PENGANTAR FISIKA KRISTALOGRAFI

OLEH

DR. RATNAWULAN, M.SI

MILIK PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG
DITERIMA TGL : 12-03-2019
SUMBER/HARGA : Hd
KOLEKSI : Ul
NO. INVENTARIS : 567 /hd/ 2014 .p-1 (1)
KLASIFIKASI : 548.807 11 Rat p.1

JURUSAN FISIKA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI PADANG

2008

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Kuasa, karena berkat Ridho-Nya jualah penulis dapat merampungkan diktat ini yang diberi nama "Pengantar Fisika Kristalografi". Diharapkan diktat ini dapat digunakan sebagai buku penunjang dalam matakuliah "Fisika Kristallografi" di Jurusan Fisika Universitas Negeri Padang.

Kristallografi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur dan sifat-sifat kristal. Secara garis besar diktat ini berisikan metode-metode difraksi sinar-X yang lazim digunakan dalam bidang kristallografi. Metode ini bertujuan untuk menentukan parameter-parameter kisi, jenis kisi, sistem kristal dan grup ruang sehingga bisa menjelaskan struktur dan sifat-sifat kristal.

Bab I dari buku ini memberikan gambaran umum tentang metode-metode difraksi sinar-X berdasarkan radiasi dan sampel yang digunakan. Bab II membahas metode kristal berputar dengan sampel kristal tunggal. Pembahasan difokuskan pada cara pengindeksan baik secara grafik maupun secara analitik. Selanjutnya dibahas cara penafsiran dari grup ruang dan parameter-parameter kisi dari suatu kristal tersebut. Bab III membahas tentang metode yang digunakan untuk sampel berupa serbuk kristal . Bab IV membahas bagaimana cara menumbuhkan kristal dari bahan organiK. Setiap pembahasan dilengkapi dengan contoh kasus sehingga pembaca dapat memahaminya lebih lengkap.

Dalam penyusunan diktat ini, penulis telah banyak menerima bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terimakasih banyak atas bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa diktat ini masih terdapat kekurangan di sana-sini. Kristik dan saran dari pembaca sekalian akan penulis terima dengan hati terbuka demi kesempurnaan buku ini. Semoga buku ini ada manfaatnya.

Padang, Januari 2008

Penulis

DAFTAR ISI

		Hal.
KATA PENGANTAR		i
DAFTAR ISI		ii
BAB I.	PENDAHULUAN	1
BAB II.	METODE KRISTAL BERPUTAR	
	2.1. Fotogaf Kristal Berputar	7
	2.2. Kisi Balik	8
	2.3. Pengindeksan Pada Fotograf Kristal Berputar	13
	2.4. Keterbatasan pada Fotograf kristal berputar	18
BAB III.	METODA WEISSENBERG	
	3.1. Fotograf Weissenberg	21
	3.2. Metode Weissenberg sinar-normal	23
	3.2.1 Proyeksi lapisan ke-nol pada metode Weissenberg sinar-normal	23
	3.2.2 Proyeksi lapisan ke-n pada metode Weissenberg sinar-normal	26
	3.2.3. Proyeksi dari barisan-barisan kisi Balik pada fotograf Weisenberg sinar-normal	32
	3.2.4. Transformasi dari koordinat refleksi ke koordinat silinder pada metode Weissenberg sinar-normal. . . .	36
	3.3. Metode Weissenberg Ekui-Inklinasi	39
	3.3.1. Proyeksi lapisan ke-n pada metode Weissenberg ekui-inklinasi.	40
	3.3.2. Proyeksi dari barisan-barisan kisi Balik pada fotograf Weisenberg ekui-inklinasi	44

3.3.3 Transformasi dari koordinat refleksi ke koordinat silinder pada metode Weissenberg ekui-inklinasi..... 48
3.4. Penentuan grup ruang dari kristal..... 50
3.5. Penentuan parameter-parameter kisi

BAB IV. METODE SERBUK
4.1. Fotograf Serbuk..... 53
4.2. Pengukuran Sudut Bragg dan Jarak Antara Bidang..... 57
4.3 Penentuan Parameter-parameter Kisi..... 64
4.4 Pengindeksan pada Metode Serbuk..... 67
4.4.1. Pengindeksan Secara Analitik..... 68
4.4.2. Pengindeksan secara Grafik..... 73

BAB V . KRISTALISASI BAHAN ORGANIK
5.1. Teori Kristalisasi..... 76
5.2. Metode Fisika dari Kristalisasi..... 84
5.3. Contoh dari Kristalisasi Protein..... 86

DAFTAR PUSTAKA

BAB I

PENDAHULUAN

Sifat-sifat suatu bahan ditentukan oleh struktur internal bahan tersebut. Hal ini melibatkan atom-atom dan cara-cara atom tersebut berikatan dengan atom tersebut dalam kristal, molekul atau struktur mikro lainnya. Dalam semua zat padat atom-atom disatukan bersama oleh suatu ikatan, dan ikatan inilah yang memberikan kekuatan, sifat-sifat termal dan kelistrikan pada zat padat tersebut. Misalkan ikatan yang kuat akan menyebabkan suhu lebur yang tinggi, modulus kelentingan yang besar, jarak antar atom pendek dan koefisien muai yang rendah, mobilitas elektron valensi dalam ikatan akan menentukan sifat hantaran lsitrik dan hantaran kalor suatu bahan. Demikian pula dengan sifat optiknya seperti misalnya sifat tak tembus cahaya pada logam.

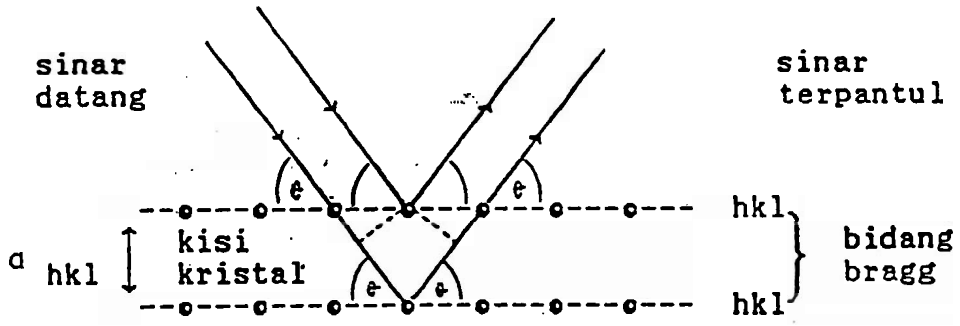
Pada dasarnya kebanyakan zat padat berbentuk kristal, dimana atom, ion, atau molekul-molekul penyusunnya tersusun secara teratur dalam pola tiga dimensi dan pola-pola ini berulang dengan teratur dalam rentang yang panjang. Pada beberapa zat seperti kaca, kebanyakan plastik, dan beberapa logam, partikelnya penyusunannya tidak memiliki pola susunan tertentu dan tegas seperti pada kristal. Bentuk susunan seperti ini dinamakan amorf.

Struktur suatu kristal pada mulanya diprediksi berdasarkan grup ruangnya. Grup ruang adalah suatu grup simetri dari pola kristal tiga dimensi (Ladd and Palmer, 1977). Penyelidikan tentang struktur kristal berdasarkan grup ruangnya

telah dimulai sejak awal abad-19 yaitu dengan dipublikasikannya 230 grup ruang oleh Federov, Schoenflies, dan Barlow (Nuffield, 1966). Semenjak itu, penentuan struktur kristal selalu didasarkan pada grup ruangnya. Para ilmuwan membagi struktur kristal menjadi model-model tiga dimensi ditinjau dari kepadatan atom. Model-model ini digunakan untuk menduga grup ruang suatu kristal. Namun, penyelidikan pada saat itu kurang mendapatkan perhatian karena belum ada cara untuk menguji teori tentang atom-atom pada struktur kristal tersusun dengan pola-pola yang diprediksi oleh teori grup ruang.

Pada tahun 1912, Laue menemukan gejala difraksi sinar-X pada bahan kristal (Nuffield, 1966). Menurut Laue jika asumsi mengenai kristal yang merupakan kelompok atom yang berulang dengan periodisitas yang teratur dalam tiga dimensi adalah benar, maka kristal akan bertindak sebagai kisi difraksi tiga dimensi untuk penetrasi sinar-X. Jika sinar-X dikenakan kepada kumpulan atom-atom tersebut, maka gejala yang tampak dari asumsi ini adalah difraksi yang ditandai dengan penghitaman kertas film.

Semenjak Laue menemukan gejala difraksi sinar-X pada bahan kristal, penelitian tentang stuktur kristal mulai berkembang. Penemuan Laue ini kemudian dianalisa oleh Bragg (seorang ilmuwan Inggeris) dan kemudian mengemukakan syarat-syarat difraksi dalam bentuk matematika yang sangat sederhana. Bragg menunjukkan bahwa atom-atom dalam kristal yang tersusun sebidang dapat dianggap sebagai bidang pemantul (hkl) terhadap sinar-X. Bidang ini disebut bidang Bragg dan skemanya ditunjukkan pada Gambar 1.1.



Gambar. 1.1. Skema Difraksi sinar-X pada kisi kristal

Sinar-X yang dipantulkan oleh bidang-bidang Bragg akan berinterferensi konstruktif (saling menguatkan) jika beda lintasan dari kedua berkas termaksud sama dengan kelipatan bulat dari panjang gelombang sinar-X. Sinar-X yang dipantulkan oleh bidang (hkl) dalam kristal inilah yang terekam sebagai penghitaman kertas film. Dari bintik yang terekam pada film dapat diperoleh arah-arah, dimana syarat hukum Bragg terpenuhi, yaitu : $n\lambda = 2\ d_{hkl}\ sin\theta$ dimana n adalah orde pemantulan, λ adalah panjang gelombang sinar datang, d_{hkl} adalah jarak antar bidang hkl dan θ adalah sudut Bragg.

Dalam difraksi sinar-X dikenal beberapa metoda yang dipakai untuk menentukan struktur kristal. Metode-metode ini dikelompokkan atas radiasi yang digunakan apakah sinar putih atau monokromatik. Metode Laue menggunakan radiasi sinar putih sebagai sumber sedangkan metode kristal berputar, metode Weissenberg dan metode serbuk (powder) menggunakan radiasi monokromatik.

Metode Laue adalah metode difraksi sinar-X menggunakan aparatus yang sederhana dengan sampel berupa kristal tunggal yang berada dalam keadaan diam. Kristal tunggal ialah kristal yang mempunyai orientasi sumbu yang secara ideal berarah ke satu arah yang sama pada semua bagiannya, sehingga keteraturannya dikatakan sempurna. Kristal yang dipilih sebagai sampel dalam eksperimen pertama pada percobaan Laue adalah kristal copper sulfat. Kristal ini ditempatkan sejajar dengan berkas sinar-X. Sebuah pelat fotografik digunakan untuk merekam efek difraksi sinar-X yang terjadi pada kristal. Usaha pertama tidak sukses karena pelat tidak tepat posisinya. Namun ketika pelat fotografiki ditempatkan dibelakang kristal dan tegak lurus berkas sinar-X sebuah pola bintik-bintik difraksi terekam pada pelat fotografik.

Salah satu kelemahan metode Laue ialah bintik-bintik difraksi yang terekam pada pelat fotografik sering berimpit satu sama lain untuk orde yang berbeda. Sebagai contoh refleksi 100, 200, 300, ..., semua berimpit karena bidang-bidang yang berhubungan (100), (200), (300), adalah paralel sehingga sukar membedakan bidang-bidang mana yang merefleksikan bintik tersebut pada pelat fotografik. Kelemahan lain dari metode Laue adalah posisi dari noda-noda Laue tidak akan berubah dengan merubah jarak bidang. Akibatnya dua kristal yang mempunyai struktur dan orientasi yang sama, tetapi berbeda parameter kisinya akan menghasilkan pola Laue yang identik (Cullity, 1959).

Metode kristal berputar dan metode Weissenberg menggunakan kristal tunggal sebagai sampel dan kristal tersebut dirotasikan disekitar sumbu yang

ditentukan terhadap sinar datang. Perbedan metoda kristal berputar dengan metode Weissenberg ialah pada metode kristal berputar film fotografik berada dalam keadaan diam sedangkan pada metode Weissenberg pelat fotografik digerakkan singkron dengan rotasi kristal. Bintik-bintik yang terekam pada film fotografik digunakan untuk menganalisis struktur dari kristal.

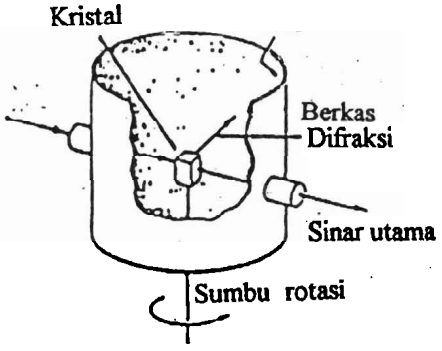
Dari banyak metode-metode difraksi sinar-X, metode serbuk (powder) paling lazim digunakan karena tidak rumit dan mudah dalam interpretasi. Metode serbuk menggunakan serbuk (polikristal) sebagai sampel. Serbuk (polikristal) adalah kumpulan kristalit (kristal tunggal dalam ukuran kecil berdiameter ± 0,1 mm) yang membentuk benda padat. Dalam tulisan ini pembahasan difokuskan pada tiga metode, yakni : metode kristal berputar, metode Weissenberg dan metode serbuk.

BAB II

METODE KRISTAL BERPUTAR

2.1. Fotogaf Kristal Berputar

Skema dari fatograf kristal berputar dapat dilihat pada Gambar 2.1. Kristal tunggal (kira-kira berdiameter 2 mm) diletakkan pada ujung sumbu vertikal yang berputar. Suatu berkas sinar-X yang *monokromatik* dijatuhkan pada kristal yang berputar tersebut. Berkas sinar-X yang terekam sebagai penghitaman kertas film memenuni syarat hukum Bragg, yaitu $\lambda = 2\ d_{hkl}\ sin\theta$. Perputaran kristal menyebabkan perubahan sudut 2θ terhadap sumbu putar yang berarti perubahan posisi berbagai bidang atom untuk dapat memenuhi syarat refleksi Bragg.



