

DAFTAR ISI

Identifikasi Senyawa Hidrokarbon.....	2
Alkohol dan Fenol: Sifat Fisik dan Reaksi Kimia.....	5
Aldehid dan Keton: Sifat Fisik dan Reaksi Kimia	8
Karbohidrat	11
L ipid.....	18
Protein.....	20
Pemisahan dan pemurnian Zat Cair.....	24
Pemisahan dan Pemurnian Zat Padat.....	27
Ekstraksi.....	30
Esterifikasi Fenol.....	32
Kromatografi	34

Identifikasi Senyawa Hidrokarbon

I. Tujuan percobaan

Dapat memberikan informasi mengenai sifa-sifat hidrokarbon dan reaktivitas kimia berdasarkan jenis hidrokarbon (jenuh, tak jenuh dan aromatik)

II. Teori

Hidrokarbon merupakan senyawa organik yang hanya tersusun oleh karbon (C) dan hydrogen (H). Hidrokarbon terbagi menjadi tiga jenis utama yaitu hidrokarbon jenuh, hidrokarbon tidak jenuh dan hidrokarbon aromatic. Hidrokarbon jenuh hanya mempunyai ikatan C- C tunggal, sementara hidrokarbon tak jenuh mempunyai ikatan C- C rangkap 2 atau rangkap 3, hidrokarbon aromatik merupakan senyawa siklik mempunyai sifat kimia berkaitan dengan benzena.

Hidrokarbon jenuh (alkana dan sikloalkana) bersifat relative inert dan tidak mudah bereaksi dengan pereaksi-pereaksi umum. Hidrokarbon tak jenuh (alkena dan sikloalkena) dapat mengalami reaksi adisi dan reaksi oksidasi. Benzena dan senyawa aromatik lainnya tidak bereaksi secara adisi tetapi dapat mengalami reaksi substitusi dengan penggantian atom hydrogen oleh satu atau sekelompok atom-atom lainnya.

Adapun sifat-sifat senyawa hidrokarbon dalam alkana yaitu Pada suhu C_1-C_4 berwujud gas, C_5-C_{17} berwujud cair, dan di atas 17 berwujud padat, Semakin bertambah jumlah atom C maka Mr ikut bertambah akibatnya titik didih dan titik leleh semakin tinggi. Alkana rantai lurus mempunyai titik didih lebih tinggi dibanding alkana rantai bercabang dengan jumlah atom C sama. Semakin banyak cabang, titik didih makin rendah, alkana mudah larut dalam pelarut organik tetapi sukar larut dalam air dan senyawa alkana mempunyai rantai panjang dapat mengalami reaksi eliminasi an alkana juga dapat bereaksi substitusi dengan halogen. dan sifa-sifat alkana yaitu Titik didih alkana mirip dengan alkana, makin bertambah jumlah atom C, harga Mr makin besar maka titik didihnya makin tinggi. Alkena mudah larut dalam pelarut organik tetapi sukar larut dalam air. Alkena dapat bereaksi adisi dengan H_2 dan halogen ($X_2 = F_2, Cl_2, Br_2, I_2$). Sedangkan untuk sifat-sifat alkuna yaitu titik didih alkuna mirip dengan alkana dan alkana semakin bertambah jumlah atom C harga Mr makin besar maka titik didihnya makin tinggi.alkuna juga dapat beraksi adisi dengan H_2 , halogen dan asam halida.

III. Alat dan Bahan

Alat : tabung reaksi, erlenmayer, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, gelas piala kaca arloji, penjepit tabung dan korek api.

Bahan : n-Heksana, Sikloheksena, Toluena, Bensin, Minyak tanah, HNO₃, Etanol, Aquades, H₂SO₄ pekat, Paraffin liquidum, Larutan 1% KMnO₄, Larutan 1% bromin dalam sikloheksana, Ligroin, es batu dan minyak kelapa.

IV. Prosedur

a. Sifat Fisik Hidrokarbon

1. Kelarutan dan Densitas Dalam Air

Beri label tabung reaksi dengan nama senyawa yang akan diuji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Tambahkan 5 tetes aquades kedalam masing-masing tabung. Apakah terjadi pemisahan? Komponen manakah yang berada di atas dan di bawah?

Kocok tabung untuk mencampur isinya. Apakah yang terjadi ketika campuran didiamkan? Bagaimana densitas hidrokarbon lebih rapat atau kurang rapat dari pada air? Amati dan catat pada lembar pengamatan. Simpan tabung untuk dibandingkan dengan percobaan berikutnya.

2. Kelarutan dan Densitas Dalam Ligroin

Beri label tabung reaksi dengan nama senyawa yang akan diuji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Tambahkan 5 tetes ligroin kedalam masing-masing tabung. Ligroin adalah pelarut nonpolar. Apakah terjadi pemisahan? Komponen manakah yang berada di atas dan di bawah?

Kocok tabung untuk mencampur isinya. Apakah terjadi perubahan kenampakan campuran sebelum dan sesudah pencampuran? Bandingkan tabung-tabung pada percobaan ini dengan percobaan sebelumnya. Amati dan catat pada lembar pengamatan.

b. Sifat Kimia Hidrokarbon

1. Pembakaran/Oksidasi

Masukkan masing-masing 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B* pada kaca arloji. Bakar dengan korek api. Amati api yang terbentuk dan warna asap masing-masing senyawa uji. Catat pada lembar pengamatan.

2. Uji Bromin

Beri label tabung reaksi dengan senyawa yang akan di uji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Tambahkan tetes demi tetes larutan 1% bromine dalam sikloheksana disertai pengocokan setiap penetesan. Hitung jumlah tetesan larutan 1% bromine dalam sikloheksana hingga warnanya tetap ada dan tidak hilang; jangan menambahkan lebih dari 10 tetes. Catat pada lembar pengamatan.

3. Uji KMnO_4

Beri label tabung reaksi dengan senyawa yang akan di uji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Tambahkan tetes demi tetes larutan 1% KMnO_4 aqueous disertai pengocokan setiap penetesan. Hitung jumlah tetesan larutan 1% KMnO_4 aqueous hingga warnanya tetap ada dan tidak hilang; jangan menambahkan lebih dari 10 tetes. Catat pada lembar pengamatan.

4. Uji H_2SO_4

Beri label tabung reaksi dengan senyawa yang akan di uji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Lakukan percobaan satu persatu tiap tabung. Tambahkan 3 tetes H_2SO_4 pekat pada tabung. Pegang tabung dan rasakan apakah terjadi perubahan suhu. Amati apakah larutan menjadi homogeny dan bercampur atau terjadi perubahan warna. Catat pada lembar pengamatan.

5. Uji HNO_3

Beri label tabung reaksi dengan nama senyawa yang akan diuji. Masukkan kedalam masing-masing tabung 1 mL H_2SO_4 pekat dan 0,5 mL (10 tetes) HNO_3 pekat, dinginkan. Tambahkan 5 tetes hidrokarbon yang sesuai: n-Heksana, sikloheksena, toluena, bensin, minyak tanah *senyawa unknown A-B*. Masukkan tabung reaksi kedalam penangas air selama 10 menit, sesekali aduk dengan cara menggoyangkan tabung. Tuangkan isi tabung kedalam gelas piala yang telah berisi pecahan es batu. Lakukan percobaan satu persatu tiap tabung. Amati dan cata pada lembar pengamatan.

Alkohol dan Fenol: Sifat Fisik dan Reaksi Kimia

I. Tujuan

Mahasiswa diharapkan dapat menjelaskan mengenai:

- perbedaan sifat-sifat senyawa alkohol dan fenol
- jenis-jenis pereaksi untuk membedakan senyawa-senyawa alkohol dan fenol.

II. Teori

Hampir lebih dari 20 juta senyawa organik telah diketahui dan dipublikasikan di berbagai publikasi internasional. Jika setiap senyawa harus dipelajari sebagai bagian yang tersendiri, maka studi kimia organik hampir tak mungkin dilakukan. Untungnya, ilmu kimia organik telah membagi-bagi senyawa organik berdasarkan konsep *gugus fungsi*. Gugus fungsi adalah suatu atom atau kumpulan atom yang terikat bersama dengan suatu cara tertentu sebagai bagian dari suatu molekul, dan kemudian mempengaruhi karakteristik sifat fisik dan kimia molekul secara keseluruhan. Kelompok gugus fungsi yang akan dipelajari pada percobaan ini adalah gugus fungsi hidroksi (atau hidroksil), $-OH$. Gugus fungsi ini menunjukkan dominasinya di antara senyawa-senyawa organik, karena begitu banyak dan beragam senyawa yang memiliki gugus fungsi ini.

Gugus fungsi yang akan dipelajari dalam percobaan ini adalah alkohol dan fenol. Pada alkohol, gugus $-OH$ terikat pada atom karbon tetrahedral. Jika gugus $-OH$ terikat pada satu atom karbon yang mengikat 3 atom hidrogen maka alkohol tersebut adalah metanol. Jika karbon yang mengikat $-OH$ terikat pada satu atom karbon lain dan 2 atom hidrogen, alkohol ini disebut alkohol primer. Jika atom karbon yang mengikat gugus $-OH$ terikat pada 2 atom karbon lain, disebut alkohol sekunder dan alkohol yang mengikat 3 atom karbon lain di samping gugus $-OH$ disebut alkohol tersier.

