

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

Lasmiyati¹, Safni¹, Zulfarman¹, Toyohide Takeuchi²

¹Laboratorium Kimia Analisis Instrumen, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

²Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan.

INTISARI

Pemisahan ion iodat dan iodida telah dilakukan pada kolom oktadesilsilika (ODS) yang dilapisi setiltrimetilamonium bromida (CTAB) dengan memvariasikan komposisi NaCl, NaClO₄ dan bufer fosfat sebagai fasa geraknya. Kondisi optimum pemisahan ion iodat dan iodida diperoleh pada komposisi fasa gerak; NaCl 0,3 M - NaClO₄ 0,05 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) dengan kecepatan alir 1,0 mL/min dan sistem deteksi UV pada panjang gelombang 228 nm. Waktu retensi yang diperoleh untuk ion iodat dan iodida berturut-turut 2,33 dan 3,13 menit dengan resolusi 1,78. Koefisien determinasi (R^2) dari hasil pengukuran variasi konsentrasi 0 - 25 mg/L masing-masing diperoleh 0,966 untuk ion iodat dan 0,992 untuk ion iodida. Nilai Standar Deviasi relatif (SDR) dengan 6 kali pengulangan diperoleh untuk ion iodat dan iodida berturut-turut 0,20 dan 1,04 % terhadap waktu retensi dan 0,00 dan 7,42 % terhadap sinyal detektor.

ABSTRACT

Separation of iodate and iodide ions in ion chromatography has been investigated on octadecylsilica (ODS) column modified with cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) by varying in composition of sodium chloride, sodium perchlorate and phosphate buffer solutions as eluent. Optimum condition for separation of iodate and iodide ions was obtained on eluent composition; 0.3 M NaCl - 0.05 M NaClO₄ - 5 mM phosphate buffer (pH 6.0) at 1.0 mL/min of flow rate and UV detection at 228 nm. Retention time of iodate and iodide ions were on 2.33 and 3.13 minutes, respectively, on 1.78 of resolution. The determination coefficient (R^2) of each ions measured on range of 0 - 25 mg/L were 0.966 for iodate and 0.992 for iodide. Relative standard deviation (RSD) of iodate and iodide ions in sixth repeatedly were 0.20 and 1.04 % for retention time and 0.00 and 7.42 % for detector signal.

PENDAHULUAN

Beberapa metoda kromatografi ion telah dikembangkan oleh para ahli kromatografi untuk pemisahan anion dengan menggunakan berbagai jenis tipe fasa diam penukar anion¹⁻¹⁶. Fasa diam penukar anion yang dimodifikasi dengan anionik polisakarida⁴⁻¹¹ dapat mempengaruhi kapasitas fasa diam penukar anion dan retensi dari anion. Fasa diam yang dimodifikasi dengan amonium kuarterner¹²⁻¹⁶ juga dapat digunakan untuk pemisahan anion anorganik dengan kapasitas yang tinggi sebagai fasa diam penukar anion.

Garam amonium kuarterner digunakan sebagai reagen pemodifikasi yang berfungsi melapisi fasa diam untuk meningkatkan kapasitas penukar anion diantaranya; setiltrimetilamonium¹²⁻¹⁶, setilpiridinium^{13,14,17}, feniltrimetil-amonium¹³ dan tetrametilamonium¹³.

Pelapisan kolom dengan ion setiltrimetilamonium (CTA⁺) dipilih karena ia merupakan suatu surfaktan ionik yang bersifat hidrofobisitas tinggi dari gugus setil-nya dan reagen yang mudah larut dalam air⁵. Sisi aktifnya yang bermuatan positif dapat meningkatkan kapasitas dan efisiensi kolom untuk pemisahan anion⁵⁻⁷. Jenis fasa gerak dapat dipilih untuk mengontrol dan memperbaiki kekuatan elusi dengan menambahkan komponen anionik berupa garam atau bufer pada fasa gerak^{1,3}.