Gambar 2.1. Fotograf dari metode kristal berputar

Berkas sinar-X yang direfleksikan oleh semua bidang kristal yang letaknya sejajar dengan sumbu rotasi akan memberikan bintik-bintik hitam yang terletak pada bidang horizontal. Bidang horizontal adalah bidang yang tegak lurus terhadap sumbu putar dan untuk bidang-bidang kristal yang tidak sejajar dengan sumbu

Gambar 2.2 (a) menunjukkan sekumpulan bidang kisi real dengan jarak antar bidang d, dinklinasi terhadap arah berkas sinar-X pada sudut Bragg θ. garis PQ dikonstruksi dengan panjang 1/d dan tegak lurus terhadap bidang. Kemudian titik Q diambil sebagai titik . balik yang berhubungan dengan titik P sebagai titik asal dari kisi balik . Garis AQ dikonstruksi tegak lurus terhadap garis PQ dan paralel terhadap bidang refleksi. Kemudian sudut PAQ sama dengan θ dan bilá bidang tersebut merefleksikan sinar-X yang mempunyai panjang gelombang λ hukum Bragg menjadi (orde refleksi dimasukkan pada nilai d):

$$\frac{1}{d_{nhnknl}}\sin\theta = \frac{2}{\lambda} \qquad (2\text{-}1)$$

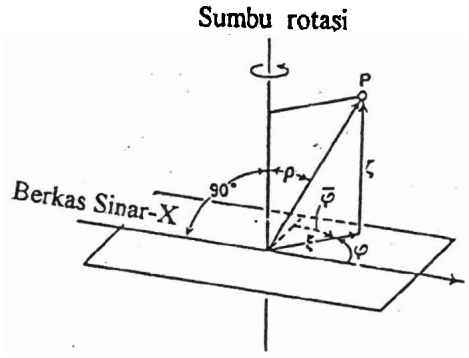
Gambar 2.2(b) menunjukkan hubungan pusat bola dengan sebuah titik balik pada permukaan bola, membuat sudut 2θ dengan berkas sinar-X dan memberikan arah dari sinar refleksi. Proses refleksi sekarang dapat dilukiskan dalam bentuk kisi balik. Pada saat dimana titik balik melalui permukaan bola refleksi akibat rotasi dari kristal, bidang-bidang yang berhubungan dari kisi real memenuhi syarat Bragg, dan berkas sinar-X yang direfleksikan keluar dari O kearah titik balik. Dengan kata lain hukum Bragg akan dipenuhi jika titik balik berada pada permukaan dari bola dan bidang-bidang yang berhubungan dengan titik ini merupakan posisi refleksi. Bola in dikenal sebagai bola refleksi.

Kisi balik dilukiskan sebagai sebuah deret dari lapisan-lapisan yang tegak lurus terhadap sumbu rotasi dan ditempatkan pada interval yang sama sepanjang sumbu rotasi itu. Sebagai contoh, lapisan 0kl*, 1kl* dan 2kl* adalah tegak lurus

terhadap sumbu-a dan ditempatkan pada interval 1/a. Lapisan h0l*, h1l*, dan h2l* adalah tegak lurus terhadap sumbu-b dan ditempatkan pada interval 1/b dan lapisan hk0*, hk1* dan hk2* adalah tegak lurus dengan sumbu-c dengan interval 1/c.

Jika kristal dirotasikan sekitar sumbu c , dan dipilih hanya untuk merekam lapisan nol diatas film, maka setiap bintik pada film akan menghasilkan indeks jenis hk0. Jika hanya lapisan pertama yang direkam, maka setiap bintik pada film akan menghasilkan indeks jenis hk1, dan seterusnya. Harga h dan k yang belum diketahui dapat di indeks dari tititk-titik yang menyebar diatas film.

Kedudukan dari titik-titik balik secara praktis dapat ditentukan dengan menggunakan koordinat silinder. Untuk tujuan ini, vektor kisi balik d_{hkl}* diuraikan dalam dua komponen paralel dan tegak lurus terhadap sumbu rotasi kristal dimana ζ (zeta) melambangkan vektor posisi kisi balik paralel dengan sumbu rotasi kristal ξ (xi) melambangkan vektor posisi tegak lurus dengan sumbu rotasi kristal. Kedua vektor ξ dan ζ terletak pada sebuah bidang membuat sudut φ terhadap bidang berkas sinar-X. Kedudukan suatu titik P pada Gambar 2.3 merepresentasikan ketiga besaran yakni vektor posisi ξ, ζ dan sudut φ.



Gambar 2.3. Vektor posisi kisi balik
(Buerger, 1942)

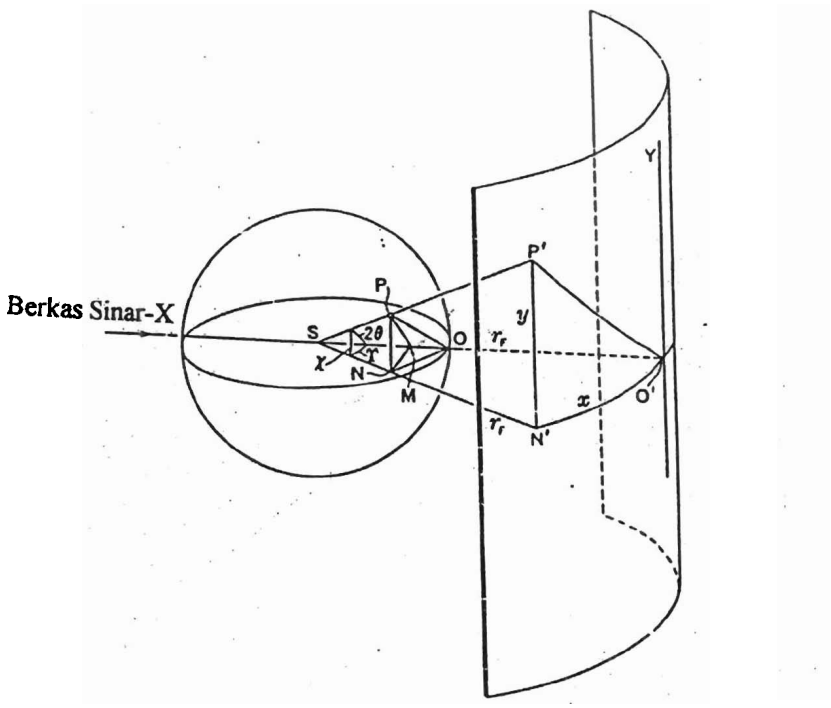
Hubungan d^*_{hkl}, ξ dan ζ secara vektor dapat ditulis:

$$\vec{d}^*_{hkl} = \vec{\xi} + \vec{\zeta} \tag{2-2}$$

dengan panjang absolut

$$(d^*_{hkl})^2 = \xi^2 + \zeta^2 \tag{2-3}$$

Dalam koordinat silinder kisi balik, arah sinar yang direfleksikan oleh bidang kristal dapat dilukiskan dalam bentuk sudut azimut γ dan sudut inklinasi χ seperti diperlihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Hubungan trigonometri antara vektor-vektor posisi balik (Buerger, 1942)

Hubungan trigonometri antara vektor posisi kisi balik sejajar sumbu rotasi ζ dan sudut inklinasi χ dapat ditulis

$$\sin \chi = \zeta \tag{2-4}$$

Sedangkan hubungan antara vektor posisi kisi balik ξ dengan sudut azimut γ dapat ditulis

$$\xi^2 = 1^2 + \left(\sqrt{1-\zeta}\right)^2 - 2.1\sqrt{1-\zeta^2}\cos\gamma \tag{2-5}$$

dimana 1 (satu satuan) merupakan jari-jari dari bola refleksi. Dalam koordinat silinder dua dimensi (polar), kedudukan setiap bintik dapat dinyatakan dalam besaran ξ dan φ.

2.3. Pengindeksan Pada Fotograf Kristal Berputar

Pengindeksan pada fotograf kristal berputar ekivalen dengan pemberian bilangan h,k dan l terhadap titik kisi balik pada setiap refleksi yang terekam pada film. Masalah pengindeksan pada dasarnya merupakan salah satu dari bentuk transformasi dari koordinat kisi balik silinder ζ dan ξ ke koordinat kisi balik ha*, kb* dan lc*. Supaya transformasi ini dapat dilakukan pengetahuan dari simetri adalah penting untuk menentukan arah mana kristal harus dirotasikan sehingga vektor unit dari kisi real dapat diketahui. Jika vektor unit dari kisi real diketahui, maka dimensi dari unit sel yaitu a*, b* dan c* dapat dihitung.

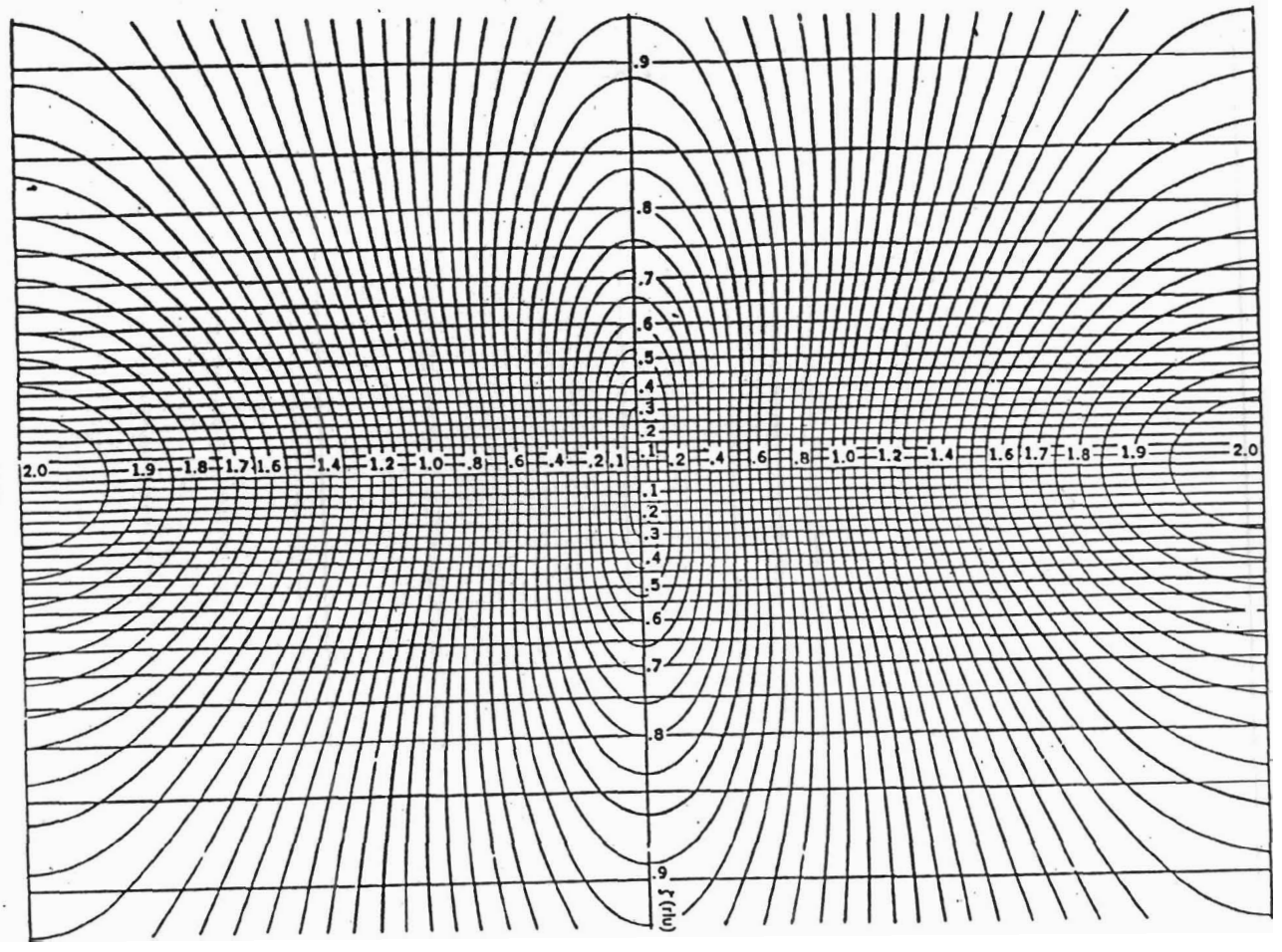
Ada dua prosedur yang tersedia untuk mengindeks kisi balik suatu sistem kristal, yaitu :

1. Kisi balik digambar pada kertas grafik dan titik (hkl)* yang berhubungan dengan koordinat silinder ζ dan ξ setiap noda ditentukan secara grafik.
2. Koordinat silinder ζ dan ξ setiap kisi resiprok dapat dihitung dan dibandingkan dengan daftar koordinat ζ dan ξ setiap noda pada film. Dengan cara ini setiap noda pada film diidentifikasi dengan sebuah titik kisi balik dengan indeks (hkl)* sehingga didapatkan indeks refleksi hkl.

2.3.1 Pengindeksan Secara Grafik

Untuk menghitung koordinat silinder ζ dan ξ, Bernal dikutip Bueger (1942) memperkenalkan sebuah chart yang menggambarkan solusi dari pers. 2.5 dalam bentuk grafik. Gambar 2.5 memperlihatkan sebuah chart untuk sebuah film berbentuk silinder yang berjari-jari 28,65 mm. Garis vertikal pada chart adalah garis dari konstanta ζ dengan interval 0,05 satuan kisi balik (rlu) diukur sepanjang horizontal. Kurva merepresentasikan nilai konstan dari ξ untuk sebuah rentangan dari nilai ζ. Secara praktis chart digunakan sebagai pelapis transparan dalam film yang disinari yang digunakan pengamat untuk membaca nilai ζ dan ξ secara langsung untuk setiap refleksi.