Semua jenis alkohol ini memiliki beberapa karakteristik yang sama di samping beberapa karakteristik lain yang berbeda akibat perbedaan dalam strukturnya. Dalam fenol, gugus $-OH$ terikat pada karbon yang menjadi bagian langsung dari cincin aromatik. Alkohol dan fenol memiliki kemiripan dalam beberapa hal, tetapi terdapat perbedaan yang cukup mendasar sehingga kedua kelompok senyawa ini dianggap sebagai kelompok gugus fungsi yang berbeda. Salah satu perbedaan utama adalah bahwa fenol bersifat jutaan kali lebih asam daripada alkohol. Penambahan sejumlah larutan natrium hidroksida ke dalam fenol akan menyebabkan gugus $-OH$ dalam molekul terdeprotonasi; hal ini tak akan terjadi kepada alkohol.

- **Sifat Fisik**

Semakin besar struktur suatu alkohol atau fenol, maka biasanya titik didihnya semakin tinggi. Ketika ukuran suatu alkohol bertambah besar, maka probabilitas alkohol menjadi berwujud padat semakin besar. Sebagian besar senyawa fenol berwujud padat. Sebagian kecil alkohol larut dalam air karena gugus hidroksi pada alkohol dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air. Namun ketika ukuran gugus alkil pada alkohol bertambah besar, kelarutannya dalam air akan berkurang. Hal ini disebabkan oleh kemampuan gugus alkil yang dapat mengganggu pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksi dengan air. Jika gangguan ini menjadi cukup besar, akibatnya molekul-molekul air akan menolak molekul-molekul alkohol untuk menstabilkan kembali ikatan hidrogen antarmolekul air. Jika gugus non polar (seperti gugus alkil) terikat pada cincin aromatik, maka kelarutan fenol dalam air akan berkurang. Hal ini yang menjadi alasan mengapa gugus non polar sering disebut sebagai gugus *hidrofob*.

- **Sifat Kimia**

Pada percobaan ini focus utamanya adalah reaksi-reaksi kimia yang dapat membantu dalam membedakan alkohol dengan fenol dan antara senyawa-senyawa alkohol sendiri.

II. Prosedur

1. Uji Lucas

Uji ini dilakukan untuk membedakan alkohol-alkohol primer, sekunder dan tersier yang dapat larut dalam air. Reagen Lucas merupakan suatu campuran asam klorida pekat dengan seng klorida. Seng klorida adalah suatu asam Lewis, yang ketika ditambahkan ke dalam asam klorida akan membuat larutan menjadi lebih asam. Alkohol tersier yang larut dalam air akan bereaksi dengan reagen Lucas dengan cepat membentuk alkil klorida yang tak larut dalam larutan berair. Pembentukan fasa cair kedua yang terpisah dari larutan semula di dalam tabung reaksi segera setelah alkohol bereaksi merupakan indikasi keberadaan alkohol tersier. Alkohol sekunder bereaksi lambat, dan setelah sedikit pemanasan akan terbentuk fasa cair lapisan kedua, biasanya sekitar 10 menit. Alkohol primer dan metanol tidak bereaksi pada kondisi ini. Pada alkohol tersier, atom klor biasanya terikat pada atom karbon yang sebelumnya mengikat gugus $-OH$. Pada alkohol sekunder, seringkali atom klor ini terikat pada atom karbon yang mengikat gugus hidroksi, namun penantian ulang dapat saja terjadi yang mengakibatkan terikatnya atom klor tidak terjadi pada atom.

2. Uji Asam kromat

Masukkan 5 tetes sample ke dalam tabung reaksi masing-masing, lalu ke dalamnya ditambahkan 10 tetes aseton dan 2 tetes asam kromat. Tutup tabung reaksi, lalu aduk. Buka tutup tabung dan simpan tabung di dalam penangas air bersuhu 60°C selama 5 menit. Amati perubahan warna yang terjadi dan catatlah hasilnya.

3. Uji Besi(III)klorida

Masukkan 10 tetes tiap sample ke dalam tabung reaksi berlabel, lalu tambahkan 10 tetes kloroform ke dalam tiap tabung. Tambahkan pula 5 tetes larutan besi(III) klorida dalam kloroform ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 tetes piridin ke dalam tiap tabung. Aduk tabung reaksi, amati dan catat yang terjadi.

4. Keasaman

Masukkan 5 tetes sample ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan masing-masing 5 tetes aqua dm. Gunakan batang pengaduk kaca untuk mengaduk sample kemudian sentuhkan ujung batang pengaduk pada kertas pH. Setelah 15 detik, bandingkan warna kertas pH dengan kertas skala pH. Catat pH tiap sampel.

Berdasarkan uji-uji di atas, Anda harus dapat mengidentifikasi sampel tak dikenal, apakah suatu alkohol primer, sekunder, tersier atau fenol.

Aldehid dan Keton: Sifat Fisik dan Reaksi Kimia

I. Tujuan

Mahasiswa diharapkan dapat menjelaskan mengenai:

1. perbedaan sifat-sifat senyawa aldehid dan keton
2. jenis-jenis pereaksi untuk membedakan senyawa-senyawa aldehid dan keton.

II. Teori

Aldehid dan keton memiliki gugus fungsi karbonil (-C=O), yaitu atom karbon yang berikatan rangkap dua dengan oksigen. Pada keton, terdapat 2 atom karbon lain yang terikat pada gugus karbonil. Karbon yang terikat pada gugus karbonil dapat merupakan rantai alifatik (bukan merupakan bagian dari cincin aromatik) atau aromatik (merupakan bagian dari cincin aromatik). Aldehid dan keton sama-sama mengalami reaksi yang disebut *adisi nukleofilik*.

Pada kondisi kurang asam, pada reaksi ini suatu *nukleofil* (suatu spesi yang dapat mendonorkan sepasang electron, atau disebut sebagai basa Lewis) memberikan pasangan elektronnya kepada karbon karbonil untuk membentuk suatu ikatan tunggal seiring dengan bergeraknya sepasang electron pada ikatan rangkap menjadi sepasang electron bebas pada oksigen. Akibatnya, oksigen dapat mengambil sebuah proton dari tempat lain (bisa jadi dari salah satu yang terikat pada atom nukleofil yang menyerang karbon karbonil) dan menjadi gugus -OH .

Pada kondisi yang lebih asam, hasilnya sama, namun pada kondisi ini sebuah proton (dari suatu asam) mengikatkan diri pada salah satu dari pasangan electron bebas pada oksigen. Gugus karbonil sekarang bermuatan $+1$ dan dapat mengundang nukleofil yang lemah sekalipun (nukleofil kuat tidak dapat berada di dalam larutan yang sangat asam karena nukleofil kuat biasanya merupakan basa yang kuat dan tak bisa berkeliaran bebas di dalam larutan asam). Jadi, ketika nukleofil menyerang karbon karbonil dan membentuk ikatan, maka ikatan rangkap pada karbonil berubah menjadi gugus -OH .

II. Alat dan Bahan

Cari dan susunlah sendiri peralatan dan zat yang digunakan sesuai dengan eksperimen yang dilakukan.

III. Prosedur

Untuk uji 1 sampai dengan 4, beri label 5 buah tabung reaksi Anda dengan senyawa turunan aldehid dan keton yang tersedia di laboratorium ditambah dengan sampel zat tak dikenal yang diberikan oleh asisten.

Untuk tiap uji berikut, mulailah dengan 5 tetes setiap sampel yang akan diuji di dalam tabung reaksi.

1. Uji Asam Kromat

Tambahkan 4 tetes larutan asam kromat, goyangkan tabung, lalu biarkan selama 10 menit. Perhatikan terjadi tidaknya perubahan warna dan catat berapa lama perubahan itu terjadi.

perhatian!!

Asam kromat sangat korosif! Jika Anda terkena zat ini, segera bilas anggota tubuh Anda yang terkontaminasi oleh air yang banyak! Segera cuci tabung reaksi Anda dengan air yang banyak setelah selesai melakukan uji Tollens, jangan dibiarkan begitu saja dalam waktu lama karena dapat menimbulkan ledakan/letupan!

2. Uji Tollens

Siapkan reagen Tollens di dalam labu Erlenmeyer 25 mL dengan mencampurkan 5 mL larutan perak nitrat 9% dalam 5 mL larutan NaOH 10%. Terhadap campuran reaksi, tambahkan larutan amoniak 10% tetes demi tetes sambil digoyang, sampai terbentuk endapan coklat dari perak oksida mulai melarut; *jangan menambahkan amoniak berlebih!* (Dibuat oleh Analis).

Larutkan 5 tetes senyawa yang telah ada di dalam tabung reaksi dengan *bis*(2-etoksietil)eter secara tetes demi tetes. Lalu tambahkan 2 mL reagen Tollens, kemudian tabung digoyang/diaduk. Tempatkan tabung reaksi di dalam penangas air 60°C selama 5 menit. Uji positif bagi aldehid adalah terbentuknya cermin perak pada tabung reaksi (jika tabung reaksi bersih); jika tabung reaksinya kotor, akan terbentuk endapan hitam. Catat pengamatan Anda! Cuci tabung reaksi segera dengan asam nitrat 1 M, lalu bilas dengan air yang banyak.

3. Uji Iodoform

Ke dalam tiap tabung reaksi yang mengandung sampel yang akan diuji, tambahkan 2 mL air, lalu goyang tabung reaksinya. Jika senyawanya tak larut, tambahkan dioksan tetes demi tetes sambil diaduk sampai campuran homogen. Tambahkan 2 mL larutan NaOH 6 M. Aduk. Kemudian tempatkan tabung reaksi di dalam penangas air 60°C selama 3 atau 4 menit, dan sambil tabung reaksi masih di dalam penangas air, tambahkanlah larutan I₂/KI tetes demi tetes sambil digoyang/diaduk (untuk hal ini, keluarkan sebentar tabung reaksi, lalu masukkan kembali ke dalam penangas), sampai warna coklatnya bertahan selama 2 menit di dalam tabung. Tambahkan larutan NaOH 6 M tetes demi tetes sambil digoyang, sampai warna coklat menghilang. Tetap simpan tabung reaksi dalam penangas air selama 5 menit.