Pada penelitian sebelumnya, kolom Capcellpak C₁₈-UG80 yang dilapisi ion CTA⁺ dengan eluen natrium 5-sulfoisofalat⁵ dan kolom TSKgel ODS-80T_M yang dilapisi ion CTA⁺ dengan komposisi eluen NaCl dan bufer fosfat⁵ telah dapat digunakan untuk pemisahan anion. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa

pelapisan dengan ion CTA^+ dapat meningkatkan kapasitas fasa diam penukar anion.

Iodat dan iodida merupakan senyawa yodium dan berfungsi sebagai mikronutrien penting dalam tubuh. Penentuan ion iodat dan iodida dalam bahan biologis, makanan dan sampel lingkungan telah menjadi penelitian yang penting di bidang medis, farmasi dan industri untuk dapat dianalisis secara metoda kromatografi ion.

Pada makalah ini, kolom Inertsil ODS-2 yang dilapisi CTAB digunakan sebagai fasa diam penukar anion untuk pemisahan ion iodat dan iodida dengan variasi komposisi eluen pada daerah deteksi UV. Modifikasi kolom ODS dengan suatu pelapis ionik CTA^+ diharapkan dapat meningkatkan selektivitas dan efisiensi kolom sebagai fasa diam penukar anion. Kondisi optimum pemisahan ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi eluen yang terdiri dari larutan NaCl dan NaClO_4 dan pH bufer fosfat pada daerah deteksi UV.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari sistem peralatan HPLC Shimadzu model SCL-10AVP yang dilengkapi dengan pompa LC-10 AT 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-180A Shimadzu, pH meter Denver Instrument dan water jet vakum / aspirator.

Bahan

Bahan - bahan yang digunakan terdiri dari: Setiltrimetilamonium Bromida (CTAB), Natrium Perklorat monohidrat ($\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Natrium Klorida (NaCl), bufer fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dan Na_2HPO_4), Natrium Iodida (NaI) yang berasal dari E. Merck, Natrium Iodat (NaIO_3) berasal dari Wako Pure Chemical dan akuabides.

Modifikasi Kolom ODS dengan CTAB

Larutan standar CTAB 5 mM dibuat dari pengenceran larutan induk CTAB 0,1 M dengan akuabides. Kolom ODS yang telah dipersiapkan dimodifikasi dengan mengalirkan larutan ion CTA^+ pada kolom, dengan kecepatan alir 0,1 mL/menit. Pelapisan ion CTA^+ dianggap sempurna setelah didapatkan absorbansi yang stabil. Setelah itu, kolom dilusi dengan akuades dan 0,1 M NaCl untuk mengeluarkan sisa CTAB yang tidak terlapisi pada fasa diam.

HASIL DAN DISKUSI

Panjang Gelombang Serapan Maksimum UV Ion Iodat dan Iodida

Hasil pengukuran dari larutan ion iodat dan iodida 20 mg/L diperoleh spektrum UV pada panjang gelombang 228 nm untuk ion iodat dan 227 nm untuk ion iodida dengan nilai serapan maksimum masing-masingnya yaitu 0,121 dan 1,938. Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan hukum Lambert - Beer diperoleh nilai absorptivitas molar (ϵ) sebesar 1068 $\text{L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$ untuk ion iodat dan 123063 $\text{L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$ untuk ion iodida. Ini menunjukkan bahwa ion iodida memiliki nilai absorptivitas yang besar sehingga lebih sensitif dibanding ion iodat terhadap sistem deteksi yang digunakan.

Nilai absorptivitas molar menunjukkan kesensitifan pengukuran dari suatu metoda dan secara tak langsung nilai tersebut akan berubah dengan berubahnya panjang gelombang. Sensitivitas terbesar ditentukan pada panjang gelombang dimana terjadinya penyerapan maksimum dari larutan ion¹. Panjang gelombang dari hasil pengukuran spektroskopi UV akan digunakan untuk pemilihan panjang gelombang pada kondisi pemisahan ion iodat dan iodida.

Modifikasi Kolom ODS dengan CTAB

Modifikasi kolom ODS dilakukan untuk meningkatkan kapasitas kolom sebagai penukar anion sehingga efisiensi pemisahan anion juga dapat meningkatkan. Kolom yang telah dimodifikasi dapat digunakan untuk pemisahan anion setelah dikondisikan dengan eluen pada kecepatan alir 1,0 mL/menit.