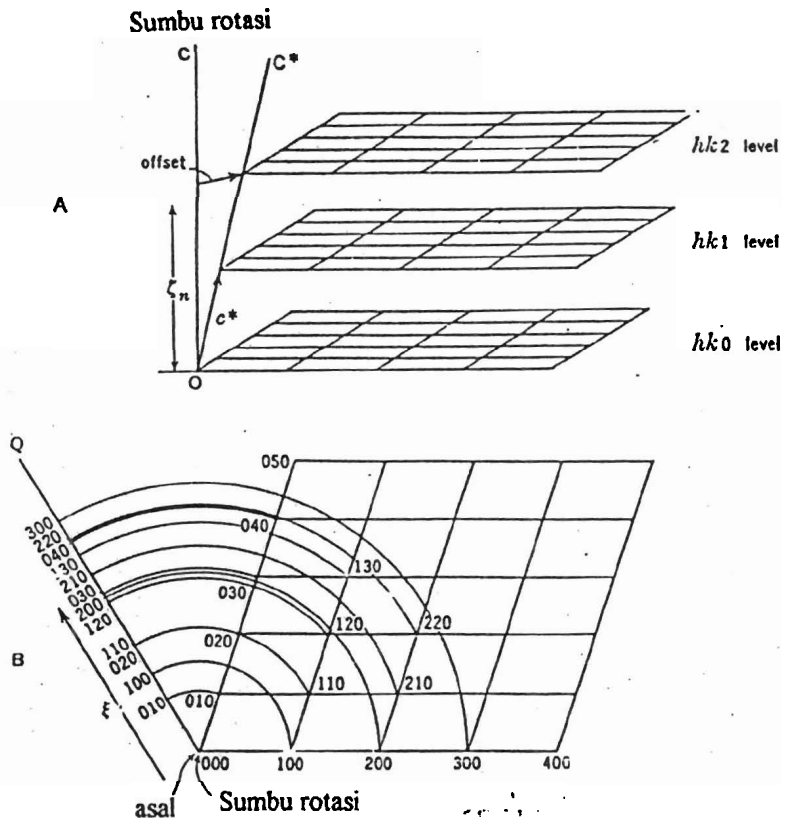
Jika sebuah kristal dirotasikan sekitar sumbu-c seperti diperlihatkan Gambar 2.6(a) , maka semua titik pada lapisan ke nol dari kisi balik dapat diberi indeks [(hk0)] * . Sedangkan semua titik pada lapisan ke-l dapat diberi indeks [(hkl)]*, dan seterusnya . Secara umum, semua titik pada lapisan ke-n diberi indeks [(hkn)]*. Pengindeksan ke-n ini ditentukan berdasarkan koordinat silinder ζ dari noda.



Gambar 2.5. Chard Bernal untuk film silinder berjari-jari 28,65 mm
(Buerger, 1942)

Penentuan dua koordinat lain yaitu h dan kpada lapisan ke-nol secara grafik diilustrasikan pada Gambar 2.6(b). Garis radial tertentu OQ melukiskan nilai ξ untuk setiap bintik yang dibaca dengan bantuan chart Bernal pada lapisan ke-nol. Setiap titik kisi balik pada OQ diputar sekitar titik pusat sampai ujungnya berhimpit dengan titik resiprok [(hk0)]*. Bila noda ditemukan, bintik sepanjang sumbu OQ diberi label hk0. Lapisan ke-n juga dapat diindeks dengan cara yang sama seperti lapisan ke-nol, hanya perbedaannya sumbu resiprok OC* tidak terletak

pada sudut lapisan. Untuk menghitung kisi balik (hkn)* lapisan ke-n, pusat koordinat lapisan h dan k digeser kesudut lapisan dan sekaligus berfungsi sebagai titik pusat dari koordinat ξ.



Gambar 2.6.(a) Kristal berotasi sekitar sumbu-c, (b) pengindeksan kisi resiprok secara grafik (Buerger, 1942)

2.3.2. Pengindeksan Secara Analitik

Sebagai pengganti grafik, hubungan pengindeksan setiap bintik pada koordinat silinder ζ dan ξ dengan sebuah titik kisi balik adalah [(hkn)]*. Koordinat silinder ζ dan ξ setiap bintik pada daerah refleksi dapat dihitung berdasarkan dari konstanta-konstanta kisi balik yang diketahui dan nilainya

567/hd/2014 - p.1 (1)

548.807 11
Rat
p.1

kemudian dibandingkan dengan koordinat ζ dan ξ yang diamati pada bintik-bintik yang diukur pada film. Jika jaringan lapisan mempunyai pusat koordinat berhimpit dengan sumbu rotasi, vektor radial ξ pada lapisan ke-nol dapat dirumuskan sebagai penjumlahan dari vektor-vektor kisi balik yaitu :

$$\xi = ha^* + kb^* \tag{2-6}$$

dengan panjang absolut :

$$\xi = \sqrt{h^2a^{*2} + k^2b^{*2} - 2hka^*b^*\cos\gamma^*} \tag{2-7}$$

dimana γ adalah sudut antara vektor ha^* dan kb^*.

Pada kasus yang terdiri dari n lapisan, titik pusat lapisan ke-n, panjang ξ kemudian dapat ditulis :

$$\xi = \left\{ \frac{l^2c^{*2}}{\sin^2\gamma^*}(\cos^2\beta^* - 2\cos^2\alpha^*\cos^2\beta^*\cos^2\gamma^*) + h^2a^{*2} + k^2b^{*2} + 2klb^*c^*\cos\alpha^* + 2lhc^*a^*\cos\beta^* + 2hka^*b^*\cos\gamma^* \right\}^{1/2} \tag{2-8}$$

Dalam prakteknya metode analitis kurang praktis karena melibatkan banyak perhitungan, tetapi memberikan hasil yang lebih akurat

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

2.4. Keterbatasan pada Fotograf kristal berputar

Dalam ruang tiga dimensi diperlukan tiga koordinat bebas ξ, ζ, dan φ untuk menggambarkan kedudukan suatu intik pada film. Dua pertama dari tiga koordinat silinder kisi balik diatas dapat ditentukan setelah ditransformasi dari koordinat film, tetapi koordinat angular φ tidak dapat ditentukan. Dengan kata lain koordinat φ tidak tertentu pada fotograf kristal berputar. Jika dua titik-titik kisi balik [(hkn)]* dan [(h'k'n')]* berada pada lapisan yang sama maka jarak keduanya terhadap sumbu rotasi hampir sama. Karena itu kedua titik tersebut mempunyai koordinat ξ yang hampir sama dan tidak mungkin menentukan indeks mana yang mempengaruhinya, [(hkn)]* atau [(h'k'n')]*. Sebagai contoh, sulit untuk menentukan apakah nilai ξ pada titik ke-empat garis OQ pada gambar 2.6(b) disebabkan oleh indeks (110) atau (020). Jadi ketidakjelasan kedudukan koordinat φ pada photograf rotasi kristal menimbulkan penafsiran ganda dalam menginterpretasi titik-titik kisi balik pada metode kristal berputar.

Untuk kristal kubik, tetragonal, hexagonal dan trigonal yang dirotasikan sekitar sumbu-c, simetri dari sumbu kristalografi mengurangi beberapa kekaburan dalam pengindeksian . Untuk kristal kubik dirotasikan sekitar sumbu kristalografi mana saja dan kristal tetragonal dirotasikan sekitar sumbu-c pers (2-7) menjadi :

$$\xi = a * \sqrt{h^2 + k^2} \qquad (2\text{-}9)$$

dimana panjang vektor a* sama dengan vektor b* dan kedua vektor saling tegak lurus . Dalam kasus ini ada kemungkinan nilai koordinat ξ sama jika urutan indek h dan k berbeda.

Untuk kristal kristagonal dan trigonal yang dirotasikan sekitar sumbu-c maka pers (2-7) menjadi:

$$\xi = a^* \sqrt{h^2 + k^2 + hk} \qquad (2\text{-}10)$$

Dalam kasus ini , ada kemungkinan nilai koordinat ξ sama jika urutan nilai h dan k berbeda kecuali jika dirotasikan sekitar sumbu-a.

Untuk kristal orthorombik jika dirotasikan sekitar sumbu-c pers(2-7) menjadi :

$$\xi = \sqrt{h^2 a^{*2} + k^2 b^{*2}} \qquad (2\text{-}11)$$

Dalam kasus ini, urutan nilai koordinat ξ bergantung tidak hanya h dan k, tetapi juga pada dua konstanta a* dan b* . Ada kemungkinan nilai koordinat ξ berbeda untuk setiap kristal dan secara kebetulan berimpit dengan nilai ξ yang terjadi sehingga tidak bisa meramalkan indeks yang mempengaruhinya . Oleh karena itu kristal orthorombik tidak dapat di indeks dengan jelas oleh metode rotasi biasa karena kristal orthorombik tidak simetri terhadap sumbu kristalografi sekarang.

Jika kristal dirotasikan sekitar sumbu-a, sebagai pengganti dari sumbu-c, maka pers. (2-7) tereduksi menjadi :

$$\xi = \sqrt{h^2 a^{*2} + k^2 c^{*2}} \qquad (2\text{-}12)$$

Kumpulan bintik-bintik pada keadaan ini tidak hanya tergantung pada nilai h dan k tetapi juga pada konstanta a* dan b* yang belum diketahui. Oleh karena itu, urutan nilai-nilai ξ yang berbeda untuk setiap kristal tidak bisa diprediksi. Kristal ortorombik menjadi tidak bisa diindeks dengan metoda rotasi biasa. Hal yang sama berlaku untuk kristal monoklinik dan triklinik.

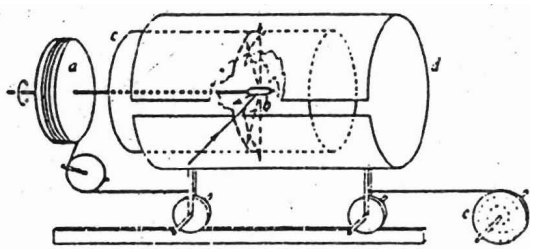
BAB III

METODA WEISSENBERG

3.1. Fotograf Weissenberg

Instrumen dari metode Weissenberg secara konvensional terdiri dari sebuah gulungan, kamera berbentuk silinder dan sebuah beban yang digantungkan pada ujung seutas kawat baja. Kristal yang akan dirotasikan ditempatkan pada ujung sebuah tangkai yang dipasang pada gulungan, sesumbu dengan kamera silinder. Jika pada ujung kawat digantungkan sebuah beban, maka beban akan menggerakan kamera silinder secara translasi dan kristal secara rotasi sehingga pergerakan film sinkron dengan rotasi kristal. Dalam prakteknya beban diganti dengan motor listrik supaya kecepatannya bisa diatur secara mekanis. Didalam kamera silinder disisipkan sebuah film yang berfungsi untuk merekam sinar yang didifraksikan oleh bidang kristal. Untuk jelasnya, mekanisme dari metode Weissenberg dapat dilihat pada Gambar 3.1

Adapun prinsip kerja dari alat ini adalah; pada ujung suatu sumbu horizontal yang berputar ditempatkan sebuah *kristal tunggal* dengan diameter ± 2 mm.



Gambar 3.1. Mekanisme Weissenberg (a) gulungan, (b) kristal, (c) layar logam, (d) kamera dan film (e) beban (Buerger, 1942)

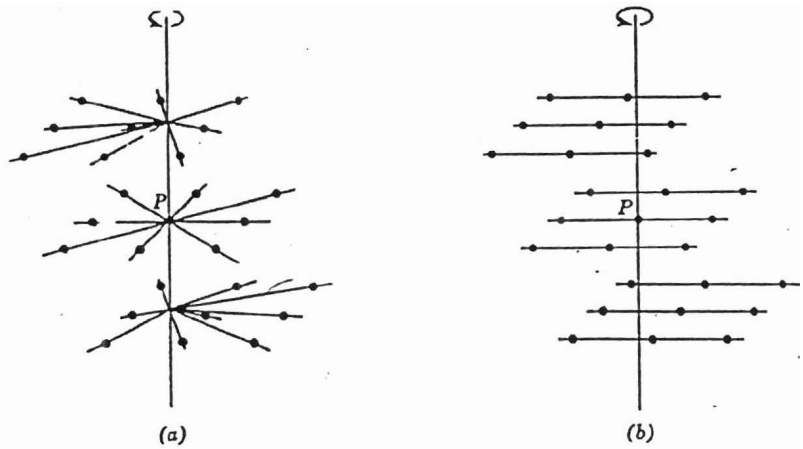
Supaya kamera silinder merekam hanya satu lapisan kisi balik setiap waktu maka sepasang layar logam berbentuk silinder ditempatkan diantara kamera silinder dan kristal. Pasangan layar logam tersebut membentuk sebuah celah ekuatorial yang sempit sehingga celah hanya dapat melewatkan satu berkas refleksi sinar-X. Sebagai hasilnya, film hanya merekam satu lapisan tertentu saja seperti h0l, 0kl, 1kl, dan seterusnya.

Secara umum, metode Weissenberg dapat dibedakan atas metode Weissenberg sinar-normal dan metode Weissenberg ekui-inklinasi. Metode Weissenberg sinar-normal dicirikan dengan berkas sinar datang tegak lurus dengan sumbu rotasi kristal sedangkan metode Weissenberg ekui-inklinasi dicirikan dengan berkas sinar datang dan berkas sinar yang didifraksikan membuat sudut inklinasi μ terhadap sumbu rotasi kristal.

Untuk membayangkan efek difraksi pada film Weissenberg ketika sebuah lapisan kisi balik berotasi melalui bola refleksi maka lapisan-lapisan tersebut disederhanakan kedalam komponen-komponen berikut :

1. *Barisan sentral* (Gambar 3.2a), yaitu barisan barisan dari titik balik yang memotong pada sumbu rotasi, yang merupakan sifat khusus dari lapisan nol yaitu lapisan kisi balik yang tegak lurus dan memotong sumbu rotasi pada titik asal. Barisan sentral ini selalu memotong titik asal kisi.
2. *Barisan tidak sentral* (Gambar 3.2b), yaitu kumpulan barisan yang paralel yang tegak lurus sumbu rotasi. Salah satu dari kumpulan tersebut adalah barisan

sentral karena memotong sumbu rotasi. Sisanya dilukiskan sebagai barisan-barisan yang tidak sentral (karena tidak memotong sumbu rotasi).