Lalu keluarkan tabung reaksi dari penangas dan amati isinya, apakah terdapat endapan kuning dari iodoform, yang menunjukkan keberadaan asetaldehid atau suatu metal keton. Catat hasilnya.

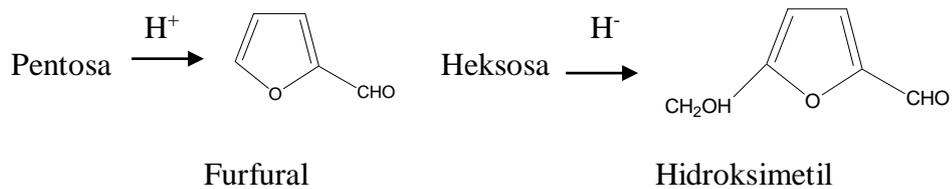
4. Uji 2,4- Dinitrofenilhidrazin

Tambahkan 20 tetes 2,4-dinitrophenilhidrazin ke dalam setiap tabung reaksi yang mengandung sampel yang diuji. Jika endapan tidak segera muncul, panaskan selama 5 menit di dalam penangas air 600C. Catat hasil pengamatan Anda. Identifikasi sampel tak dikenal yang Anda uji, berdasarkan data yang Anda peroleh, apakah senyawa tersebut termasuk aldehid atau keton, berikan penjelasannya!

Karbohidrat

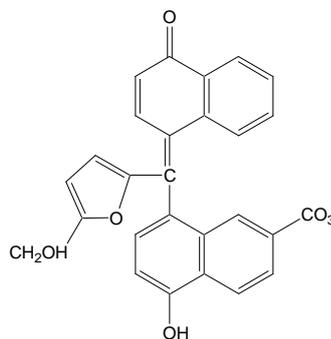
1. Uji Molisch

Peraksi Molisch adalah larutan α -naftol dalam alkohol 95%. Pereaksi ini sangat efektif untuk uji senyawa-senyawa yang dapat didehidratasi oleh asam sulfat pekat menjadi senyawa furfural atau furfural yang tersubstitusi, seperti hidroksi metilfurfural.



furfural

Warna merah ungu yang terjadi disebabkan oleh kondensasi furfural atau turunannya dengan α -naftol yang menghasilkan senyawa berikut.



Selain itu furfural dapat berkondensasi dengan bermacam-macam senyawa fenol atau amin memberikan turunan yang berwarna. Uji Molisch adalah uji umum untuk karbohidrat walaupun hasilnya bukan merupakan reaksi yang spesifik untuk karbohidrat. Hasil yang negatif merupakan petunjuk yang jelas tidak adanya karbohidrat dalam sampel.

Pereaksi :

- Molisch : larutan 10 gr α -naftol kedalam 100 ml 95% etil alkohol
- 0,1 M sukrosa : larutan 34,2 gr sukrosa dalam air sampai volume 1000 ml
- 0,1 M glukosa : larutan 18 gr glukosa dalam air sampai volume 1000 ml
- 0,1 M arabinosa : larutan 15 gr arabinosa dalam air sampai volume 1000 ml
- 0,1 M maltosa : larutan 36 gr maltosa dalam air sampai volume 1000 ml

Prosedur :

1. Tambahkan 3 tetes pereaksi Molisch ke dalam 1 ml larutan karbohidrat, kocok pelam-pelan.
2. Ke dalam tabung tersebut dia tas, tambahkan 1 ml asam sulfat pekat melalui dinding dalam tabung yang dimiringkan.
3. Terjadinya warna pada bidang batas antara kedua lapisan cairan menunjukkan reaksi positif.
4. Lakukan percobaan dari tahap (1) s/d tahap (3) masing-masing untuk larutan 0,1 M glukosa, sukrosa, maltosa, arabinosa, larutan 1% amilum dan slulosa (kapas) yang disuspensikan dalam air.

Pertanyaan :

1. Warna apa yang terlihat diantara permukaan kedua larutan tersebut.
2. Gugus apa dari karbohidrat yang memberikan uji Molisch positif.

2. Uji Benedict

Uji Benedict berdasarkan pada reduksi dari Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh karbohidrat yang mempunyai gugus aldehid atau keton bebas. Pereaksi Benedict mengandung CuSO_4 , Na_2CO_3 dan Na-sitrat. Pada proses reduksi dalam suasana basa biasanya ditambahkan zat pengompleks, seperti sitrat untuk mencegah terjadinya pengendapan CuCO_3 dalam

larutan natrium karbonat. Larutan tembaga alkalis dapat direduksi natrium karbohidrat yang mempunyai gugus aldehid bebas atau monoketo bebas.

Disakarida, seperti maltosa dan lakotsa dapat mereduksi larutan Benedict karena mempunyai gugus keto bebas. Uji Benedict dapat pula dipakai untuk menaksir konsentrasi karbohidrat bebas karena berbagai konsentrasi karbohidrat akan memberikan intensitas warna yang berlainan.

Pereaksi :

- Benedict : Campurkan 173 gr natrium sitrat dan 100 gr Na_2CO_3 anhidrat ke dalam 800 ml air, aduk, lalu saring. Kemudian kedalamnya tambahkan 17,3 gr tembaga sulfat yang telah dilarutkan dalam 100 ml H_2O . Volume total dibuat menjadi 1 liter dengan penambahan air.
- 0,1 M galaktosa : Larutkan 18 gr galaktosa dalam air sampai volume 1000 ml.
- 0,1 M fruktosa : Larutkan 18 gr fruktosa dalam air sampai volume 1000 ml.

Prosedur :

1. Tambahkan 5 tetes larutan karbohidrat pada tabung reaksi yang telah diisi dengan 2 ml reagen benedict, lalu dikocok. Tempatkan tabung dalam penangas air mendidih selama 5 menit, biarkan dingin. Amati perubahan warna dan perhatikan apakah terbentuk endapan.
2. Pembentukan endapan hijau, kuning, atau merah menunjukkan reaksi positif.
3. Lakukan percobaan tahap (1) s/d (2) untuk larutan 0,1 M glukosa, galaktosa, maltosa, sukrosa, fruktosa dan larutan 1% pati.
4. Ulangi percobaan tahap (1) s/d (2) untuk larutan 0,1 M glukosa yang diencerkan 2 kali, 10 kali, 50 kali dan 100 kali.

Bagaimana hasil uji Benedict dari pengenceran tersebut.

Pertanyaan :

1. Berapa kadar glukosa terendah yang masih dapat diamati dengan uji Benedict?
2. Senyawa apalagi selain Cu^{2+} yang dapat direduksi?
3. Apa fungsi dari natrium-sitrat ?

3. Uji Barfoed

Pereaksi Barfoed merupakan larutan tembaga asetat dalam air yang ditambahkan asam laktat. Pereaksi ini digunakan untuk membedakan monosakarida dan disakarida dengan jalan mengontrol kondisi – kondisi percobaan, seperti pH dan waktu pemanasan. Senyawa Cu^{2+} tidak membentuk $\text{Cu}(\text{OH})_2$ dalam suasana asam.

Pereaksi :

- Barfoed : Larutkan 48 gr kristal tembaga asetat dalam 900 ml air. Kedalamnya lalu tambahkan 50 ml asam laktat 8,5%. Selanjutnya tambahkan air sampai volume 1000 ml.
- 0,1 M laktosa : Larutkan 36 gr laktosa dalam air sampai 1000 ml.

Prosedur :

1. Tambahkan 1 ml larutan 0,1M glukosa kedalam tabung reaksi yang berisi 1 ml pereaksi Barfoed. Panaskan tabung tersebut di atas air mendidih selama 3 menit. Dinginkan selama 2 menit pada air mengalir.
2. Bila tidak terjadi reduksi selama 5 menit, lakukan pemanasan selama 15 menit sampai terlihat adanya reduksi.
3. Ulangi percobaan tahap (1) s/d (2) masing-masing untuk larutan 0,1M fruktosa, laktosa, maltosa dan sukrosa.

Pertanyaan :

1. Larutan karbohidrat mana yang mereduksi ?
2. Mengapa pemanasan tidak terlalu lama?

3. Dapatkah reagen Barfoed digunakan untuk mengganti uji Benedict dalam penentuan kadar gula urine.

4. Uji Seliwanoff

Uji seliwanof merupakan uji spesifik untuk karbohidrat golongan ketosa. Uji ini didasarkan atas terjadinya perubahan fruktosa oleh asam klorida panas menjadi asam levulonat dan 4-hidroksimetilfurfural, yang selanjutnya terjadi kondensasi hidroksimetilfurfural dengan resorsinol yang menghasilkan suatu senyawa yang berwarna merah.

Disakarida sukrosa yang mudah dihidrolisa menjadi glukosa dan fruktosa memberi reaksi positif dengan uji Seliwanoff. Glukosa dan karbohidrat lain dalam jumlah banyak dapat juga memberi warna yang sama.

Pereaksi :

- Seliwanoff : Larutkan 0,05 gram resorsinol dalam 100 ml asam HCl encer (satu bagian HCl pekat dengan dua bagian air)

Prosedur :

1. Kedalam tabung reaksi yang telah diisi dengan 2 ml larutan Seliwanoff tambahkan beberapa tetes larutan 0,1 M fruktosa.
2. Taruh tabung di dalam penangas air mendidih selama 60 detik. Perhatikan perubahan warna yang terjadi.
3. Ulangi percobaan tahap (1) s/d (2) -masing untuk larutan 0,1M glukosa, dan sukrosa. Ulangi untuk glukosa dengan volume yang lebih besar misalnya 1-2 ml.
4. Terjadinya perubahan warna merah dan endapan menunjukkan reaksi positif untuk ketosa, bila endapan dilarutkan dalam alkohol terjadi larutan berwarna merah.