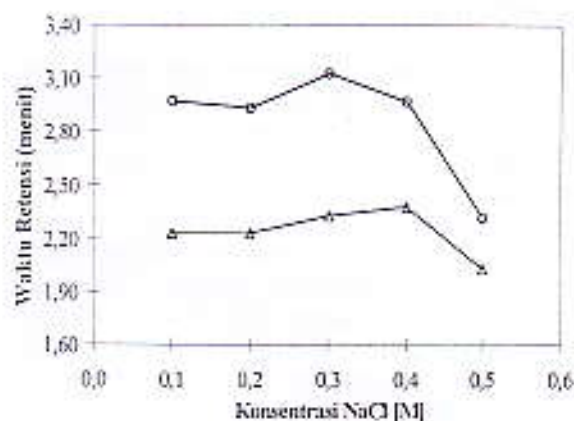
Modifikasi kolom ODS dengan ion CTA^+ pada kecepatan alir 0,1 mL/min bertujuan agar interaksi antara permukaan fasa diam dari ODS dengan reagen pemodifikasi CTAB berlangsung lebih lama sehingga pelapisan akan lebih sempurna. Jumlah ion CTA^+ yang melapisi tersebut tergantung luas permukaan ODS dan konsentrasi ion CTA^+ ¹⁰. Lapisan penyerap ini memiliki hidrofobisitas yang tinggi dari gugus setil (C_{12}) dan ion alkilamonium sebagai gugus fungsional penukar anion yang kuat¹⁵.

Pengaruh Konsentrasi NaCl terhadap Pemisahan Ion Iodat dan Iodida

Eluen yang terdiri dari variasi konsentrasi NaCl , NaClO_4 0,05 M dan bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) berpengaruh terhadap pemisahan ion iodat (IO_3^-) dan iodida (I^-). Pada Gambar 1, dapat dilihat pengaruh variasi konsentrasi NaCl 0,1 - 0,5 M dalam eluen terhadap waktu retensi pemisahan ion iodat dan iodida.

Pada konsentrasi NaCl 0,1 - 0,4 M diperoleh pemisahan ion iodat dan iodida dengan resolusi cukup baik ($R_s \geq 1,0$) dan puncak pada

kromatogram yang tidak berdempet. Pada konsentrasi NaCl 0,1 M dan 0,2 M ditemukan adanya puncak yang negatif (dibawah *base line*). Waktu retensi terlihat mengalami peningkatan untuk kedua ion pada konsentrasi NaCl 0,3 M dengan puncak yang terpisah baik. Pada konsentrasi NaCl 0,4 M terlihat bahwa iodida terelusi kurang sempurna dengan puncak yang melebar (*tailing*). Pada konsentrasi NaCl 0,5 M terjadi pada waktu retensi yang semakin kecil untuk kedua ion dan puncak yang terlihat berdempet (*overlapping*) dengan resolusi 0,73. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi NaCl yang terlampaui besar kurang baik untuk pemisahan iodat dan iodida.

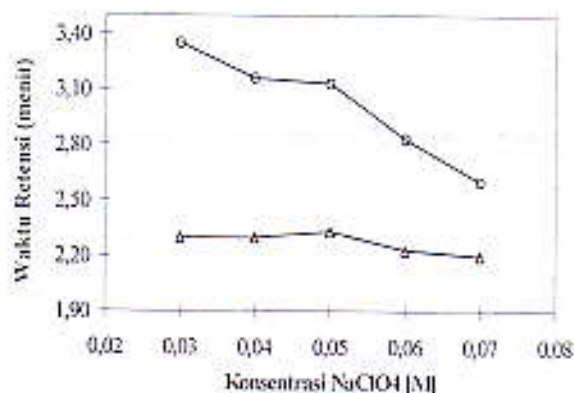


Gambar 1. Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap waktu retensi ion iodat dan iodida. *Eluen: NaClO₄ 0,05 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) - variasi NaCl Analit: 1. 20 mg/L iodat, 2. 10 mg/L iodida*

Pengaruh Konsentrasi NaClO₄ terhadap Pemisahan Ion Iodat dan Iodida

Eluen yang terdiri dari variasi konsentrasi NaClO₄, NaCl 0,3 M dan bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) memberikan pengaruh terhadap daya elusi dan pemisahan ion iodat dan iodida. Pada Gambar 2, terlihat bahwa variasi konsentrasi NaClO₄ 0,03 - 0,07 M dapat memisahkan ion iodat dan iodida dengan waktu retensi yang berbeda.