Gambar 3.2. Jenis dari barisan-barisan kisi balik : (a) barisan sentral, (b) barisan tidak sentral (Nuffield, 1966)

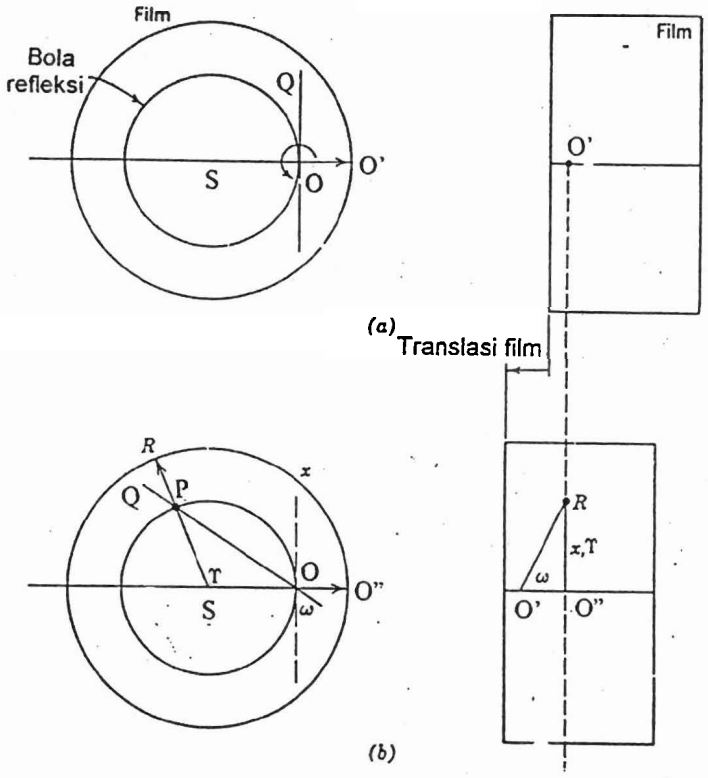
Seperti pada metode kristal berputar, kedudukan dari titik-titik balik dapat ditentukan dengan menggunakan koordinat silinder.

3.2. Metode Weissenberg sinar-normal

3.2.1 Proyeksi lapisan ke-nol pada metode Weissenberg sinar-normal.

Proyeksi lapisan ke-nol adalah pola difraksi yang dihasilkan dari lapisan kisi balik tegak lurus dan memotong sumbu rotasi pada titik asal. Pada Gambar 3.3 diilustrasikan sebuah penampang lintang dari kamera Weissenberg untuk mengambil lapisan ke-nol, sebuah garis OQ berotasi melalui asal dari kisi balik pada O dan film yang telah dibuka gulungannya pada sebelah kanan. Sebuah garis sentral OQ

pada lapisan nol secara kontiniu menghasilkan satu refleksi jika garis tersebut berotasi dengan sudut ω melalui lingkaran refleksi.



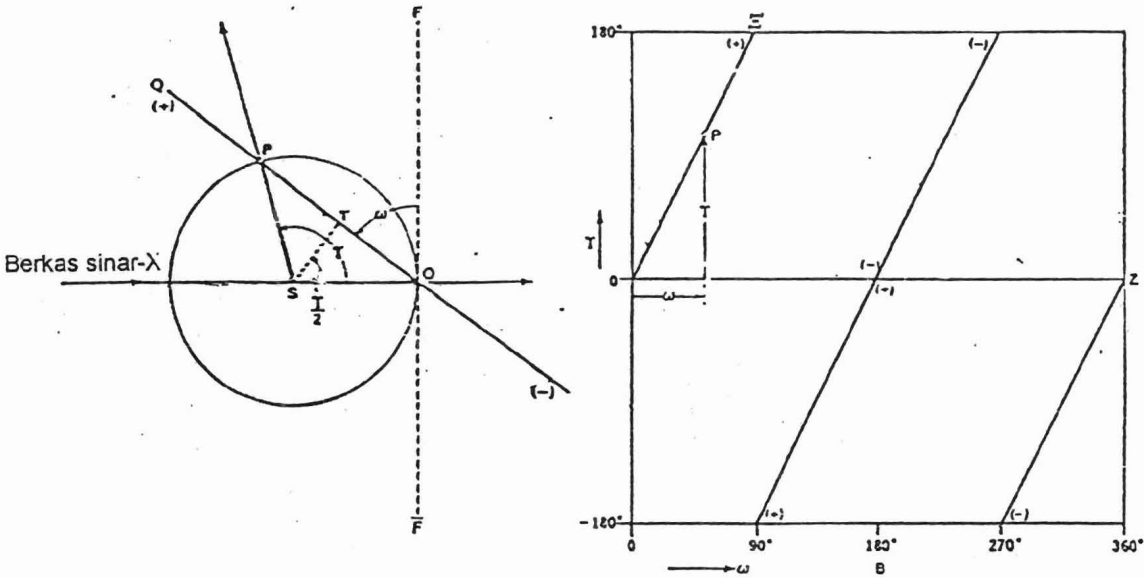
Gambar 3.3. Proyeksi garis sentral OQ pada lapisan ke-nol
(Nuffield, 1966)

Film ditranslasikan pada jarak O'O", dan berkas yang tidak dideviasikan sekarang jatuh pada titik O". Garis OQ memotong lingkaran refleksi pada titik P. Konsekuensinya, SP merupakan arah dari potensial refleksi, dan sebuah refleksi R dihasilkan pada film jika sebuah titik resiprok disituasikan pada P. Sudut azimut dari refleksi γ melahirkan hubungan yang sederhana terhadap sudut rotasi ω yaitu sebagai berikut :

$$\gamma = 2\omega \qquad (3\text{-}1)$$

Hubungan ini dipakai untuk setiap posisi dari garis OQ, jika garis tersebut berotasi melalui bola refleksi. Sudut γ dan ω dilukiskan sebagai koordinat refleksi dari titik resiprok P.

Hubungan pada (3-1) dapat diplot secara langsung pada film Weissenberg seperti diilustrasikan dalam Gambar 3.4. Pengertian fisis dari pemplotan ini ialah jika sebuah garis dari titik-titik kisi balik melalui pusat (garis sentral), garis ini akan menghasilkan sebuah deret refleksi OΞ pada dalam film Weissenberg.



Gambar 3.4. Sketsa lapisan ke-nol kisi balik . (a) deret kontinu potensial refleksi, (b) plot sudut refleksi terhadap sudut rotasi berdasarkan (a)(Buerger, 1942)

Garis ini merupakan garis lurus yang dengan gradien kemiringan $\gamma/\omega = 2$. Garis ini melalui sisi positif dari film sampai pada $\omega = 90^0$ dan pada waktu yang sama muncul pada sisi negatif dari film. Hal ini terjadi karena sudut refleksi dibawah 180^0

muncul pada setengah atas dari film dan sudut refleksi diantara 180^0 dan 360^0 muncul pada setengah bawah dari film. Garis OΞ melalui nol lagi pada $\omega = 180^o$ dan menjadi positif. Dalam Gambar 3.4(a), hal ini berhubungan dengan garis OQ yang menempati posisi OF, rotasi selanjutnya menyebabkan titik-titik pada ujung negatif dari garis OQ merefleksikansetengah atas dari film. Garis setengah negatif dari OQ menimbulkan sebuah siklus dari refleksi yang identik dengan garis setengah positif dari OQ.

3.2.2 Proyeksi lapisan ke-n pada metode Weissenberg sinar-normal.

Pada kasus yang lebih kompleks yaitu pada lapisan ke-n, celah dari pasangan layar logam harus digeser sebesar s (mm) dari posisi lapisan nol balik sehingga celah berada pada posisi untuk membolehkan refleksi lapisan atas sampai pada film. Misalkan r_s adalah jari-jari layar dan s adalah jarak pergeseran tegak lurus terhadap arah sinar datang, maka hubungan berikut dapat ditulis

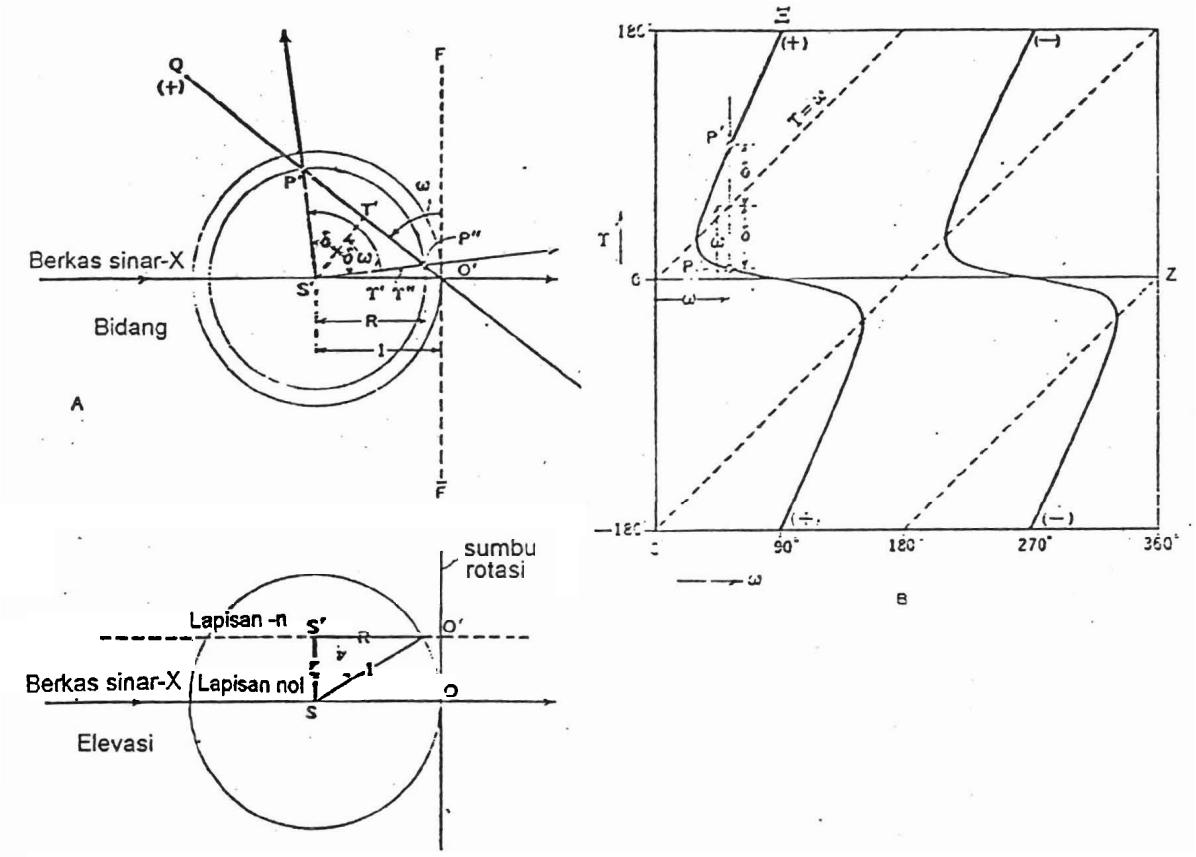
$$s = r_s \tan \nu \qquad (3\text{-}2)$$

dimana ν adalah sudut antara sinar datang dengan sinar yang direfleksikan [$\nu = \sin^{-1}(\zeta_n)$]. Nilai ζ_n diperoleh dari fotograf rotasi kristal. Hubungan antara jari-jari lingkaran bola refleksi R dengan sudut elevasi ν antara lapisan ke-nol dengan lapisan ke-n diberikan oleh

$$R = \cos\nu \qquad (3\text{-}3)$$

atau

$$R = \sqrt{1-\zeta^2} \tag{3-4}$$



Gambar 3.5. Sketsa lapisan ke-n kisi balik ., (a) deret kontinu potensial refleksi, (b) plot sudut refleksi terhadap sudut rotasi berdasarkan (a) (Buerger, 1942).

Gambar 3.5(a) memperlihatkan jika garis O'Q berotasi dan menyentuh lingkaran bola pada dua titikP' dan P'' maka akan menimbulkan dua refleksi dengan sudut γ' dan γ'' . Jika garis S' T' membagi sudut P' S' P'' menjadi dua bagian maka besar sudut O'S'T' adalah

$$O'S'T' = \omega \tag{3-5}$$

Selanjutnya kedua sudut refleksi γ' dan γ'' dapat dievaluasi sebagai berikut :

$$\gamma' = O'S'T' + P'S'T' \quad (3\text{-}6)$$

$$\gamma'' = O'S'T' - P''S'T' \quad (3\text{-}7)$$

Misalkan

$$P'S'T' = P''S'T' = \delta \quad (3\text{-}8)$$

Dengan mensubtitusikan (3-8) ke (3-6) dan (3-7) memberikan

$$\gamma' = \omega + \delta \quad (3\text{-}9)$$

$$\gamma'' = \omega - \delta \quad (3\text{-}10)$$

Sudut δ dapat dievaluasi berdasarkan Gambar 3.5(a)

$$\text{Cos}\ \delta = S'T' / R \quad (3\text{-}11)$$

$$\text{Cos}\ \omega = S'T' / 1 \quad (3\text{-}12)$$

sehingga :

$$\text{Cos}\ \delta = \cos\omega / R \quad (3\text{-}13)$$

Dengan mensubtitusikan (3-13) ke (3-9) dan (3-10) menghasilkan

$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{R}\right) \quad (3\text{-}14)$$