Pertanyaan :

1. Larutan apa yang memberi uji Seliwanoff positif tercepat?
2. Dapatkah uji ini digunakan untuk membedakan sukrosa dan fruktosa?

5. Reaksi Pati dengan Iodium

Pati dengan Iodium membentuk kompleks yang berwarna biru. Akan tetapi struktur atau ikatan antara iodium dengan pati belum diketahui dengan pasti. Dektrin dengan Iodium akan menghasilkan warna merah anggur.

Pereaksi :

- 1% pati : Larutkan 10 gr pati dalam air dingin hingga menjadi pasta, masukkan kedalam air mendidih sambil dikocok. Panaskan hingga larutan menjadi bening dan encerkan hingga 1000 ml dengan air. Tambahkan sedikit Toluena.
- 0,05 M Iodium : Larutkan 10 gr KI dalam satu liter air. Kemudian tambahkan 2,5 gr Iodium dan aduk.
- 2 N NaOH : Larutkan 80 gr NaOH dalam 1 liter air.

Prosedur :**A. Menggunakan keping tetes :**

1. Pada keping tetes, tambahkan 1 tetes larutan Iodium pada 1 tetes larutan 1% pati. Segera amati warna, kemudian tambahkan 1 tetes larutan 2N NaOH dan terakhir tambahkan 1 tetes 2N HCl, segera perhatikan perubahan warna yang terjadi.
2. Tambahkan 1 tetes larutan Iodium pada 1 tetes larutan 1% pati. Amati segera warna yang terjadi, kemudian tambahkan 1 tetes larutan 2N HCl dan terakhir tambahkan 1 tetes larutan 2N NaOH, segera perhatikan perubahan warna yang terjadi

B. Menggunakan tabung reaksi :

1. Ke dalam 1 ml larutan 1% pati ditambahkan 2 tetes larutan Iodium. Panaskan, kemudian dinginkan kembali. Perhatikan baik-baik perubahan warna yang terjadi.
2. Tambahkan 2 tetes larutan Iodium ke dalam 1 ml larutan 1% pati. Lalu tambahkan tetes demi tetes larutan thiosulfat sampai warna hilang.

Pertanyaan :

1. Jelaskan terjadinya perubahan warna tersebut !
2. Tuliskan reaksi antara Iodium dengan tiosulfat !

Lipid

1. Uji Kelarutan :

Uji kelarutan lemak/lipid dapat dilakukan dengan menambahkan sedikit contoh lemak kedalam beberapa mL pelarut lemak dan kemudian diselidiki kelarutannya. Derajat kelarutan dapat ditentukan secara langsung yaitu dengan mengidentifikasi lemak tersebut setelah dikeringkan atau larutan yang pelarutnya diuapkan di atas penangas air yang mendidih. Ada atau tidak adanya sisa memperlihatkan bahwa zat tersebut dapat atau tidak dapat larut dalam pelarut itu.

Prosedur :

1. Sediakan 4 tabung reaksi dan tambahkan ke dalamnya,

Tabung 1 : tambahkan 2 mL air

Tabung 2 : tambahkan 2 mL alkohol dingin

Tabung 3 : tambahkan 2 mL alkohol panas

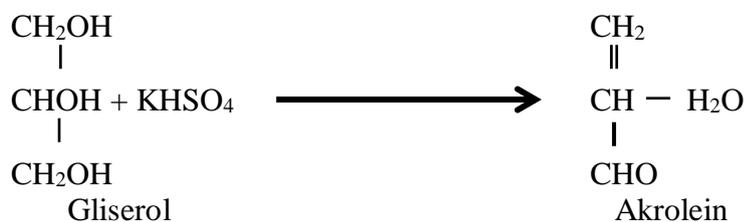
Tabung 4 : tambahkan 2 mL kloroform

Kemudian masukan ke dalam tiap tabung 0,2 mL minyak goreng, kocok hati-hati.

2. Ambil 2-3 tetes masing-masing tabung diatas dan teteskan pada kertas saring, adanya noda yang tertinggal pada kertas saring menunjukkan lemak/ lipid yang larut pada pelarut.

2. Uji Akrolein :

Gliserol di dehidratasi dengan KHSO_4 anhidrat membentuk suatu aldehyd tak jenuh yaitu akrolein.



Akrolein mempunyai bau yang tak sedap yang karakteristik

Prosedur :

1. Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering, lalu kedalam masing-masing tabung masukkan 10 tetes olive oil, gliserol atau sedikit asam palmitat.
2. Kedalam masing-masing tabung tambahkan sejumlah volume yang sama KHSO_4 , lalu dipanaskan pelen-pelan langsung diatas api. Perhatikan bau akrolein yang menusuk hidung. Jangan dikacaukan antara bau akrolein dan bau SO_2

3. Uji Liberman-Burchrad

Reaksi ini merupakan reaksi yang spesifik untuk kolesterol.

Prosedur :

1. Sedikit kolesterol (air kaldu) larutkan dalam kloroform sampai larut semuanya.
2. Tambahkan 10 tetes asam asetat anhidrid dan dua tetes asam sulfat pekat, kocok perlahan-lahan dan biarkan beberapa menit. Perhatikan perubahan warna.

Pertanyaan :

1. Bagaimana warna dalam tabung dan jelaskan, tuliskan rumus kolesterol!
2. Berikan alasan mengapa reaksi warna ini berguna untuk penentuan kuantitatif!

Protein

1. Uji Ninhidrin

Semua asam amino bereaksi dengan triketohidrin hidrat (ninhidrin) membentuk senyawa aldehid yang lebih rendah disertai pembebasan karbon dioksida dan amonia. Dihasilkan warna biru (warna kuning untuk prolin dan hidrosiprolin).

Senyawa amonia yang kuat, amin, hampir semua peptida dan protein memberikan reaksi yang sama meskipun tidak membebaskan amoniak atau karbondioksida. Asam amino dapat ditentukan secara kuantitatif dengan jalan mengamati intensitas warna yang terbentuk yang sebanding dengan konsentrasi dari asam amino tersebut.

Pereaksi :

- Buffer asetat pH 5 :
Campurkan 59 ml 0,1N asam asetat dengan 141 ml 0,1N natrium asetat.
- Larutan ninhidrin dalam aseton :
Larutkan 0,1 gr ninhidrin dalam 100 ml aseton.

Prosedur

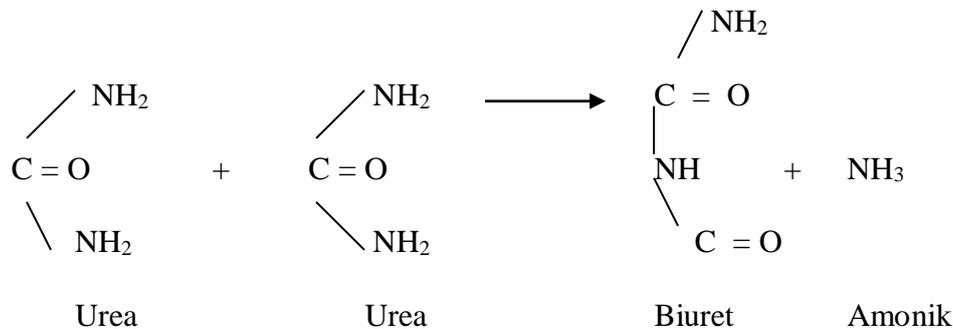
1. Kedalam 0,1 ml larutan 2% albumin (putih telur) tambahkan 1 ml 0,1N larutan buffer asetat pH 5 dan kemudian tambahkan 20 tetes larutan ninhidrin dalam aseton.
2. Panaskan campuran tersebut diatas penangas air mendidih selama beberapa menit, perhatikan warna yang terjadi.

Pertanyaan :

1. Bagaimana warna dan senyawa yang terbentuk ?
2. Gugus apa yang memberikan uji positif ?
3. Bagaimana persamaan reaksinya ?

2. Uji Biuret

Larutan protein dalam basa kuat yang diberi beberapa tetes larutan CuSO_4 encer akan membentuk warna ungu dan reaksi ini dinamakan reaksi Biuret. Senyawa Biuret dihasilkan dengan memanaskan urea pada suhu kira-kira 180°C .



Reaksi Biuret terjadi karena pembentukan kompleks Cu^{2+} dengan gugus $-\text{CO}$ dan $-\text{NH}$ dari rantai peptida dalam suasana basa. Dipeptida dan asam-asam amino (kecuali histidin, serin dan tirosin) tidak memberikan reaksi positif terhadap uji ini.

Pereaksi :

- 10% NaOH : Larutkan 10 gr dalam 100 ml air.
- 0,1% CuSO_4 : Larutkan 0,1 gr dalam 100 ml air.

Prosedur :

1. Kedalam tabung reaksi tambahkan 1 ml 2% albumin (putih telur) dan 1 ml 10% NaOH, aduk kuat-kuat. Tambahkan 1 tetes 0,1% CuSO_4 , aduk baik-baik. Jika tidak timbul warna tambahkan lagi beberapa tetes CuSO_4 sampai terbentuk warna ungu.
2. Kedalam tabung reaksi masukkan urea sedikit dan panaskan hingga melebur. Dinginkan dan perhatikan baunya. Larutkan urea yang telah didinginkan tersebut diatas dengan air, kemudian lakukan reaksi biuret seperti cara 1.

Pertanyaan :

1. Warna dan senyawa kompleks apa yang terjadi ?
2. Mengapa harus dihindari kelebihan dari CuSO_4 ?

3. Diantara senyawa berikut ini manakah yang memberikan reaksi Biuret positif dan mana yang negatif : albumin, kasein, gelatin, pepton, dipeptida dan asam amino.

