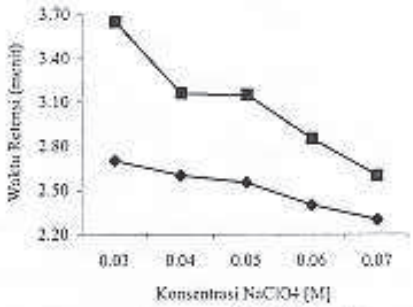
Pada konsentrasi NaCl 0,1–0,4 M terjadi pemisahan antara ion nitrat dan iodida dengan waktu retensi yang cukup berbeda dan resolusi (R_s) besar dari 0,5. Pada kromatogram untuk konsentrasi NaCl 0,1 M dan 0,2 M ditemukan adanya puncak yang negatif (di bawah *base line*). Pada konsentrasi NaCl 0,3 M mengalami peningkatan waktu retensi untuk kedua ion dengan puncak yang terpisah baik dan resolusi besar dari satu. Pemisahan ion nitrat dan iodida

untuk konsentrasi NaCl 0,1; 0,2 dan 0,4 M terelusi kurang sempurna dengan puncak pada kromatogram yang terpisah kurang baik. Pada konsentrasi NaCl 0,5 M tidak tampak terjadinya pemisahan antara kedua ion dengan perbedaan waktu retensi yang sangat kecil dan puncak pada kromatogram terlihat berdempet. Hal ini menunjukan bahwa pemisahan nitrat dan iodida berlangsung kurang baik pada konsentrasi NaCl yang terlampau besar.

Pengaruh Konsentrasi $NaClO_4$ terhadap Pemisahan Ion Nitrat dan Iodida

Variasi konsentrasi NaClO4 NaCl 0,3 M dan buffer fosfat 5 mM (pH 6,0) dalam fasa gerak berpengaruh terhadap pemisahan ion nitrat dan iodida. Pemisahan ion nitrat dan iodida terhadap waktu retensi dengan variasi konsentrasi $NaClO_4$ 0,03–0,07 M dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada konsentrasi $NaClO_4$ 0,03-0,07 M terlihat bahwa waktu retensi dari ion nitrat dan iodida berkurang dengan meningkatnya konsentrasi $NaClO_4$ dalam fasa gerak. Pada konsentrasi $NaClO_4$ 0,03-0,06 M terjadi pemisahan ion nitrat dan iodida dengan resolusi besar dari 0,5. Pada kromatogram konsentrasi $NaClO_4$ 0,03; 0,04 dan 0,06 M terlihat proses elusi yang kurang sempurna dari ion iodida dengan puncak melebar, sedangkan pada konsentrasi $NaClO_4$ 0,05 M terjadi pemisahan yang baik antara kedua ion puncak yang tidak berdempet. Pada konsentrasi $NaClO_4$ 0,05 M terjadi pemisahan yang baik antara kedua ion dengan puncak yang tidak berdempet. Pada konsentrasi $NaClO_4$ 0,07 M tidak terjadi pemisahan yang baik, terlihat dari waktu retensi yang semakin kecil dengan resolusi 0,42. Hal ini berarti dengan meningkatnya konsentrasi $NaClO_4$ dalam fasa gerak berpengaruh terhadap kekuatan elusi dan selektifitas pemisahan antara ion nitrat dan iodida pada kolom ODS yang dilapisi ion CTA^+.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi $NaClO_4$ terhadap waktu retensi ion nitrat (♦) dan iodida (■). *Eluen: $NaClO_4$ 0,3 M – buffer fosfat 5,0 mM (pH 6,0) – variasi $NaClO_4$. Analit: 10 mg/L nitrat, 10 mg/L iodida.*

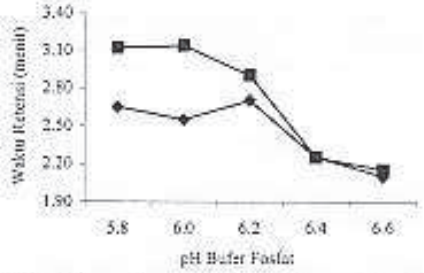
Pengaruh pH terhadap Pemisahan Ion Nitrat dan Iodida

Fasa gerak yang terdiri dari variasi pH buffer fosfat 5 mM, NaCl 0,3 M dan NaClO4 0,05 M berpengaruh terhadap selektifitas pemisahan ion nitrat dan iodida dan kekuatan ionik dari fasa gerak. Pada Gambar 3 memperlihatkan pengaruh variasi pH buffer fosfat terhadap waktu retensi pemisahan ion nitrat dan iodida.