Pers. (3-14) dapat pula dikembangkan dengan mensubtitusi (3-3) dan (3-4) ke (3-14) sehingga

$$\gamma',\gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{\cos\nu}\right) \tag{3-15}$$

atau

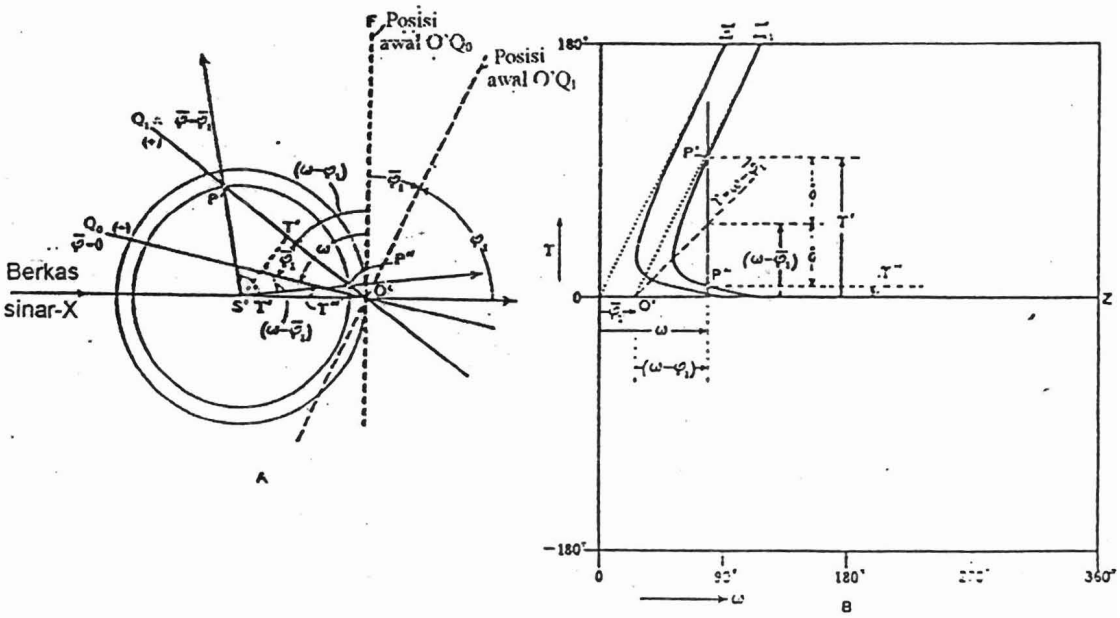
$$\gamma',\gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{\sqrt{1-\zeta^2}}\right) \tag{3-16}$$

Karakteristik dari fungsi yang dirumuskan dalam (3-14)-((3-16) dapat dijelaskan secara grafik pada Gambar 3.5(b) yang menampilkan hubungan antara sudut refleksi dan sudut rotasi yang diberikan pada Gambar 3.5(a). Dari bentuk pers.(3-14) membuktikan bahwa dua sudut refleksi, γ' dan γ'' ditemukan secara simetri diatas dan dibawah garis $\gamma = \omega$ sejumlah $\cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{R}\right)$. Suku terakhir dari persamaan (3-14)-(3-16) bergantung pada R,ν, atau tinggi lapisan ζ dari ekuator. Jika nilai ω cukup kecil maka nilai cos ω besar dan dapat melebihi nilai R. Untuk kasus ini $\frac{\cos\omega}{R} > 1$, maka nilai sudut dari $\cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{R}\right) > 1$ sehingga suku ini dapat diabaikan. Oleh karena itu tidak ada solusi untuk (3-14), karena itu tidak ada refleksi hingga ω cukup besar untuk membuat $\frac{\cos\omega}{R} = 1$. Pengertian fisika dari sini ialah jika garis OQ berotasi dari posisi awal OF, tidak menghasilkan refleksi sebelum garis itu menyentuh lingkaran refleksi. Ketika garis OQ menyentuh bola refleksi misalkan pada titik P, sebuah refleksi degenerasi tunggal terjadi untuk

$$\gamma' = \gamma'' = \omega \tag{3-17}$$

Jika rotasi diteruskan, titik awal P terpisah kedalam titik P' dan P''. Hal ini disebabkan sudut refleksi γ terpisah kedalam dua sudut refleksi γ' dan γ'', secara simetri berada diatas dan dibawah nilai $\gamma = \omega$, yang mengambarkan sebuah garis lurus dengan gradien $\gamma / \omega = 1$ pada Gambar 3-5(b). Kurva Weissenberg lapisan ke -n diberikan oleh hubungan pers (3-14) - (3-16) yang selalu berada dibawah lapisan ke-nol OE hingga nilai $\omega = 90^0$ dimana titik pada lapisan ke-n mencapai kedudukan lapisan ke-nol. Di atas $\omega = 90^0$ nilai sudut refleksi $\gamma' > 180^0$ dan $\gamma'' < 0^0$; kedua nilai sudut refleksi terdapat pada daerah antara 180^0 dan 360^0 dan direfleksikan kebagian bawah dari film. Kedua sudut mulai berdekatan satu sama lain dan menjadi sama pada $\cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega}{R}\right) = -1$. Rotasi di atas titik ini tidak akan menghasilkan refleksi sampai ujung negatif dari garis OQ membuat kontak dengan setengah atas lingkaran refleksi. Ini disebabkan karena pers. (3-14) tidak mempunyai arti karena $\cos\left(\frac{\cos\omega}{R}\right) > 1$. Rotasi selanjutnya menyebabkan ujung negatif dari garis OQ menghasilkan sebuah siklus dengan sudut refleksi identik dengan siklus untuk ujung positif dari OQ.

Pembahasan sebelumnya merupakan kasus khusus dimana sebuah garis kisi resiprok posisi awalnya berada sepanjang $\overline{\varphi} = 0$. Untuk kasus yang lebih umum garis kisi balik ditempatkan pada $\overline{\varphi} = \overline{\varphi}_1$ seperti diilustrasikan pada Gambar 3.6.



Gambar 3.6. Sketsa sebuah lapisan kisi balik ; (a) deret kontinu potensial refleksi dirotasikan sebesar φ_1, (b) plot sudut refleksi terhadap sudut rotasi berdasarkan (a) (Buerger, 1942)

Dengan catatan bahwa situasi geometri dari garis $O' Q_1$ pada Gambar 3.6(a) secara eksak sama seperti untuk garis $O' Q$ pada Gambar 3.5(a) kecuali sudut $(\omega - \overline{\varphi}_1)$ pada Gambar 3.6(a) diganti dengan sudut ω pada Gambar 3.5(a). Dalam cakupan Weissenberg pada Gambar 3.6(b) garis baru $O' Q_1$ merekam sebuah refleksi $O'\Xi_1$ yang secara eksak bentuknya sama dengan $O'\Xi$ pada Gambar 3.8(b) kecuali ditempatkan sepanjang sumbu ω dengan $(\omega - \overline{\varphi}_1)^0$. Garis baru ini direpresentasikan dengan mengganti $(\omega - \overline{\varphi}_1)$ dengan ω sehingga

$$\gamma = (\omega - \overline{\varphi}_1)) \pm \delta$$

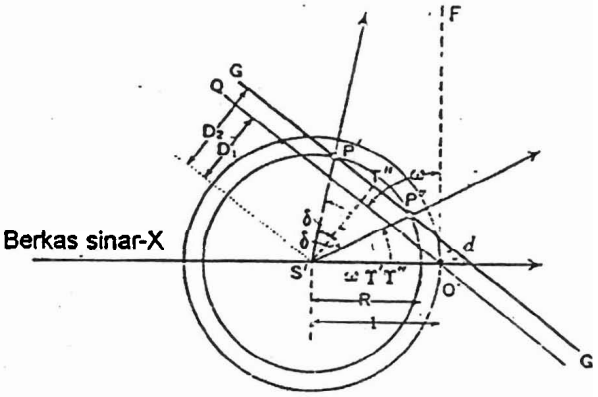
$$\gamma = (\omega - \overline{\varphi}_1)) \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos(\omega - \overline{\varphi}_1)}{R}\right)$$

$$\gamma = (\omega - \overline{\varphi}_1)) \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos(\omega - \overline{\varphi}_1)}{\cos \nu}\right) \qquad (3\text{-}18)$$

$$\gamma = (\omega - \overline{\varphi}_1)) \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos(\omega - \overline{\varphi}_1)}{\sqrt{1-\zeta^2}}\right)$$

3.2.3. Proyeksi dari barisan-barisan kisi Balik pada fotograf Weisenberg sinar-normal

Sebuah lapisan kisi balik sebenarnya terdiri dari kumpulan barisan sentral dan non sentral. Untuk penyederhanan, kita tinjau dahulu sebuah barisan kisi sentral dan sebuah barisan kisi non sentral yang diperlihatkan pada Gambar 3.7 berikut.



Gambar 3.7. Sketsa lapisan kisi balik pada jarak d dari dari sumbu rotasi (Buerger, 1942)

Garis tebal merepresentasikan barisan kisi balik non sentral pada jarak d dari sumbu rotasi. Baris kisi balik ini memotong lingkaran refleksi pada lapisan ke-n

pada dua titik P' dan P''dan sebagai konsekuensinya refleksi mempunyai dua sudut azimut γ' dan γ'' seperti yang telah dibahas sebelumnya. Asumsi bahwa baris kisi pada mulanya terletak sepanjang $\overline{\varphi} = 0$, kemudian kedua sudut refleksi di atas dapat ditulis

$$\gamma' = \omega + \delta \tag{3-19}$$

$$\gamma'' = \omega - \delta \tag{3-20}$$

Sudut δ dapat dievaluasi dari

$$\cos\delta = \frac{D_2}{R} \tag{3-21}$$

dimana

$$D_2 = \cos\omega + d \tag{3-22}$$

Sehingga kedua sudut refleksi pada (3-19) dan (3-20) dapat dievaluasi sebagai

$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega +}{R}\right. \tag{3-23}$$

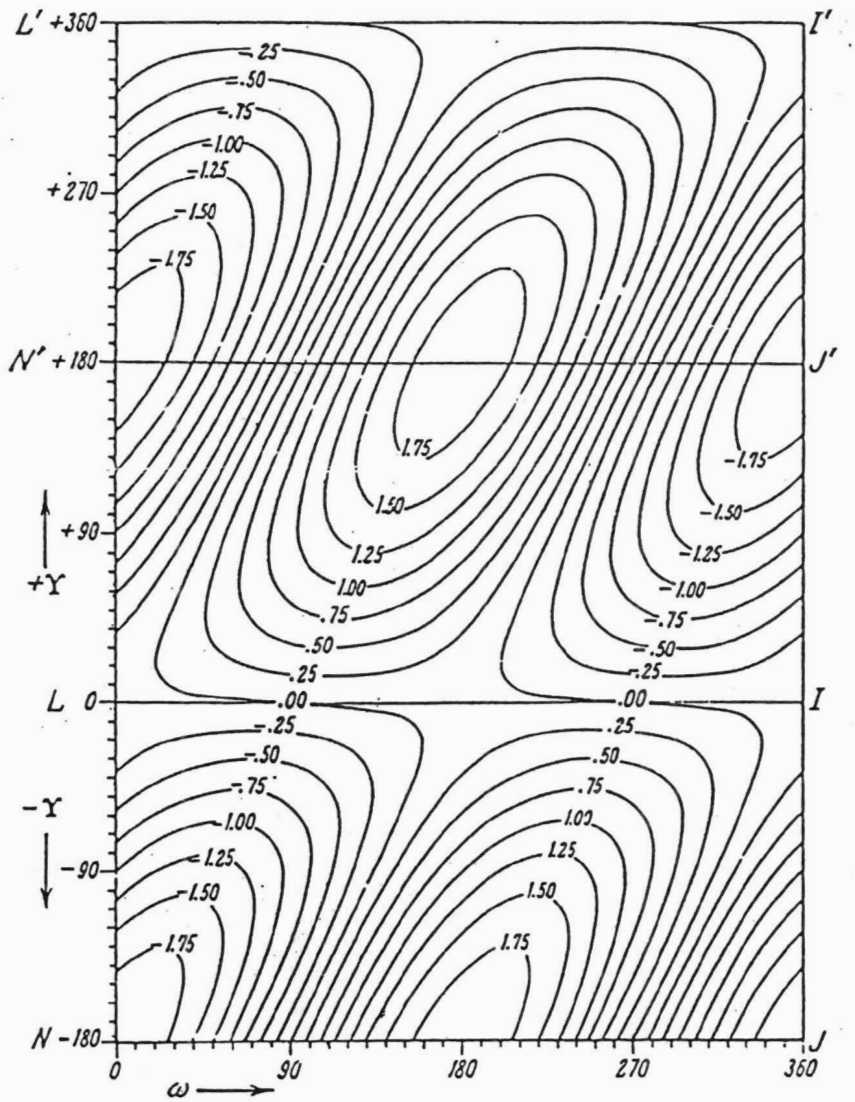
juga dapat dikembangkan dengan mensubtitusi (3-3) dan (3-4) ke (3-23) sehingga

$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega + d}{\cos\nu}\right) \tag{3-24}$$

dan

$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\frac{\cos\omega + d}{\sqrt{1-\zeta^2}}\right) \tag{3-25}$$

Pola dari jenis ini pada film Weissenberg dapat diilustrasikan dalam bentuk kurva seperti ditunjukkan pada Gambar 3.8.



Gambar 3.8. Kurva garis kisi balik pada fotograf Weissenberg sinar-normal ($\nu = 20°$, $\zeta = 0.34$) dimana garis terletak pada jarak d dari titik pusat (Bueger, 1942)

Ilustrasi ini tidak hanya memperlihatkan daerah film Weissenberg NLN' J' I J (huruf-huruf ini berhubungan dengan dengan posisi film pada Gambar 3.1), dimana γ berubah dari -180^0 melalui 0 sampai $+180^0$, tetapi juga menunjukkan daerah LN' L' I' J' I dimana γ bervariasi dari 0 melalui $+180^0$ sampai $+360^0$. Karena kamera Weissenberg menggunakan film sampai ke ujung garis N'J' untuk memungkinkan sinar langsung masuk kedalam silinder film, maka nilai γ dari $+180^0$ sampai $+360^0$ tidak dilanjutkan kedaerah $+180^0$, tetapi hanya dilanjutkan sampai 0^0.