3. Pengendapan dengan logam berat

Kation-kation logam berat seperti Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Au^+ , Pt^+ , dll, dapat mengendapkan protein dalam suasana basa. Kation besar dapat merusak muatan negatif dari protein sehingga terjadi pengendapan. Ion-ion ini juga dapat mendenaturasi protein karena bereaksi dengan gugus $-\text{SH}$ membentuk sulfida.

Pereaksi :

- 0,2% CuSO_4 : larutkan 0,2 gr CuSO_4 dalam 100 ml air.
- 2% Pb-asetat : larutkan 2 gr Pb-asetat dalam 100 ml air.
- 2% HgCl_2 : larutkan 2 gr HgCl_2 dalam 100 ml air.
- 2% FeCl_3 : larutkan 2 gr FeCl_3 dalam 100 ml air.
- 2% CuSO_4 : larutkan 2 gr CuSO_4 dalam 100 ml air.

Prosedur :

1. Kedalam 1 ml larutan albumin (putih telur) tambahkan tetes demi tetes 0,2 % larutan CuSO_4 hingga terjadi endapan. Perhatikan perubahan yang terjadi pada setiap kali penetesan. Perhatikan pula apakah endapan terbentuk, dan apakah endapan yang terbentuk larut kembali atau tambahkan dengan penambahan reagen yang berlebih.
2. Ulangi seperti pada tahap (1) untuk larutan 2% Pb-asetat, 2% HgCl_2 , 2% FeCl_3 dan 2% CuSO_4 .

Pertanyaan :

1. Bagaimana terjadinya proses pengendapan protein dengan logam ?
2. Terangkan mengapa putih telur digunakan sebagai antidote pada keracunan Pb atau Hg ?

4. Titik Isoelektrik Protein

Protein merupakan koloid hidrofil yang distabilkan oleh muatan dan interaksi protein dengan pelarut. Jika salah satu dari kedua faktor ini dihilangkan maka protein kadang-kadang dapat mengendap dan bila kedua faktor diatas dihilangkan maka protein selalu mengendap.

Pereaksi :

- 0,5% kasein : larutkan 0,5 gr kasein dalam 100 ml air
- Buffer asetat pH 6,0 : tambahkan 10 ml 0,1 N asam asetat kedalam 190 ml 0,1N natrium asetat.
- Buffer asetat pH 5,3 : tambahkan 29 ml 0,1 Nasam asetat kedalam 171 ml 0,1N natrium asetat.
- Buffer asetat pH 5,0 : tambahkan 59 ml 0,1 Nasam asetat kedalam 141 ml 0,1N natrium asetat.
- Buffer asetat pH 4,1 : tambahkan 147 ml 0,1 Nasam asetat kedalam 53 ml 0,1N natrium asetat.
- Buffer asetat pH 3,8 : tambahkan 176 ml 0,1 Nasam asetat kedalam 24 ml 0,1N natrium asetat.

Prosedur :

1. Kedalam 5 tabung reaksi masing-masing tambahkan 5 ml larutan 0,5% kasein (air susu). Selanjutnya pada kelima tabung tersebut tambahkan masing-masing buffer asetat pH 6,0; 5,3; 5,0; 4,1; dan 3,8.
2. Kocok campuran baik-baik serta catat derajat kekeruhan setelah: 0 menit, 10 menit, dan 30 menit.
3. Setelah 30 menit kelima tabung di atas dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit. Pembentukan endapan/ kekeruhan paling cepat terjadi dekat titik isoelektrik larutan protein. Perhatikan apa yang terjadi dan catat.

Pemisahan dan pemurnian Zat Cair (Destilasi dan Indeks Bias)

I. Tujuan

Mahasiswa diharapkan dapat menjelaskan: 1) prinsip destilasi dan 2) pengertian campuran azeotrop. Selain itu, mahasiswa juga diharapkan terampil dalam: 1) mengkalibrasi termometer, 2) merangkai peralatan destilasi, 3) melakukan destilasi untuk pemisahan dan pemurnian, 4) melakukan analisis kemurniaan cairan dengan indeks bias.

II. Teori

Destilasi merupakan metode yang sangat baik untuk memurnikan zat cair. Suatu zat cair mengandung atom-atom atau molekul yang tersusun berdekatan namun masih dapat bergerak bebas dengan energi yang berlainan. Ketika suatu molekul zat cair mendekati perbatasan fasa uap-cair, maka molekul tersebut, jika memiliki energi yang cukup, dapat berubah dari fasa cair menjadi fasa gas. Hanya molekul-molekul yang memiliki energetika yang cukup yang dapat mengatasi gaya yang mengikat antarmolekul dalam fasa cair sehingga dapat melepaskan diri ke dalam fasa gas.

Beberapa molekul yang berada dalam fasa uap di atas zat cair, ketika mendekati permukaan zat cair tersebut, dapat memasuki fasa cair kembali sehingga menjadi bagian dari fasa yang terkondensasi.

Pada saat proses ini terjadi, molekul-molekul tersebut memperkecil energi kinetiknya, sehingga gerakannya lebih lambat. Pemanasan terhadap zat cair menyebabkan banyak molekul memasuki fasa uap; proses pendinginan uap merupakan kebalikan dari proses ini.

Ketika sistem berada dalam kesetimbangan, karena banyak molekul zat cair yang memasuki fasa uap dan kemudian kembali lagi dari fasa uap menjadi cair, maka dapat terukur tekanan uapnya. Jika sistem tetap bertahan dalam kesetimbangan, bahkan ketika energinya dinaikkan, banyak molekul dalam fasa cair akan memiliki energi yang mencukupi untuk berubah menjadi fasa uap. Walaupun banyak molekul yang juga kembali dari fasa uap ke dalam fasa cair, namun jumlah molekul dalam fasa uap bertambah dan tekanan uap akan naik. Jumlah molekul dalam fasa uap sangat bergantung pada suhu, tekanan dan kekuatan gaya tarik antarmolekul di dalam fasa cair dan volume sistem.

Distilasi Sederhana adalah proses distilasi yang tidak melibatkan kolom fraksinasi atau proses yang biasanya untuk memisahkan salah satu komponen zat cair dari zat-zat non-volatil atau zat cair lainnya yang perbedaan titik didihnya paling sedikit 75°C. Kondensat pada dasarnya akan memiliki perbandingan mol fasa cair yang sama dengan fasa uap pendidihan dari fasa cairnya. Distilasi sederhana tidak efektif untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran yang perbedaan titik didihnya tidak terlalu besar.

Distilasi Bertingkat: Jika suatu kolom fraksinasi digunakan dalam perangkat distilasi (lihat Gambar 7), maka pemisahan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih berdekatan dapat dipisahkan dengan baik.

Kolom fraksinasi biasanya diisi dengan material berpori yang menyediakan luas permukaan yang lebih besar untuk proses kondensasi berulang. Pengembunan uap bertitik didih lebih tinggi melepaskan kalor yang menyebabkan penguapan zat cair bertitik didih lebih rendah pada kolom, sehingga komponen bertitik didih rendah ini bergerak ke atas menuju kolom, sementara komponen bertitik didih tinggi bergerak ke bawah ke arah kondensor, walaupun sebagian kecil ada yang kembali turun ke dalam labu distilasi. Setiap proses siklus pengembunan/penguapan menghasilkan fasa uap akan lebih kaya dengan fraksi uap komponen yang lebih volatil.

III. Alat dan Bahan

Alat: Alat destilasi lengkap, Termometer, Gelas kimia 500 ml, Batu didih, dan Refrakrometer

Bahan: Methanol, Aquadest, Es batu, Sikloheksena, Toluena, dan Benzene

IV. Prosedur

Perhatian! Dalam setiap pengerjaan distilasi, labu tidak boleh terisi oleh senyawa yang akan dipisahkan lebih dari $\frac{1}{2}$ isi labu!!!! Jangan sampai Anda melakukan distilasi sampai kering!! Akan selalu ada kemungkinan terdapat zat cair tertentu yang bersifat eksplosif dan mudah terbakar, jadi, berhati-hatilah, jangan biarkan ada api terbuka di sekitar zat-zat tersebut! Bekerjalah dengan hati-hati dan tidak bermain-main!

a. *Distilasi biasa*

Pasang peralatan distilasi sederhana Masukkan 400 mL campuran etanol-air (1:1) ke dalam labu (jumlah maksimum setengah volume labu). Masukkan beberapa potong batu didih ke dalam labu. Mulai lakukan pemanasan dengan api yang diatur perlahan naik sampai mendidih. Atur pemanasan agar supaya distilat menetes secara teratur dengan kecepatan satu tetes per detik. Amati dan catat suhu dimana tetesan pertama mulai jatuh. Penampung diganti dengan yang bersih, kering dan berlabel untuk menampung distilat murni, yaitu distilat yang suhunya sudah mendekati suhu didih sebenarnya sampai suhunya konstan. Catatlah suhu dan volume distilat secara teratur setiap selang jumlah penampungan distilat tertentu, misalnya

setiap 5 mL penampungan distilat sampai sisa yang didistilasi tinggal sedikit (jangan sampai kering).

b. *Distilasi bertingkat*

Pasang peralatan distilasi bertingkat masukkan 400 mL campuran etanol-air (1:1) ke dalam labu (jumlah maksimum setengah volume labu). Masukkan beberapa potong batu didih ke dalam labu. Lakukan proses distilasi sampai seperti proses pengerjaan distilasi sederhana.

Lakukan pengukuran indeks bias untuk semua hasil distilasi dan senyawa murni. Bandingkan!