Pada konsentrasi NaClO₄ 0,03 - 0,06 M terjadi penurunan terhadap waktu retensi untuk ion iodat dan iodida dengan puncak pada kromatogram yang tidak berdempet ($R_s > 1,3$). Waktu retensi pada NaClO₄ 0,05 M mengalami sedikit peningkatan untuk ion iodat. Pada NaClO₄ 0,03; 0,04 dan 0,06 M dari kromatogram terlihat proses elusi yang kurang sempurna. Pada NaClO₄ 0,07 M, waktu retensi semakin kecil dan puncak iodida yang dihasilkan tampak melebar ($R_s = 0,80$).



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi NaClO₄ terhadap waktu retensi ion iodat dan iodida. *Eluen: NaCl 0,3 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) - variasi NaClO₄; Analit: 1. 20 mg/L iodat, 2. 10 mg/L iodida*

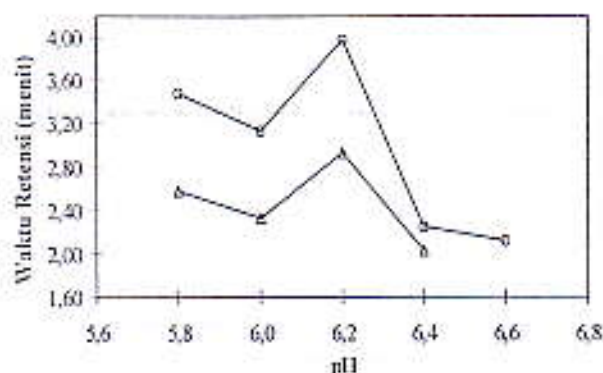
Berdasarkan hasil perhitungan, nilai resolusi yang diperoleh semakin kecil dengan meningkatnya konsentrasi NaClO₄. Hal ini mengindikasikan bahwa NaClO₄ mempunyai kekuatan elusi yang besar dan selektif untuk pemisahan IO₃⁻ dan I⁻ dengan menggunakan kolom ODS yang dilapisi ion CTA⁺.

Pengaruh pH terhadap Pemisahan Ion Iodat dan Iodida

Pemisahan ion iodat dan iodida dengan eluen yang terdiri dari NaCl 0,3 M, NaClO₄ 0,05 M dan variasi pH bufer fosfat dapat dilihat pada Gambar 3. Pada variasi pH 5,8; 6,0; 6,2; 6,4 dan 6,6 berpengaruh cukup besar terhadap selektivitas pemisahan dan kekuatan ionik ion-ion dari eluen terhadap analit.

Pada pH 5,8; 6,0 dan 6,2 dapat memisahkan ion iodat dan iodida dengan waktu retensi yang berbeda dan puncak yang dihasilkan pada kromatogram terpisah ($R_s > 1,0$). Pada pH 6,2 terjadi kenaikan terhadap waktu retensi untuk kedua ion dengan puncak iodida yang melebar (*tailing*). Pada pH 6,4 waktu retensi yang dihasilkan semakin menurun untuk kedua ion ($R_s = 0,73$). Pada pH 6,6 tidak terjadi pemisahan antara iodat dan iodida, dimana ion iodat tidak terdeteksi dan waktu retensi untuk ion iodida menurun.