Gambar 3.7 memperlihatkan jika nilai d lebih kecil dari AO' = 1 - R, maka nilai γ'' berkurang jika ω bertambah, dan akhirnya menuju 0 dan menjadi negatif. Untuk nilai d lebih besar dari AO' = 1 - R, nilai γ'' berkurang sampai minimum dan selanjutnya bertambah. Baris kisi dengan jarak d ini selanjutnya membentuk sebuah deret kurva oval tertutup, sementara itu jarak terkecil membentuk sebuah deret seperti kurva oval terbuka. Salah satu sifat penting dari kurva yang diperlihatkan pada Gambar 3.8 adalah meninjau kembali pers. (3-24) atau (3-25) dimana suku kedua sisi kanan merupakan sudut koreksi δ . Sudut koreksi ini menempatkan kurva ke atas dan ke bawah garis $\gamma = \omega$ sebesar δ. Untuk ω tertentu nilai sudut koreksi δ berubah terhadap R oleh karena itu berbeda dari lapisan ke lapisan. Kemudian bentuk kurva oval ini juga berbeda dari lapisan ke lapisan.

$$\gamma = Cx \tag{3-28}$$

dimana C adalah konstanta rotasi-translasi. Nilai C dapat dievaluasi dari hubungan berikut :

$$C = \frac{360^\circ}{2\pi r_f} \tag{3-29}$$

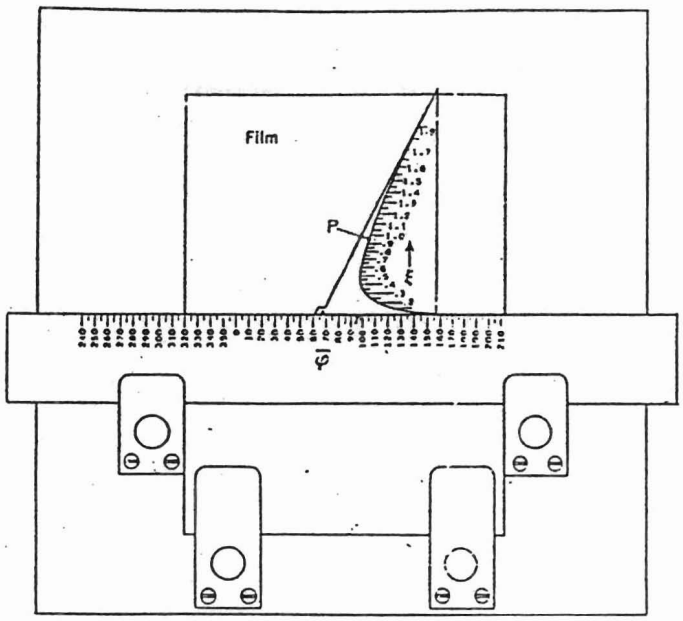
dengan r_f adalah jari-jari film. Untuk film berjari-jari $90/\pi$ (mm), nilai C adalah 2°/1mm yang menyatakan bahwa rotasi kristal sebesar 2° menyebabkan film bertranslasi sebesar 1 mm.

Selanjutnya hubungan antara translasi film O'O'' z dengan dengan sudut rotasi ω dapat ditulis

$$z = C\,\omega \tag{3-30}$$

yang juga memberikan hubungan ekhivalen antara translasi film dengan koordinat silinder φ berdasarkan hubungan $z = C\varphi$.

Dalam prakteknya, setiap bintik dapat dibaca secara langsung dari film dengan bantuan segitiga selluloid seperti ditunjukkan Gambar 3.9. Segitiga selluloid pada gambar tersebut dikontruksi hanya untuk pembacaan pada lapisan ke-nol, sedangkan untuk pembacaan pada lapisan lain mesti dikonstruksi segitiga selluloid yang lain.

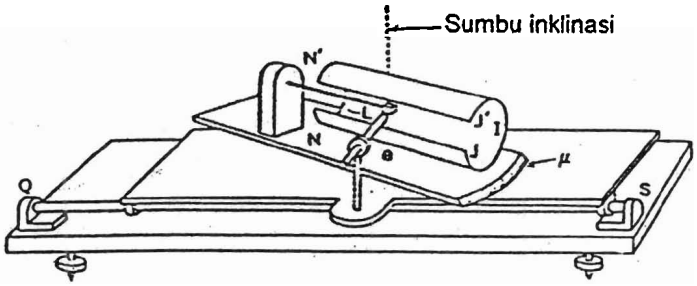


Gambar 3.9. Chart untuk mengukur koordinat (ξ, φ) pada metode Weiisenberg sinar-normal (Buerger, 1942)

Koordinat silinder (ξ, φ) dari setiap bintik pada film dapat ditentukan dengan cara menggerakkan segitiga ke arah horizontal. Nilai ξ dapat dibaca pada skala vertikal dan nilai φ dapat dibaca pada skala horizontal. Pemplotan nilai (ξ, φ) dalam koordinat silinder memberikan rekonstruksi terhadap kisi resipok dari setiap bintik.

3.3. Metode Weissenberg Ekui-Inklinasi

Metode Weissenberg ekui-inklinasi diambil dengan pancaran sinar-X membuat inklinasi terhadap sumbu rotasi kristal sehingga $\mu = -\nu$. Pada keadaan ini, pancaran sinar-X yang belum didifraksikan dan pancaran sinar yang didifraksikan diinklinasi sama terhadap lapisan-lapisan dari kisi balik , sehingga metode ini dikenal sebagai metode ekui-inklinasi. Mekanisme dari metode Weissenberg ekui-inklinasi ditunjukkan pada Gambar 3.10



Gambar 3.10. Mekanisme dari metode Weissenberg ekui-inklinasi
(Buerger, 1942)

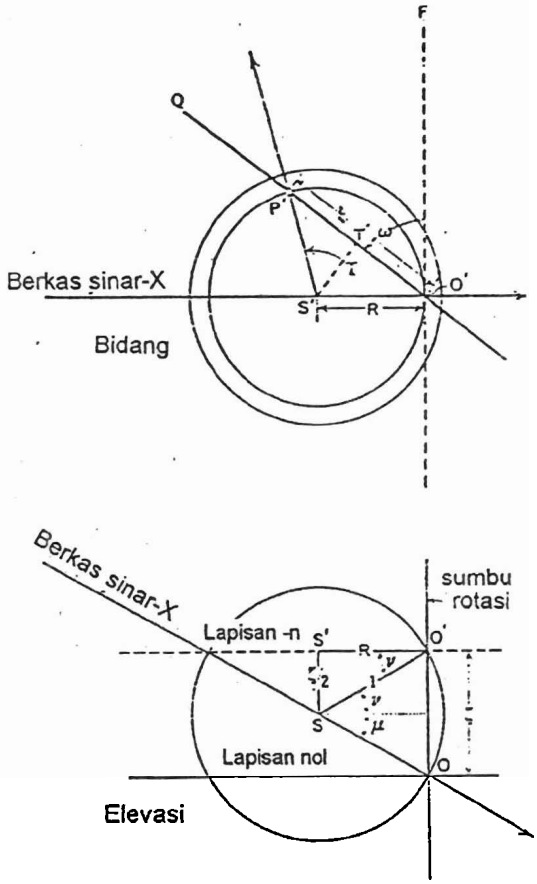
Sebuah pendekatan umum untuk fotograf ekui-inklinasi ialah sebagai berikut : fotograf Weissenberg ialah penyederhanaan sebuah proyeksi dua dimensi dari lapisan kisi balik dua dimensi. Sebuah titik pada lapisan kisi balik dapat ditunjukkan dengan berbagai jenis sistem koordinat dua dimensi dan salah satunya dipilih kemudian diproyeksikan ke dalam fotograf Weissenberg. Sebaliknya, sebuah titik yang ditempatkan pada fotograf Weissenberg dengan salah satu dari sejumlah sistem koordinat yang mungkin dan kemudian sistem koordinat ini dapat diproyeksikan ke dalam lapisan kisi balik.

3.3.1. Proyeksi lapisan ke-n pada metode Weissenberg ekui-inklinasi.

Pada metode ekui-inklinasi ini proyeksi Weisenberg pada lapisan ke-nol dan pada lapisan ke-n secara geometri adalah sama. Untuk itu pada bagian ini hanya dibahas proyeksi Weisenberg lapisan ke-n saja berdasarkan Gambar 3.11.

Bagian bawah Gambar 3.11 memperlihatkan sebuah diagram pada bidang mengandung sumbu rotasi dan pancaran sinar-X. Lingkaran pada gambar tersebut

merupakan profil dari bola refleksi dengan catatan bahwa titik asal terletak pada O dan merupakan perpotongan berkas sinar-X dengan sisi luar dari bola refleksi. Lapisan ke-nol tegak lurus terhadap sumbu rotasi pada titik asal.



Gambar 3.11. Konstruksi kisi balik pada Metode Weissenberg ekui-inklinasi juga tegak lurus ke sumbu rotasi pada jarak ζ diatas lapisan ke-nol (Buerger,1942)

Lapisan ke-n memotong bola refleksi pada lingkaran refleksi untuk lapisan tersebut. Jari-jari dari lingkaran refleksi ini "R" masih tetap diberikan dengan hubungan pers.(3-3) dan (3-4) dan sudut ν dikontrol dengan hubungan berikut:

$$\sin \nu = \zeta / 2 \tag{3-31}$$

Nilai R dapatkan ditentukan sebagai fungsi dari koordinat lapisan dengan mengkombinasikan (3-3) dan (3-4) :

$$R = \sqrt{1 - \left(\frac{\zeta^2}{2}\right)} \tag{3-32}$$

dimana ζ adalah tinggi lapisan ke-n dari lapisan ke-nol.

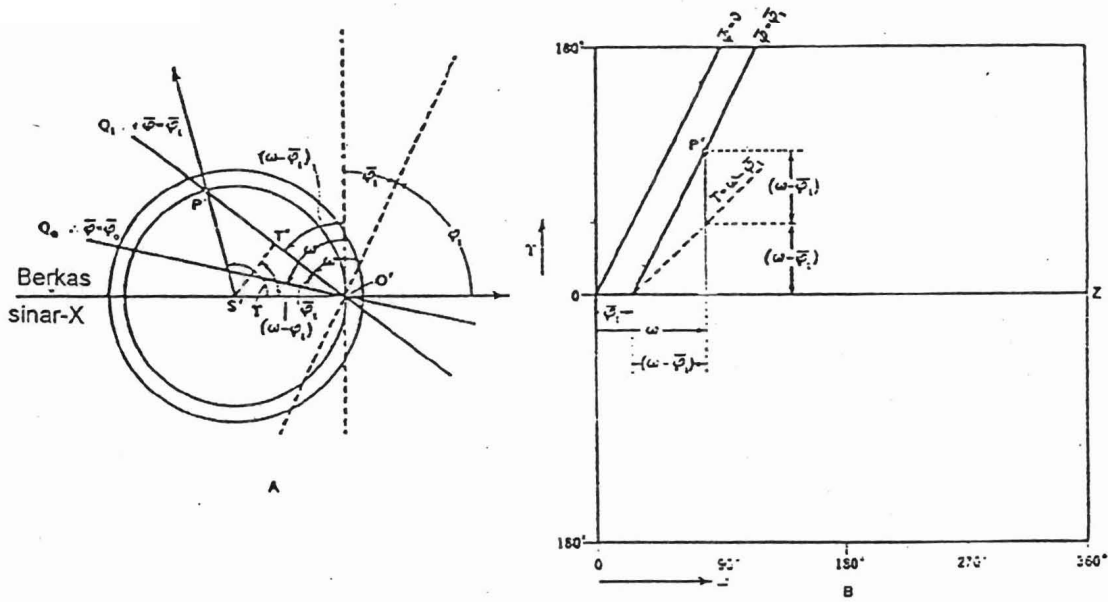
Bagian atas dari Gambar 3.11 memperlihatkan sebuah pandangan dari depan pada ujung paling kanan film silinder pada Gambar 3.10. Garis tebal O' Q adalah garis kisi balik melalui sumbu rotasi dan oleh karena itu merupakan *garis kisi sentral.* Sebelum kristal berotasi kedudukan awal dari garis kisi ini diasumsikan adalah O' F, kemudian rotasi dilakukan berlawanan arah dengan jarum jam. Garis O' Q memotong lingkaran refleksi pada titik P' menimbulkan sebuah potensial refleksi dengan sudut refleksi γ. Sehingga hubungan sudut refleksi γ dengan sudut rotasi ω pada lapisan ke-n ini adalah $\gamma = 2\omega$. Garis kisi sentral ini menghasilkan sebuah deret dari refleksi pada fotograf ekui-inklinasi pada sudut $\gamma = 2\omega$ ini tanpa memandang dilapisan apa fotograf diambil. Secara eksak hubungan ini sama seperti lapisan ke-nol pada fotograf Weissenberg sinar-normal.

Garis O'Q pada uraian sebelumnya mempunyai koordinat $\overline{\varphi}=0$. Pada Gambar 3.11(a) garis O'Q mempunyai koordinat $\overline{\varphi} = \varphi_1$. Setelah dirotasikan melalui sudut ω, garis O'Q berada pada kedudukan $O'Q_1$ seperti diperlihatkan pada

Gambar 3.12. Hubungan sudut refleksi γ dengan sudut rotasi ω setelah rotasi dapat ditulis

$$\gamma = 2(\omega - \overline{\varphi}_1) \tag{3-33}$$

dimana hubungan antara $\gamma = 2\omega$ dan $\gamma = 2(\omega - \overline{\varphi}_1)$ secara grafik dilihat pada Gambar 3-12(b).