Pemisahan dan Pemurnian Zat Padat (Rekristalisasi & Titik Leleh)

I. Tujuan

Mahasiswa diharapkan dapat : 1) melakukan rekristalisasi dengan baik; 2) memilih pelarut yang sesuai untuk rekristalisasi; 3) menjernihkan dan menghilangkan warna larutan; dan 4) memisahkan dan memurnikan campuran dengan rekristalisasi.

II. Teori

A. Rekristalisasi

Rekristalisasi adalah suatu metoda untuk pemurnian senyawa padatan yang sering dihasilkan dan reaksi-reaksi organik. Rekristalisasi bergantung pada tiga fenomena :

1. suatu senyawa yang hampir selalu lebih mudah larut dalam suatu pelarut panas dibandingkan dengan dalam pelarut dingin.
2. kelarutan dan senyawa itu dan pengotor-pengotor biasanya tidak bergantung satu sama lain
3. kristal yang tumbuh biasanya tidak akan menerima molekul asing ke dalam kisi-kisinya kecuali molekul asing itu mempunyai ukuran yang sama, menunjukkan antaraksi elektrostatik yang sama dan berorientasi sendiri dalam kisi-kisi dalam cara yang sama seperti molekul-molekul padat murni.

Teknik umum metoda rekristalisasi adalah dengan melarutkan senyawa asal dalam pelarut panas pada titik didihnya, campuran panas itu disaring untuk memisahkan pengotor-pengotor yang tidak larut dan selanjutnya larutan itu dibiarkan dingin. Setelah dingin terjadilah rekristalisasi. Kristal dikumpulkan dengan saringan Buchner, dicuci dengan pelarut segar dan dingin dan dikeringkan untuk menghilangkan runtuhan terakhir dari pelarut itu.

Pemilihan pelarut untuk rekristalisasi sangat penting, pelarut yang terbaik adalah pelarut dimana senyawa yang dimurnikan hanya larut sedikit pada suhu kamar tetapi mudah larut pada suhu tinggi, misalnya pada titik didih pelarut itu. Pelarut itu harus melarutkan secara mudah pengotor-pengotor dan pelarut itu juga mudah menguap, sehingga dapat dipisahkan secara mudah dan materi yang dimurnikan.

B. Titik Leleh

Titik leleh adalah suhu dimana padatan berubah menjadi cairan dibawah total satu atmosfer. Pada titik leleh tekanan uap dari fasa padat sama dengan tekanan uap dari fase cair, yang dinamakan mencair, sehingga fase padat dan fase cair benar-benar dalam kesetimbangan satu sama lain. Untuk

zat murni titik leleh biasanya tajam, jadi rentang pelelehan dari 0,5° C sampai 1,0° C. Karena ketajaman dalam pelelehan ini, titik leleh dapat digunakan sebagai suatu kriteria dari kemurnian atau sebagai identifikasi suatu padatan.

Adanya suatu pengotor yang sedikit larut dalam padatan yang meleleh biasanya akan menghasilkan suatu daerah pelelehan yang besar dan menurunkan suhu dimana pelelehan terjadi.

III. Alat dan Bahan

Alat : Gelas kimia, erlenmeyer, corong saring, corong buchner, thermometer, spatula, batang pengaduk, kaki tiga, lampu spirtus, kawat kasa, melting-block, dan pipa kapiler

Bahan: Asam benzoat, aquadest, dan es batu

IV. Prosedur

A. Kalibrasi termometer

Mengkalibrasi titik skala 100 termometer dilakukan sebagai berikut: isikan ke dalam tabung reaksi besar 10 mL aquades, masukkan sedikit batu didih. Klem tabung tersebut tegak lurus, panaskan perlahan sampai mendidih. Posisikan termometer pada uap di atas permukaan air yang mendidih tersebut. Untuk menentukan titik didih yang sebenarnya dari air, harus diperiksa tekanan barometer.

B. Kristalisasi Asam Benzoat dalam air

Timbang 2 g asam benzoat kotor, masukkan dalam gelas kimia 100 mL, lalu masukkan sedikit demi sedikit sambil diaduk pelarut (air) dalam keadaan panas sampai asam benzoat tepat larut. Setelah semua senyawa larut, tambahkan sedikit berlebih beberapa mL pelarut panas. Didihkan campuran ini diatas kasa asbes dengan menggunakan pembakar bunsen (api jangan terlalu besar). Kepada campuran panas tambahkan sedikit demi sedikit, hati-hati, sambil diaduk dengan kaca pengaduk, sekitar 0,5 gram karbon (charcoal) atau norit untuk menghilangkan warna. Didihkan beberapa saat supaya penyerapan warna lebih sempurna. Siapkan corong penyaring kaca tangkai pendek, lengkapi dengan kertas saring lipat (*lihat gambar dan pelajari cara membuatnya!*). Pasang labu erlenmeyer bersih untuk menampung filtrat panas. Dalam keadaa panas, tuangkan larutan ke dalam/atas corong secepat mungkin (jangan sampai dingin).

Jika larutan menjadi dingin dan mengkristal, ulangi pemanasan di atas kasa, dan ulangi penyaringan, sampai semua larutan tersaring. Biarkan filtrat dingin dengan penurunan suhu secara perlahan (diudara terbuka) dan jangan diganggu atau diguncang. Jika sudah lama belum terbentuk kristal, bisa didinginkan erlenmeyer disiram di bawah curahan air kran atau direndam dalam air es. Bila di dalam air es belum juga terbentuk kristal berarti larutannya kurang jenuh, maka jenuhkan dengan cara penguapan sebagian

Ekstraksi (Ekstraksi dan Pemurnian Kafein Pada Teh)

I. Tujuan

Ekstraksi dan pemurnian kafein dari teh celup dengan metode ekstraksi cair-cair.

II. Teori

Isolasi suatu produk alam yang murni dan bahan tumbuhan atau hewan merupakan perhatian utama dalam proses kimia organik. Teknik dasar pemisahan dan pemurnian yang umum digunakan meliputi: ekstraksi, rekristalisasi, destilasi, sublimasi dan kromatografi. Kemurnian hasil isolasi dapat diuji dengan pengukuran; titik didih, kromatografi lapis tipis atau kromatografi gas.

Ekstraksi digunakan dalam kimia untuk memisahkan suatu produk organik dari suatu campuran reaksi, untuk memisahkan pengotor-pengotor yang larut dari campuran dan untuk mengisolasi zat-zat yang dijumpai di alam.

Proses pemisahan suatu senyawa organik dan larutan biasanya dilakukan melalui ekstraksi dengan suatu pelarut yang tak tercampurkan. Secara khas suatu larutan air atau suspensi dikocok dengan suatu pelarut organik yang tak bercampur dengan air dan lapisan-lapisan dibiarkan memisah. Zat terlarut akan terdistribusi masing-masing diantara air dan lapisan organik sesuai dengan kelarutannya.

Misalnya garam-garam anorganik yang hampir secara total tak dapat larut dalam pelarut-pelarut organik biasa masuk ke dalam lapisan air, sedangkan senyawa-senyawa yang tidak membentuk ikatan hidrogen yang benar-benar tak larut dalam air terlihat dalam lapisan organik.

Prinsip yang mendasari ekstraksi cair-cair adalah hukum distribusi "Dalam larutan encer, suatu zat akan terdistribusi masing-masing antara dua pelarut yang tidak tercampurkan dengan perbandingan konsentrasi yang selalu tetap". Perbandingan untuk distribusi dan suatu zat terlarut antara dua pelarut pada kesetimbangan dinamakan koefisien distribusi, K_D .

$$K_D = \frac{C_1}{C_2}$$

C_1 dan C_2 adalah kadar senyawa terlarut dalam pelarut 1 dan 2. seringkali sebagai pelarut pertama adalah air dan pelarut kedua adalah pelarut organik yang tidak tercampur dengan air. Dengan demikian ion anorganik atau senyawa organik polar sebagian besar akan terdapat dalam fasa pertama, sedangkan senyawa organik nonpolar sebagian besar akan terdapat dalam fasa ke dua. Hal ini dikatakan *like dissolve like* yang berarti senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, dan sebaliknya.

Jika koefisien distribusi sangat besar (lebih dari 1000), penyarian sekali dengan corong pisah telah memungkinkan hampir semua senyawa terlarut

telah terisolasi, sedangkan untuk yang lebih kecil diperlukan proses ekstraksi berulang.

Pemisahan kafein dan kopi atau teh, trimiristin dan pala dan piperin dan lada adalah tiga contoh ekstraksi dari zat yang terdapat di alam dan campuran. Air, alkohol-alkohol hidrokarbon terklorinasi, eter dan aseton adalah pelarut-pelarut yang umum digunakan untuk tujuan ini.

III. Prosedur

Pada labu erlenmeyer 500 mL masukkan 30 gr teh kering (2 bungkus teh celup), tambahkan 300 mL aquadest dan 15 gr kalsium karbonat. Panaskan selama 20 menit sambil sesekali dikocok (jangan sampai bungkus teh robek). Angkat teh, tekan-tekan hingga sedapat mungkin air dipisahkan dari tehnya.

Dinginkan filtrat diatas, masukkan dalam corong pisah dan ekstraksi dengan 25 mL kloroform atau MTC (goyang-goyang campuran tersebut secara perlahan, jangan sampai terbentuk emulsi dan buang udara sesekali), keluarkan fase organik tampung dalam gelas piala. Fase air ekstraksi sekali lagi dengan pelarut organik 25 mL, keluarkan fase organik dan satukan dengan yang pertama, tambahkan NaSO_4 sebanyak 0,5 gr. Dekantasi larutan pelarut organik ke dalam gelas piala dan masukkan *boiling chip* kemudian uapkan pelarut organik (hati-hati bila menggunakan kloroform karena bersifat hepatotoksik) sampai diperoleh krud putih kafein.