Pada variasi pH buffer fosfat 5,8 dan 6,0 diperoleh pemisahan ion nitrat dan iodida dengan puncak pada kromatogram yang tampak terpisah dan waktu retensi yang cukup berbeda dengan resolusi besar dari satu. Pada variasi pH 6,2 terjadi elusi yang kurang baik dan puncak yang melebar dari ion iodida. Pada kromatogram variasi pH 6,4 dan 6,6 terlihat bahwa tidak terjadi pemisahan antara kedua ion dengan adanya penurunan terhadap waktu retensi dan tidak terdeteksinya ion nitrat dengan puncak yang tampak berdempet. Hal ini menunjukan bahwa perubahan pH buffer dapat mempengaruhi karakter dari media pertukaran anion, kesetimbangan asam-basa dan ionisasi dari analit. Adanya perubahan pH buffer berarti dapat mengontrol selektifitas dan meperbaiki kekuatan elusi fasa gerak serta retensi dari analit[19,20].

Kondisi Optimum Pemisahan Ion Nitrat dan Iodida

Kondisi optimum ditentukan berdasarkan hasil pemisahan ion nitrat dan iodida. Pemisahan yang paling baik diperoleh pada komposisi fasa gerak NaCl 0,3 M – $NaClO_4$ 0,05 M – buffer fosfat 5,0 mM (pH 6,0) dengan kecepatan alir 1,0 mL/min pada panjang gelombang 227 nm. Kromatogram kondisi optimum pemisahan ion nitrat dapat dilihat pada Gambar 4. Ion nitrat dan iodida terpisah dengan baik pada tingkat resolusi 1,16 dan waktu retensi 2,58 menit untuk ion nitrat dan 3,16 menit untuk ion iodida.



Gambar 3. Pengaruh pH terhadap waktu retensi ion nitrat (♦) dan iodida (■). *Eluen: NaCl 0,3 M – $NaClO_4$ 0,05 M – variasi pH buffer fosfat 5,0 mM. Analit: 10 mg/L nitrat, 10 mg/L iodida.*

ISSN : 0853-8018

Column Modified with A Quaternary Ammonium Salt. *J. Chromatogr.*, 370: 83-02 (1986).
13. R. N. Reeve, Determination of Inorganic Main Group Anions by High- Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.*, 177: 393-397 (1979).
14. R. M. Cassidy and S. Elchuk, Dynamically Coated Column for Separation of Metal Ion and Anions by Ion Chromatography. *Anal. Chem.*, 54: 1558-1563 (1982).
15. K. Ito, Y. Ariyoshi, F. Tanabiki and H. Sunahara, Anion Chromatography Using Octadecylsilane Reversed-Phase Colums Coated with Cetyltrimethylammonium and Its Application to nitrite and nitrate in Seawater. *Anal. Chem.*, 63: 273-276 (1991).
16. Y. Y. Yokoyama, H. Sucmitsu dan H. Sato, Optimum Combination of Column and Eluent for High-Sensitivity Non Suppresed Ion Chromatography of Common Anions. *Anal.Sci.*, 16: 1225-1227 (2000).
17. K. Ito and T. Hirokawa, Enhanced Detection of Iodide in Seawater by Ion Chromatography Using an ODS Column Coated with Cetyltrimethylammonium. *Anal. Sci.*, 17: 579-581 (2001).
18. X. Jun, J. L. F. C. Lima and M. C. B. S. M. Montenegro, Simultaneus Determination of Inorganic Anions and Carboxylic Acids in Wine Usiag Isocratic Separations on A Permanently Coated Reversed-Phase Column and UV Indirect Detection. *Anal. Chem. Acta.*, 321: 263-271 (1986).
19. C. F. Poole and S. K. Poole, *Chromatography Today*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1994
20. S. Ahuja, *Chemical Analysis, Selectivity and Detactability Optimizations in HPLC. Vol 104*, John Wiley & Sons, New York, USA, 1989.
21. E. Heftman, Chromatograph, 5th ed., *Part A: Fundamental and Techniques*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, (1992).

 ISSN : 0853-8018