Gambar 3.12. Sketsa sebuah lapisan kisi balik , (a) deret kontinu potensial refleksi dirotasikan sebesar φ_1, (b) plot sudut refleksi terhadap sudut rotasi berdasarkan (a)(Bueger, 1942)

Jika dua kuantitas sebarang pada pers.(3-29) diketahui maka kuantitas lainnya dapat dicari. Kemudian jika koordinat film γ dan ω dari sebuah refleksi diukur, maka koordinat silinder kisi balik $\overline{\varphi}_1$ dari titik P' bisa didapatkan, dimana

$$\overline{\varphi}_1 = \omega - \frac{\gamma}{2} \tag{3-34}$$

Koordinat silinder kedua yaitu ξ dari titik P' pada Gambar 3.12 juga mudah ditentukan berdasarkan hubungan berikut

$$sin\frac{\gamma}{2} = \frac{\xi / 2}{R} \tag{3-35}$$

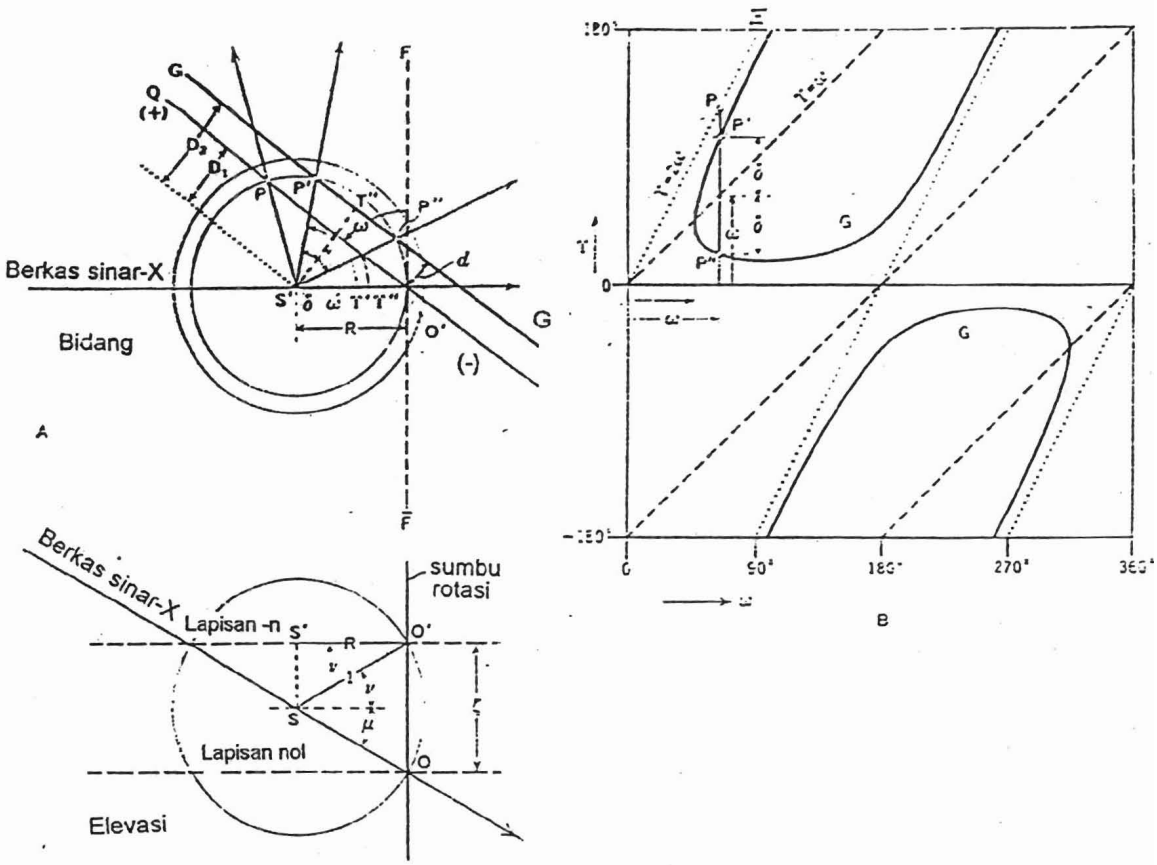
Dengan mensubtitusikan pers (3-32) pers. (3-35) memberikan

$$\xi = 2\sqrt{1-\left(\frac{\zeta}{2}\right)^2}\, sin\frac{\gamma}{2} \tag{3-36}$$

Untuk membuat sebuah fotograf Weissenberg ekui-inklinasi, sistem peralatan mesti di set untuk sudut inklinasi $\mu = -\nu$. Sudut inklinasi ini dicari berdasarkan pers. (3-31) sebagai fungsi dari ζ. Karena μ diketahui untuk tiap fotograf, maka bentuk (3-36) sangatlah berguna.

3.3.2. Proyeksi dari barisan-barisan kisi balik pada fotograf Weisenberg ekui-inklinasi

Pada kasus garis kisi resiprok yang *non sentral* yang terletak pada jarak d dari sumbu rotasi, proyeksi Weissenberg menjadi lebih kompleks. Proyeksi ini diperlihatkan pada Gambar 3.13.



Gambar 3.13. Sketsa sebuah lapisan kisi balik ; (a) deret kontinu potensial refleksi terletak pada jarak d dari titik asal (b) plot sudut refleksi terhadap sudut rotasi berdasarkan (a)(Bueger, 1942)

Proyeksi sepanjang sumbu rotasi pada Gambar 3.13(a) tidak hanya memperlihatkan sebuah *garis sentral* O' Q, tetapi juga sebuah barisan kisi paralel *bukan sentral* GG yang berada pada jarak d dari sumbu rotasi. Untuk penyederhanaan diasumsikan bahwa orientasi mula-mula dari baris kisi GG adalah paralel dengan arah O' F. Barisan kisi *bukan sentral* ini memotong lingkaran pada dua titik P' dan P'' sehingga menghasilkan dua potensial refleksi pada sudut γ' dan γ'' . Dengan cara yang sama dengan metode sinar-normal diperoleh:

$$\gamma' = \omega + \delta \qquad (3\text{-}37)$$

$$\gamma'' = \omega - \delta$$

Sudut δ dapat diturunkan dari

$$\cos\delta = \frac{D_2}{R} \tag{3-38}$$

dimana

$$D_2 = R\cos\omega + d \tag{3-39}$$

Dengan mensubtitusikan (3-39) dan (3-38) ke dalam (3-37) rumus untuk sudut refleksi dapat di tulis

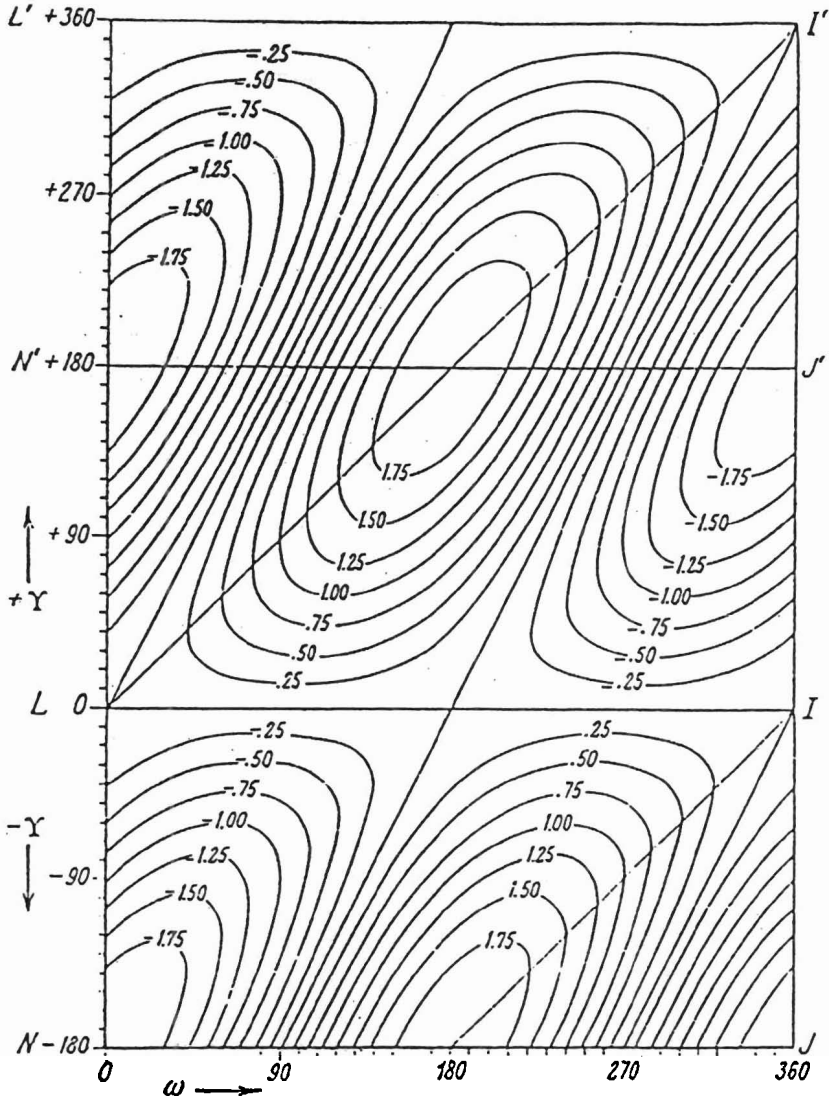
$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\cos\omega + \frac{d}{R}\right) \tag{3-40}$$

Pers. (3-40) dapat dikembangkan dengan mensubtitusi nilai R yang diberikan pada pers.(3-3) sehingga

$$\gamma', \gamma'' = \omega \pm \cos^{-1}\left(\cos\omega + \frac{d}{\cos\nu}\right) \tag{3-41}$$

Dua refleksi ini kemudian didistribusikan pada jarak yang sama diatas dan dibawah garis γ = ω seperti diilustrasikan pada Gambar 3.13(b).

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG



Gambar 3-14. Kurva garis kisi balik : pada fotograf Weissenberg ekui-inklinasi dimana garis tersebut terletak pada jarak d/cosν dari titik pusat (Buerger, 1942)

3.3.3 Transformasi dari koordinat refleksi ke koordinat silinder pada metode Weissenberg ekui-inklinasi.

Koordinat kartesian dari sebuah film Weissenberg memungkinkan untuk mengukur secara langsung koordinat refleksi, ω dan γ. Telah diperlihatkan bahwa koordinat kisi balik : polar dilukiskan sebagai fungsi dari kedua koordinat refleksi

tersebut. Untuk metode ekui-inklinasi hubungan keduanya diperlihatkan sebagai berikut :

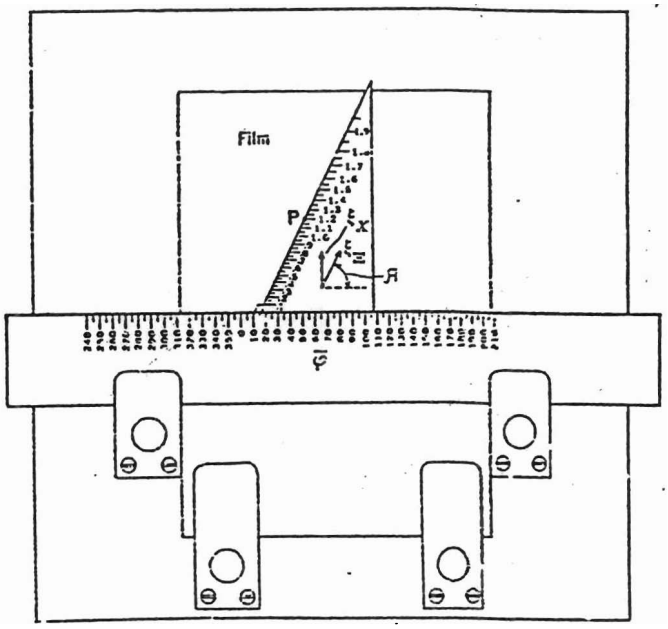
$$\overline{\varphi}_1 = \omega - \frac{\gamma}{2} \tag{3-42}$$

dan

$$\xi = 2\sqrt{1-\left(\frac{\zeta}{2}\right)^2}\, sin\frac{\gamma}{2} \tag{3-43}$$

Oleh karena itu film Weissenberg dapat dipetakan pada sepanjang garis yang mana $\overline{\varphi}$ adalah konstan, dan dengan garis lain dimana ξ adalah konstan. Dari pemetaan dua koordinat ini yang merupakan susunan dari lapisan kisi balik ζ, kita bisa mengindeks lapisan tersebut.

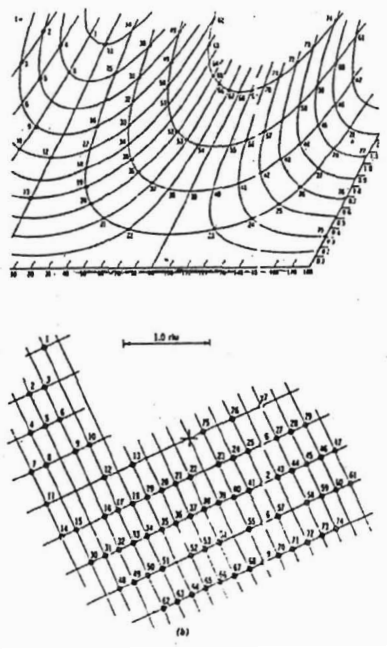
Dalam prakteknya, setiap bintik pada film juga dapat dibaca secara langsung dengan bantuan segitiga seperti ditunjukkan Gambar 3.15 dimana segitiga tersebut dikontruksi untuk pembacaan pada lapisan ke-nol.



Gambar 3.15. Chart untuk mengukur koordinat (ξ, φ) pada metode Weisenberg sinar-normal (Buerger, 1942)

Koordinat silinder (ξ, φ) setiap bintik pada film dapat ditentukan dengan cara menggerakkan segitiga arah horizontal. Pembacaan pada skala vertikal memberikan nilai untuk ξ dan pembacaan pada skala horizontal memberikan nilai φ. Bila proses ini dilakukan pada semua bintik pada film, maka kisi balik dari semua bintik tersebut tersebut dapat dikonstruksi.

Cara lain untuk mengindeks lapisan kisi balik yaitu dengan menggunakan kurva seperti yang diilustrasikan pada Gambar 3.16. Kurva tersebut digunakan dalam bentuk templat-templat yang ditempatkan dibawah film Weissenberg. Dengan bantuan templat, kurva garis kisi balik digambar pada kertas transparan yang diletakkan diatas film. Ini ekivalen dengan memecahkan setiap lapisan kedalam sekumpulan dari barisan-barisan paralel. Salah satu sumbu dari kisi balik telah terseleksi dengan prosedur ini.