Proses pemurnian kaffein dilakukan dengan melarutkan kaffein dalam ± 4 mL benzen panas (hati-hati benzen mudah terbakar), saring larutan panas dan biarkan dingin dengan dan hindarkan dari goyangan. Setelah kristal terbentuk simpan labu dalam es. Kumpulkan kristal dengan saringan Buchner, keringkan dengan diangin-angin, timbang.

Esterifikasi Fenol (Sintesis Aspirin)

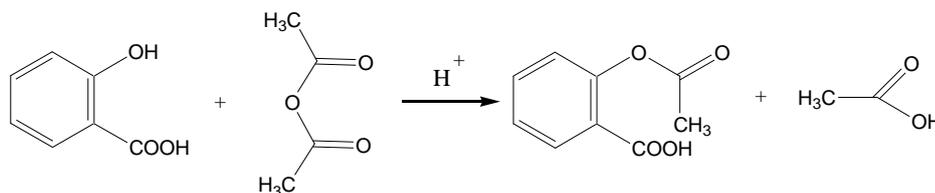
I. Tujuan
Sintesis (membuat) Aspirin

II. Teori

Asam salisilat (o-hidroksi asam benzoat) telah lama digunakan sebagai obat baik dalam bentuk garam natrium atau sebagai ester. Salisilat adalah obat antipiretik yaitu penurun suhu tubuh untuk orang yang mengalammi demam, tetapi salisilat efeknya menurun dalam temperatur kamar. Salisilat juga berfungsi sebagai analgetik atau penghilang rasa sakit.

Natrium salisilat dapat mengiritasi lambung bila digunakan dalam pemakaian oral, karena itu saat ini bentuk ester lebih banyak digunakan dibanding bentuk bebas atau garam. Ester salisilat dapat lewat di lambung dan baru akan mengalami hidrolisis dalam suasana basa dalam intestin, berubah menjadi asam salisilat kembali.

Aspirin adalah turunan salisilat yang paling banyak digunakan saat ini. Aspirin adalah garam natrium dari asam asetilsalisilat, dimana gugus fenol diubah menjadi aster asetat. Aspirin dapat dibuat dari asam salisilat dan asam asetat anhidrid :



Dalam pembuatan digunakan panas dengan katalis asam sulfat pekat. Aspirin sedikit larut dalam air dengan kelarutan 0,25g/100ml, sehingga aspirin dapat diisolasi dari campuran reaksi dengan menambahkan air.

III. Prosedur

Asam salisilat 10g dan 15g (14ml) asam asetat anhidrid masukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan 5 tetes asam sulfat pekat, kocok hingga tercampur. Panaskan erlemeyer dalam penangas air pada suhu 50-60⁰C sekitar 15 menit. Campuran dinginkan dengan cara memasukkan erlenmeyer dalam bak berisi air dingin, sesekali kocok campuran supaya proses pendinginan cepat dan merata. Tambahkan 150 ml aquadest ke dalam erlenmeyer, saring hasil yang diperoleh dengan saringan Buchner (timbang dahulu kertas saring yang akan digunakan). Keringkan aspirin yang diperoleh dengan cara diangin-anginkan. Aspirin kering timbang beserta kertas saringnya. Hitung rendemen yang diperoleh.

Pengujian kemurnian Aspirin:

Ambil seujung spatel crude yang diperoleh, masukkan kedalam tabung reaksi. Larutkan crude dengan penambahan etanol 1 ml, kemudian uji dengan FeCl_3 . Bila terbentuk warna ungu artinya aspirin masih terkontaminasi oleh asam salisilat. (FeCl_3 membentuk kompleks dengan gugus fenol)

Kromatografi

(Kromatografi Lapis Tipis, Kromatografi Kolom, Kromatografi Kertas)

I. Tujuan

Mahasiswa harus dapat:

1. Melakukan dan menjelaskan teknik-teknik dasar kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi kertas.
2. Menjelaskan Prinsip dasar kromatografi
3. Melakukan isolasi campuran senyawa sampai pemurniannya secara kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi kertas.

II. Teori

Kromatografi adalah suatu metode yang digunakan ilmuwan untuk memisahkan senyawa organik dan anorganik sehingga senyawa tersebut dapat dianalisis dan dipelajari. Kromatografi digunakan oleh berbagai orang dan disiplin ilmu di dalam berbagai bidang. Sebagian orang menggunakan kromatografi untuk mengetahui komponen apa saja yang terdapat dalam suatu zat padat atau zat cair.

Metode kromatografi adalah cara pemisahan dua atau lebih senyawa atau ion berdasarkan pada perbedaan migrasi dan distribusi senyawa atau ion tersebut di dalam dua fasa yang berbeda. Dua fasa ini bisa berwujud padat-cair, cair-cair, atau gas-cair. Zat terlarut di dalam suatu fasa gerak mengalir pada suatu fasa diam. Zat terlarut yang memiliki afinitas terhadap fasa gerak yang lebih besar akan tertahan lebih lama pada fasa gerak, sedangkan zat terlarut yang afinitasnya terhadap fasa gerak lebih kecil akan tertahan lebih lama pada fasa diam. Dengan demikian senyawa-senyawa dapat dipisahkan komponen demi komponen akibat perbedaan migrasi di dalam fasa gerak dan fasa diam. Dalam semua metode kromatografi terdapat fasa gerak dan fasa diam. Fasa diam adalah fasa yang tidak bergerak, sedangkan fasa gerak adalah fasa yang bergerak melalui fasa diam dan membawa komponen-komponen senyawa yang akan dipisahkan. Pada posisi yang berbeda-beda, senyawa-senyawa yang berbeda akan tertahan dan terabsorpsi pada fasa diam, dan kemudian satu demi satu senyawa-senyawa ini akan terbawa kembali oleh fasa gerak yang melaluinya.

Dalam kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis, fasa gerak adalah pelarut. Fasa diam pada kromatografi kertas adalah kertas yang menyerap pelarut polar, sedangkan fasa diam pada kromatografi lapis tipis adalah pelat yang dilapisi adsorben tertentu. Kedua jenis kromatografi ini menggunakan aksi kapilaritas untuk menggerakkan pelarut melalui fasa diam.

- **Fasa Diam**

Silika gel, fasa diam yang paling umum digunakan sebagai fasa diam, memiliki rumus empiris SiO_2 . Tetapi, pada permukaan partikel silika gel, terdapat atom-atom oksigen yang terikat pada proton. Adanya gugus hidroksil ini mengakibatkan permukaan silika gel sangat polar, sehingga analit organik yang memiliki gugus fungsi polar akan terikat dengan kuat pada permukaan partikel silika gel dan senyawa yang non polar hanya berinteraksi lemah dengan silika gel. Molekul yang memiliki gugus fungsi polar dapat terikat pada silika gel dalam dua cara: melalui ikatan hidrogen dan melalui interaksi dipol-dipol.

- **Fasa Gerak**

Pada kromatografi yang menggunakan silika gel sebagai fasa diam, fasa gerak yang digunakan adalah suatu pelarut organik atau campuran beberapa pelarut organik. Ketika fasa gerak melalui permukaan silika gel, fasa gerak ini membawa analit organik melalui partikel-partikel pada fasa diam. Tetapi, molekul analit hanya bebas bergerak oleh adanya pelarut apabila molekul tersebut tidak terikat pada permukaan silika gel.

Kemampuan suatu analit terikat pada permukaan silika gel dengan adanya pelarut tertentu dapat dilihat sebagai penngabungan 2 interaksi yang saling berkompetisi. Pertama, gugus polar dalam pelarut dapat berkompetisi dengan analit untuk terikat pada permukaan silika gel. Dengan demikian, jika pelarut yang sangat polar digunakan, pelarut akan berinteraksi kuat dengan permukaan silika gel dan hanya menyisakan sedikit tempat bagi analit untuk terikat pada silika gel.

Akibatnya, analit akan bergerak cepat melewati fasa diam dan keluar dari kolom tanpa pemisahan. Dengan cara yang sama, gugus polar pada pelarut dapat berinteraksi kuat dengan gugus polar dalam analit dan mencegah interaksi analit pada permukaan silika gel. Pengaruh ini juga menyebabkan analit dengan cepat meninggalkan fasa diam.

Kepolaran suatu pelarut yang dapat digunakan untuk kromatografi dapat dievaluasi dengan memperhatikan tetapan dielektrik (ϵ) dan momen dipol (δ) pelarut. Semakin besar kedua tetapan tersebut, semakin polar pelarut tersebut. Sebagai tambahan, kemampuan berikatan hidrogen pelarut dengan fasa diam harus dipertimbangkan. Semua jenis kromatografi melibatkan proses kesetimbangan molekul-molekul yang dinamis dan cepat diantara 2 fasa (diam dan gerak). Kesetimbangan di antara kedua fasa tersebut bergantung pada 3 faktor yaitu : Kepolaran dan ukuran molekul yang akan dipisahkan, Kepolaran fasa diam, dan Kepolaran fasa gerak.

A. Kromatografi Lapis Tipis

1. Isolasi Kurkumin dari Kunyit dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Kunyit merupakan salah satu tumbuhan yang sudah sangat akrab dengan masyarakat Indonesia. Rimpang (*Rhizoma*) dari tumbuhan ini biasa digunakan sebagai bahan warna kuning dalam industri tekstil tradisional serta digunakan sebagai bumbu masakan, di samping kegunaannya dalam obat tradisional. Nama latin dari kunyit adalah *Curcuma longa* yang termasuk dalam famili Zingiberaceae (temu-temuan). Komponen aktif dari rimpang kunyit adalah kurkumin (*E,E*)-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-on) yang biasanya terdapat 1,5-2% dari berat rimpang kunyit kering. Struktur senyawa ini ditentukan tahun 1910 oleh V. Lampe dan merupakan *diarilheptanoid* yang pertama ditemukan. Kurkumin juga dapat disintesis di laboratorium. Kurkumin dilaporkan memiliki sifat antikanker dan antitumor

2. Alat dan Bahan

Cari dan susunlah sendiri peralatan dan zat yang digunakan sesuai dengan eksperimen yang dilakukan.