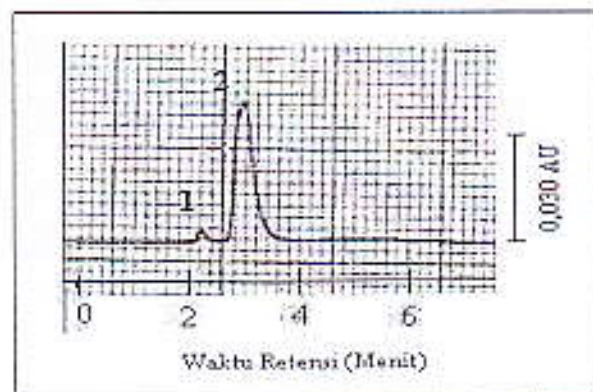
Bufer fosfat berasal dari asam poliprotik yang terdapat dalam bentuk H₂PO₄⁻ dan HPO₄²⁻ dengan tingkat disosiasi yang berbeda. Hal ini berpengaruh terhadap retensi dari spesies-spesies yang terlibat dan kekuatan elusi dari eluen. Perubahan pH bufer akan mempengaruhi karakter dari media pertukaran anion, kesetimbangan asam-basa dan ionisasi dari sampel sehingga berguna untuk mengontrol selektivitas dan memperbaiki kekuatan elusi dari eluen.^{18,19}



Gambar 3. Pengaruh pH terhadap waktu retensi ion iodat dan iodida. *Eluen:* NaCl 0,3 M - NaClO₄ 0,05 M - variasi pH bufer fosfat 5 mM; *Analit:* 1. 20 mg/L iodat, 2. 10 mg/L iodida

Kondisi Optimum Pemisahan Ion Iodat dan Iodida

Kondisi optimum pemisahan ion iodat dan iodida diperoleh pada komposisi eluen NaCl 0,3 M - NaClO₄ 0,05 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) dengan kecepatan alir 1,0 mL/min pada panjang gelombang 228 nm. Pada Gambar 4, memperlihatkan kromatogram kondisi optimum dengan waktu retensi 2,33 menit untuk ion iodat dan 3,13 menit untuk ion iodida dan tingkat resolusi 1,78. Resolusi ditentukan berdasarkan pengukuran lebar puncak dan waktu retensi dari masing-masing analit. Pemisahan antara dua komponen untuk tujuan analisis kuantitatif terjadi dengan baik apabila memiliki tingkat resolusi, $R_s \geq 1,5$ ²⁰. Ini menyatakan bahwa ion iodat dan iodida terelusi dan terpisah baik dengan komposisi eluen tersebut.



Gambar 4. Kromatogram pemisahan ion iodat dan iodida pada kondisi optimum. *Kolom:* Inertsil ODS-2 (250 x 4,6 mm i.d.) yang dilapisi CTAB; *Eluen:* NaCl 0,3 M - NaClO₄ 0,05 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0); *Sistem deteksi:* UV/Vis λ 228 nm; *Analit:* 1. 20 mg/L iodat, 2. 10 mg/L iodida

Pemilihan jenis fasa diam, komposisi fasa gerak, komponen dalam analit serta sistem deteksi dapat mempengaruhi selektivitas dan retensi pemisahan analit¹. Kekuatan interaksi antara komponen dalam fasa gerak dan fasa diam berpengaruh terhadap retensi analit¹⁹. Berdasarkan urutan afinitas untuk anion², ion iodida memiliki afinitas yang lebih besar dibandingkan ion iodat sehingga ion iodida akan kuat tertahan pada kolom. Hal ini menyebabkan ion iodida lebih lama terelusi dengan waktu retensi yang lebih besar dibanding ion iodat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pemisahan ion iodat dan iodida dengan menggunakan variasi komposisi fasa gerak secara kromatografi ion dapat disimpulkan bahwa kolom ODS yang telah dimodifikasi dengan ion CTA⁺ dapat digunakan untuk pemisahan ion iodat dan ion iodida. Kondisi optimum pemisahan ion iodat dan iodida secara kromatografi ion diperoleh dengan komposisi eluen NaCl 0,3 M - NaClO₄ 0,05 M - bufer fosfat 5 mM (pH 6,0) dengan kecepatan alir 1,0 mL/min pada panjang gelombang 228 nm. Pemisahan ion iodat dan iodida pada kondisi optimum diperoleh tingkat resolusi sebesar 1,78. Ketelitian metoda kromatografi ion cukup baik dengan nilai standar deviasi relatif untuk ion iodat dan iodida berturut-turut 0,00 dan 7,42 % terhadap sinyal detektor dan 0,20 dan 1,04 % terhadap waktu retensi.

Ucapan terima kasih

Terima kasih disampaikan kepada Proyek Due-Like Program Studi Kimia Universitas Andalas yang telah memberikan bantuan dana penelitian ini.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. J. Weiss, *Ion Chromatography 2nd ed.*, VCH, Weinheim, Germany, 1995.
2. P. R. Haddad and P. E. Jackson, *Ion Chromatography; Principles and Applications*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1990.
3. P. R. Haddad and A. L. Heckenberg, Determination of Inorganic Anions By High-Performance Liquid Chromatography. *Chromatography Review, J. Chromatogr.*, 300: 357-394 (1984).
4. T. Takeuchi, Safni and T. Miwa, Ion Chromatography Using Anion Exchangers Modified with Anionic Polysaccharides. *LCGC*, 18: 418-428 (2000).

5. Safni, T. Takeuchi, T. Miwa, Y. Hashimoto and H. Moriyama, Effect of Eluent Composition on Retention Behaviour on Anions in Ion Chromatography on Anion-Exchanger Modified with Heparin. *J. Chromatogr. A*, 850: 65-72 (1999).
6. T. Takeuchi, Safni and T. Miwa, Ion Chromatography of Anion on Stationary Phases Modified with Chondroitin Sulfate. *J. Chromatogr. A*, 789: 201-206 (1997).
7. T. Takeuchi, Safni, T. Miwa, Y. Hashimoto and H. Moriyama, Ion Chromatography on Anion Exchangers Modified with Mucopolysaccharides. *J. Chromatogr. A*, 804: 79-86 (1998).
8. T. Takeuchi, Safni, T. Miwa, Y. Hashimoto and H. Moriyama, Ion Chromatography Using Anion Exchangers Modified with Heparin. *Analisis*, 26: 61-64 (1998).
9. Safni, N. Ito, T. Takeuchi and T. Miwa, Separation of Enantiomers on Anion Exchangers Modified with Heparin in Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A*, 864: 25-30 (1999).
10. T. Takeuchi, Safni, T. Miwa, Y. Hashimoto and H. Moriyama, Ion Chromatography Using Anion Exchangers Modified with Dextran Sulfate. *Chromatographia*, 50: 70-74 (1999).
11. Safni, T. Takeuchi and T. Miwa, Application of Microcolumn Ion Chromatography Using Anion Exchangers Modified with Dextran Sulfate for The Determination of Alkali and Alkali-Earth Metal Ions. *J. Chromatogr. B*, 753: 409-412 (2001).
12. R. N. Reeve, Determination of Inorganic Main Group Anions by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.*, 177: 393-397 (1979).
13. T. Takeuchi and E. S. Yeung, High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Inorganic Anions on a Silica Gel Column Modified with A Quaternary Ammonium Salt. *J. Chromatogr.*, 370: 83-92 (1986).
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 Columns Coated with cetyltrimethylammonium and Its Application to Nitrite and Nitrate in Seawater. *Anal. Chem.*, 63: 273-276 (1991).
16. Y. Yokoyama, H. Suemitsu and H. Sato, Optimum Combination of Column and Eluent for High-Sensitivity Non Suppressed Ion Chromatography of Common Anions. *Anal. Sci.*, 16: 1225- 1227 (2000).
17. X. Jun, J.L.F.C. Lima and M.C.B.S.M. Montenegro, Simultaneous Determination of Inorganic Anions and Carboxylic Acids in Wine Using Isocratic Separations on A Permanently Coated Reversed-Phase Column and UV Indirect Detection. *Anal. Chem. Acta*, 321: 263-271 (1986).
18. C. F. Poole and S. K. Poole, *Chromatography, Today*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1994.
19. S. Ahuja, *Chemical Analysis; Selectivity and Detectability Optimizations in HPLC*, Vol. 104, John Wiley & Sons, New York, USA, 1989.
20. E. Heftmann, *Chromatography, 5th ed., Part A: Fundamental and Techniques*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1992.