3. Prosedur

a. Cara Penyiapan Kromatografi Lapis Tipis

- Penotolan sampel pada pelat KLT

Tandai pelat menggunakan pensil dan penggaris untuk posisi tempat sampel ditotolkan, sekitar 1 cm dari bagian bawah pelat. Gunakanlah selalu pensil untuk memberi label sampel. Kemudian totolkan sampel di atas pelat menggunakan pipa kapiler sampai noda cukup tebal tetapi tidak melebar. Setelah noda pada pelat kering, masukkan pelat ke dalam wadah tertutup yang telah berisi pelarut yang sesuai. Sebelumnya pelarut dalam wadah dijenuhkan terlebih dahulu dengan menempatkan kertas saring di dalam wadah dan wadah harus tertutup. Kemudian biarkan pelarut menaiki pelat di dalam wadah perlahan sampai mencapai sekitar 0,5 cm dari bagian atas pelat. Selanjutnya keluarkan pelat dan biarkan pelarut mengering di udara.

Beberapa senyawa organik berwarna. Jika Anda beruntung memisahkan sampel yang berwarna, maka penampakan noda dengan mudah terlihat. Namun sebagian besar senyawa organik tak berwarna, oleh karena itu untuk penampakan noda diperlukan alat bantu. Biasanya pelat KLT menggunakan bahan indikator fluoresens yang dapat memancarkan warna biru keunguan di bawah lampu UV pada

panjang gelombang 254 nm. Senyawa yang menyerap sinar UV pada panjang gelombang tersebut akan memberikan penampakan noda di bawah lampu UV. Cara lain untuk penampakan noda adalah memasukkan pelat KLT ke dalam wadah berisi iod padat yang akan menyublim dan mengabsorpsi molekul organik pada fasa gas, sehingga akan terbentuk noda kecoklatan. Selain itu terdapat beberapa larutan penampak noda lain seperti serum sulfat, dan fosfomolibdat

b. Cara Kerja

20 g rimpang kunyit kering dalam 50 mL diklorometana direfluks selama 1 jam. Campuran kemudian segera disaring dengan saringan vakum hingga diperoleh larutan kuning. Larutan lalu dipisahkan melalui distilasi pada penangas air. Residu kuning kemerahan yang diperoleh kemudian dicampurkan dengan 20 mL n-heksana dan diaduk secara merata. Campuran kemudian disaring lagi dengan penyaring vakum. Padatan yang dihasilkan selanjutnya dianalisis dengan Kromatografi lapis tipis (TLC) menggunakan eluen $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH} = 97:3$ yang akan menunjukkan 3 komponen utama.

Hasil elusi dilihat di bawah lampu UV, kemudian pita komponen utamanya diberi tanda dengan ujung tumpul pipa kapiler. Bagian pita yang dipilih kemudian dipisahkan dari komponen lainnya dengan cara mengerok lapisan silika tersebut dan ditampung pada kertas. Pindahkan silika tersebut ke dalam gelas kimia, larutkan dengan diklorometana, kemudian saring dan cuci dengan pelarut yang sama. Ukur panjang Gelombangnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

B. Kromatografi Kolom

1. Pemisahan Pigmen plastida.

Plastid adalah salah satu organel pada sel-sel (tumbuhan dan alga). Organel ini paling dikenal dalam bentuknya yang paling umum, kloroplas, sebagai tempat berlangsungnya fotosintesis yang mengandung pigmen klorofil yang berwarna hijau pada daun. Selain kloroplas, pada daun terdapat juga kromoplas, yang mengandung pigmen Karoten dan xantofil. Adapun pigmen plastida pada sebagai berikut :

- Karoten : bersifat hidrofob, berwarna kuning tua (λ : 450 nm).
- Xantofil : turunan karoten yang mengandung gugus hidrofilik OH-), Berwarna kuning tua (λ : 410 nm).
- Klorofil A : berwarna hijau biru (λ : 450 nm).
- Klorofil B : berwarna hijau kuning (λ : 650 nm).

2. *Alat dan bahan*

Alat dan bahan yang digunakan :

- Kolom gelas : ukuran 0,7 x 15 cm. dekat ujung bagian bawah disumbat dengan kapas gelas.
- Bubur Sellulosa : suspensikan serbuk sellulosa dalam petroleum benzene.

3. *Pembuatan ekstrak pigmen plastida*

Keringkan daun hijau katuk di dalam over. Tumbuk halus/gerus dalam mortir, lalu diayak. Timbang 5 gram serbuk halus dari tersebut, tambahkan 15 ml aseton dan digerus dalam mortir di atas es (mortir terlebih dahulu didinginkan dalam lemari es). Saring dan dipindahkan ke dalam corong pemisah yang kering. Tambah 20 ml petroleum benzene dan 50 ml akuades. Kocok dan biarkan selama 20-30 menit. Lapisan bawah dibuang, lapisan atas diambil lalu dicuci 2x dengan 50 ml aquadest. Lapisan bawah dibuang, lapisan atas (ekstrak pigmen) diambil dan disimpan dalam botol coklat yang berisi K_2SO_4 anhidrat.

4. *Prosedur*

Dengan menggunakan pipet tetes, isikan bubur sellulosa diatas sedikit demi sedikit kedalam kolom gelas sampai mencapai tinggi kira-kira 10-11 cm.usahakan agar diperoleh kolom sellulosa yang kontinu (tidak terpecah-pecah).

- Elusi terus dengan petroleum benzene sampai diperoleh massa tang kompak dengan tetesan yang konstan.
- Masukkan 0,5 ml ekstrak pigmen plastida secara pelan-pelan dan tunggu sampai semua ekstrak meresap ke dalam kolom sellolusa.
- Elusi lagi dengan PB sampai warna kuning pertama (karoten) keluar dari kolom.
- Elusi dilanjutkan sampai warna kuning kedua (xantofil) keluar dari kolom.
- Setelah fraksi karoten dan xantofil keluar semua, eluen diganti dengan campuran PB : aseton (12 : 1 v/v). Kolom dielusi sampai semua fraksi hijau biru (klorofil A) keluar dari kolom.
- Elusi diteruskan sampai berwarna kuning hijau (klorofil B) semua keluar. Masing-masing fraksi ditampung dalam tabung reaksi tersendiri.

C. Kromatografi Kertas

1. Teori

Kromatografi kertas adalah kromatografi partisi dimana digunakan kertas sebagai absorbannya. Suatu campuran zat-zat yang akan dipisahkan berupa tetesan kecil ditetaskan beberapa cm dari tepi secarik kertas saring. Kemudian tepi ujung kertas saring yang paling berdekatan dengan tetesan campuran zat tersebut dicelupkan dalam sistem pelarut, sedemikian rupa sehingga rupa sehingga tetesan itu sendiri tidak tercelup. Sistem pelarut tersebut biasanya terdiri akan dihisapkan oleh kertas saring dan akan bergerak sepanjang kertas saring dengan melalui tetesan zat-zat yang akan dipisahkan.

2. Alat dan bahan

- Alat : kaca arloji, silinder kaca, kertas whatman, pipet tetes, botol timbang, dan labu ukur.
- Bahan : a) cuplikan yang mengandung paling sedikit 3 diantara ion-ion berikut: Ni^{2+} , Cu^{2+} , dan Fe^{2+} .
b) Larutan standar (4 mg/L) dalam bentuk klorida dari ion-ion berikut : Ni^{2+} , Cu^{2+} , dan Fe^{3+} .
- Pereaksi: DMG dalam air, NH_4OH , $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1% dalam air, dan eluen alkohol : HCl (90 : 10).

3. Prosedur

- Siapkan 50ml pelarut eluen dalam silinder kaca. Buat larutan cuplikan yang mengandung ion-ion logam yang akan dipisahkan.
- Siapkan kertas whatman 25 x 25 cm pada jarak 2 cm dari salah satu sisinya dibuat garis (dengan pensil) yang dibagi menjadi 6 bagian yang ditandai dari no 1 -6 (dengan pensil) pada tanda 1, 3, 5 ditetaskan larutan standar (Ni^{2+} , Cu^{2+} , dan Fe^{2+})
- Pada tanda 2,4, dan 6 tetesakan larutan cuplikan.
- Dengan menggunakan penjepit, dibuat kertas ini menjadi suatu silinder
- Tempatkan silinder kertas ini dalam silinder kaca yang sudah disediakan, dengan sisi kertas yang mengandung tetesan-tetesan zat pada bagian. Jaga agar silinder kertas tidak menyinggung dinding silinder kaca.
- Tutup silinder kaca tersebut.
- Setelah permukaan pelarut berjalan hingga $\frac{3}{4}$ bagian dari tingginya kertas tersebut silinder kaca. Beri tanda permukaan pelarut (solvent point) dengan pensil buka penjepit kertas dan keringkan.

- Potong kromatogram menjadi 3 (tiga) lembar. Masing-masing mengandung 1 tetesan standar dari 1 tetesan cuplikan.
- Semprotkan lembaran kromatografi ini dengan pereaksi yang sesuai.
- Beri tanda noda-noda yang terjadi dan hitung R_f untuk zat standard an zat-zat dalam cuplikan tersebut.