Gambar 3.16. Contoh rekonstuksi dari lapisan kisi balik
(Nufield, 1966)

3.4. Penentuan grup ruang dari kristal

Berdasarkan kecenderungan h,k, dan l yang terindeks pada film, dapat dianalisis grup ruang kristal dengan menggunakan empat buah tabel sebagai berikut:

Tabel 3.1. Ciri indeks tipe sel-satuan

Tipe	Ciri (h,k,l)	Translasi
P	Tidak ada	-
A	k + l = 2n	(b + c)/2
B	h + l = 2n	(a + c)/2
C	h + k = 2n	(a + b)/2
I	h + k + l = 2n	(a + b + c)/2
F	h + k = 2n k + l = 2n [(h + l) = 2n]	(a + b)/2 (b + c)/2 (a + c)/2
R	-h + k + l = 3n h - k + l = 3n	(a + 2b + 2c)/3 (2a + b + c)/3 (a + b + c)/3 (2a + b + 2c)/3

Tabel 3.2. Ciri indeks simetri skrup ("screw") yaitu suatu operasi simetri yang merupakan gabungan dari opresi rotasi dan translasi sepanjang sumbu rotasi

Sumbu skrup	Orientasi	Translasi	Ciri (h,k,l)
2_1	//a	a/2	h00 : h =2n
2_1	//b	b/2	0k0 : k =2n
2_1	//c	c/2	00l : l = 2n
3_1 atau 3_2	//c	c/3, 2c/3	000l : l = 3n
atau 4_3	//c	c/4	00l : l =4n
4_2	seperti 21		
6_1 atau 6_5	//c	c/6, 5c/6	000l : l =6n
6_2 atau 6_4	seperti 31		
6_3	seperti 21		

Tabel 3.3. Ciri indeks simetri luncur ('glide") yaitu suatu operasi simetri yang merupakan gabungan operasi refleksi dan translasi sejajar dengan bidang refleksi

Bidang luncur	Orientasi	Translasi	Ciri(h,k,l)
a	⊥b	a/2	h0l : h =2n
a	⊥c	a/2	hk0 : h =2n
b	⊥a	b/2	0kl : k = 2n
b	⊥c	b/2	hk0 : k = 3n
c	⊥a	c/2	0kl : l = 2n
c	⊥b	c/2	h0l : l = 2n
n	⊥a	(b+c)/2	0kl : k+ l = 2n
n	⊥b	(a+c)/2	h0l : h+ l = 2n
n	⊥c	(a+b)/2	hk0: h+ k = 2n

Tabel 3.4. Syarat batas untuk grup ruang monoklinik

Syarat batas refleksi sinar-X	Kemungkinan grup ruang
hkl : tidak ada h0l : tidak ada 0k0: tidak ada	P2, Pm, P2/m
hkl : tidak ada h0l : tidak ada 0k0: κ=2n	$P2_1$, $P2_1/m$
hkl : tidak ada h0l : l=2n 0k0: tidak ada	Pc, P2/c
hkl : tidak ada h0l : l =2n 0k0: k=2n	$P2_1/c$
hkl : h+k = 2n h0l : tidak ada 0k0: tidak ada	C2, Cm, C2/m
hkl : h + k = 2n h0l : l = 2n, (h=2n) 0k0: k =2n	Cc, C2/c

3.5. Penentuan parameter -parameter kisi

Hubungan antara parameter kisi dengan jarak bidang kisi resiprok d^*_{hkl} atau kisi real d_{hkl} untuk seluruh sistem kristal dapat ditulis

$$d^{*2}_{hkl} = h^2a^{*2} + k^2b^{*2} + l^2c^{*2} + 2klb^*c^*\cos\alpha^* + 2lhc^*a^*\cos\beta^* + 2hka^*b^*\cos\gamma^* \quad (3\text{-}49)$$

dimana h,k,l, dan d*hkl = 2sinθ adalah parameter-parameter yang diketahui dari pengamatan. Untuk kristal monoklinik ($a^* \neq b^* \neq c^*$, $\alpha^* = \gamma^* = 90$, $\beta^* \neq 90$), hubungan pada (3-49) dapat ditulis :

$$4\sin^2\theta = h^2a^{*2} + k^2b^{*2} + l^2c^{*2} + 2lhc^*a^*\cos\beta^* \quad (3\text{-}50)$$

Parameter-parameter kisi balik pada (3-50) dapat ditentukan dengan metoda least-square. Metode ini mensyaratkan bahwa jumlah selisih kuadrat parameter hitung dengan parameter yang di amati adalah minimum.

$$\sum_i \left(h_i^2a^{*2} + k_i^2b^{*2} + l_i^2c^{*2} + 2l_ih_ic^*a^*\cos\beta^* - 4\sin^2\theta_i\right) = \min. \quad (3\text{-}51)$$

Dengan pendekatan minimisasi, empat variabel a*, b*, c*, cos β* yang tidak diketahui pada (3-51) dapat dicari dari sejumlah h, k, l dan θ yang telah diketahui. Prosedur least-square diselesaikan dengan cara numerik; yaitu memecahkan empat variabel yang tidak diketahui dari sejumlah data.

BAB IV

METODE SERBUK

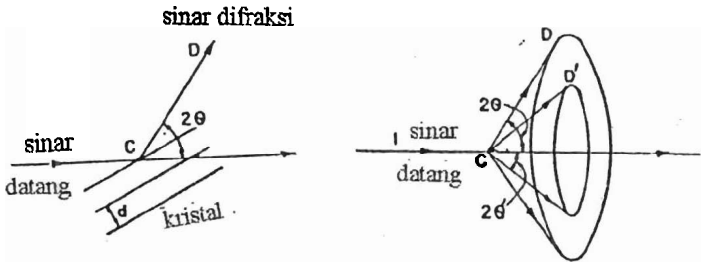
4.1. Fotograf Serbuk

Dari banyak metode-metode difraksi sinar-X, metode serbuk (powder) memiliki kekhasan tersendiri. Hal ini disebabkan karena metode serbuk dapat secara langsung dipakai untuk semua material kristal dan cara ini yang paling lazim dipergunakan karena tidak rumit dan mudah dalam interpretasi.

Metode serbuk tidak memerlukan kristal tunggal, tetapi cukup dengan serbuk halus. Serbuk halus tersebut membuat kita berhadapan dengan banyak sekali kristal-kristal kecil (kristalit) dengan orientasi kristal yang serba acak. Untuk mendapatkan sampel berbentuk serbuk ini adalah dengan cara membuat atau memotong kristal yang besar dengan diameter antara 0,5-1,0 mm. Sampel ini kemudian dibentuk seperti tangkai-tangkai tipis dengan bantuan dari beberapa bahan perekat, atau dengan menekan serbuk ini kedalam tangkai gelas tipis, atau dengan mencetak serbuk ini kedalam sebuah gelas kapiler.

Jika berkas sinar-X monokromatik mengenai sampel serbuk kristal yang ditempatkan pada ujung sumbu ditengah kamera, serbuk kristal yang orientasinya kebetulan sama dengan syarat difraksi Bragg yaitu $2d \sin \theta = \lambda$ akan memberikan pantulan sudut hamburan 2θ, seperti diperlihatkan pada Gambar 4.1. Berkas yang dihamburkan ini memberikan pengitaman pada film yang secara silindrik mengelilingi sampel. Jika berkas sinar didifraksikan oleh bidang-bidang kisi yang lain dengan jarak antar bidang d_1, d_2, d_3 , dan seterusnya maka akan terbentuk

lain dengan jarak antar bidang d_1, d_2, d_3 , dan seterusnya maka akan terbentuk kerucut-kerucut dengan sudut-sudut hamburan $2\theta_1$, $2\theta_2$, $2\theta_3$ dan seterusnya pada film. Kerucut-kerucut ini kosentrik terhadap berkas sinar datang untuk semua bidang kisi. Agar terbentuk kerucut difraksi terus-menerus maka perlu merotasikan sampel serbuk ini sekitar sumbu penyinaran.

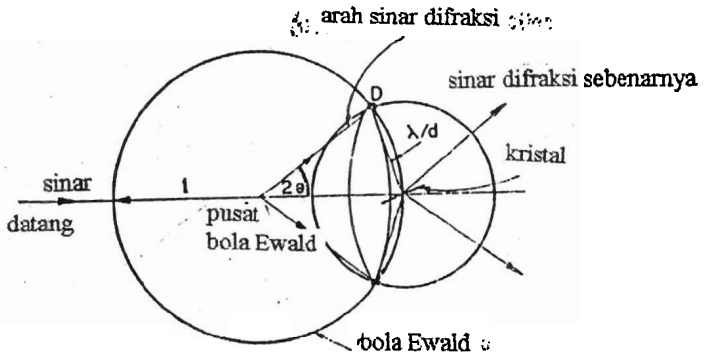


Gambar 4.1. Geometri difrakasi untuk metode serbuk
(Verma & Srivastava, 1982)

Pembentukan kerucut-kerucut difraksi dapat dipahami dengan menggunakan konsep kisi balik . Berdasarkan konversi yang dipakai dalam eksperimen-eksperimen difraksi sinar-X, titik asal diambil pada titik dimana berkas sinar-X yang datang jatuh pada sampel. Setiap kristalit (kristal-kristal kecil) mempunyai sebuah titik kisi balik pada jarak λ/d dari titik asal. Mengingat terdapat sejumlah besar kristalit yang orientasi acak, maka setiap kristalit mempunyai titik kisi balik -yang menempati sebuah bola dengan jari-jari λ/d dari titik asal. Kontur kisi balik untuk kumpulan bidang-bidang kisi yang lain dengan jarak antar bidangnya d_1 , d_2 , dan seterusnya akan menempati bola dengan jari-jari λ/d_1 , λ/d_2 , dan seterusnya dari titik asal. Kontruksi kisi balik dalam kasus sampel serbuk ini berhubungan

dengan sekumpulan bola-bola konsentris dengan jari-jari yang berbeda. Hal ini menegaskan bahwa berdasarkan simetri dari kristal, beberapa vektor kisi balik mempunyai panjang yang sama tetapi arahnya acak, sehingga titik-titik kisi balik menempati bola yang sama, seperti untuk bidang 100, 001, 010, untuk kristal kubik.

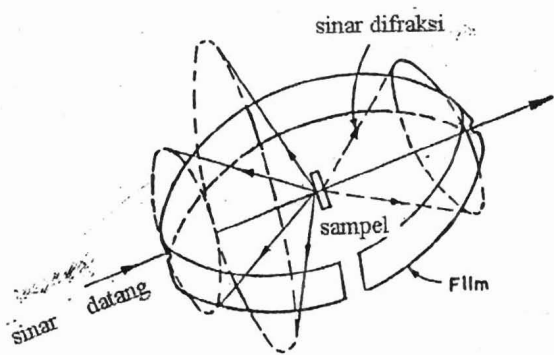
Sekarang kita dapat menurunkan metode difraksi secara geometri sesuai dengan hukum Bragg untuk metode serbuk, seperti yang telah dibahas dalam metode rotasi kristal dan metode Weissenberg. Berkas sinar yang didifraksikan akan menghasilkan sebuah titik balik yang terletak pada bola Ewald. Oleh karena itu, arah dari sinar difraksi diperoleh dengan menempatkan kurva perpotongan antara bola Ewald dan bola yang mendefenisikan vektor kisi balik dan kemudian melukis garis-garis dari pusat bola Ewald ke titik-titik pada kurva ini. Karena kurva perpotongan antara dua bola adalah sebuah lingkaran, maka arah dari sinar difraksi akan berada disepanjang garis-garis yang menghubungkan keliling lingkaran dengan pusat bola Ewald. Kemudian berkas sinar yang didifraksikan akan terletak disepanjang kerucut-kerucut difraksi seperti terlihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Pembentukan garis-garis difraksi serbuk dalam bentuk konsep kisi balik (Verma & Srivastava, 1982)

Kemudian kerucut difraksi adalah kerucut yang identik satu sama lain dengan puncaknya berada di pusat bola kisi balik. Kontruksi kisi balik menghasilkan pola yang sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Untuk mengambil pola difraksi serbuk, karakteristik radiasi sinar-X yang dipakai adalah CuK_α dengan panjang gelombang λ yang diketahui. Kemudian dari persamaan Bragg $2d \sin \theta = \lambda$, jarak antar bidang d dapat dihitung jika θ diketahui. Dengan merubah nilai θ didapat nilai d yang berbeda-beda.

Untuk merekam pola-pola difraksi biasanya digunakan film fotografik. Salah satu cara untuk menempatkan film adalah tegak lurus terhadap berkas sinar datang. Garis-garis difraksi kemudian terekam dalam bentuk lingkaran-lingkaran konsentris sehingga nilai θ dapat dihitung. Tetapi jika cara ini dipakai, beberapa garis difraksi dengan $2\theta > 90^\circ$ sukar direkam. Untuk mengatasi kesulitan ini, digunakan film berbentuk silinder, seperti diperlihatkan pada Gambar 4.3, sehingga garis-garis difraksi dapat terekam pada film mulai dari 0° sampai 180^0.

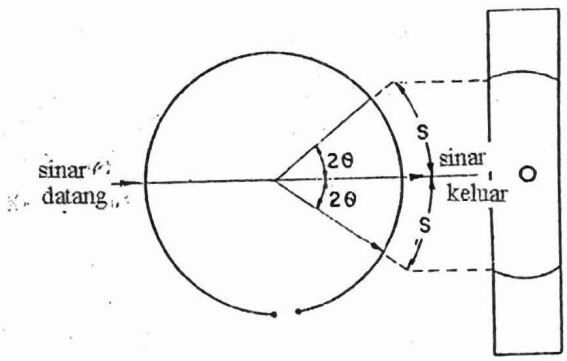


Gambar 4.3. Film silinder dari kamera Debye-Scherrer (Nuffield, 1966)

Teknik ini diperkenalkan oleh Debye-Scherrer dan kamera bentuk ini dikenal dengan nama kamera Debye-Scherrer (Verma & Srivastava, 1982). Berbagai cara telah dikembangkan untuk menempatkan film silinder disekitar sampel dengan menyediakan tempat masuk dan keluar berkas sinar-X.

4.2. Pengukuran Sudut Bragg dan Jarak Antar Bidang

Untuk menghitung jarak antar bidang d, maka perlu diukur sudut hamburan θ. Pengukuran ini dapat dilakukan dengan cara mengembangkan film didepan pengamat pada jarak tertentu. Film dengan garis-garis difraksi (busur) ditempatkan didepan suatu sumber cahaya sehingga garis-garis difraksi dapat diamati dengan jelas. Posisi garis-garis difraksi dibaca mulai dari salah satu ujung film sampai ke pusat dari lubang sinar masuk dan lubang sinar keluar. S_1 dan S_2 adalah dua busur yang berhubungan dari kerucut difraksi tertentu dan jarak linier kedua busur tersebut memberikan nilai 2S. Kemungkinan lain untuk menghitung S adalah dengan menetapkan $\theta = 0°$ pada pusat lubang berkas sinar datang dan pusat dari lubang sinar keluar. Nilai θ dapat dihitung dari nilai S dengan menggunakan hubungan geometri seperti yang ditunjukkan Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Diagram yang mengilustrasikan konversi dari jarak linier pada film kedalam sudud Bragg (Verma & Srivastava, 1982).

Berdasarkan geometri pada Gambar 4.4 dapat ditulis hubungan sudut θ dengan jarak linier S sebagai berikut

$$4\theta = \frac{2S}{r}$$

atau

$$\theta = \frac{S}{2r}\text{radian} \qquad (4\text{-}1)$$
$$= S\left(\frac{180}{2\pi r}\right)\text{derajat}$$

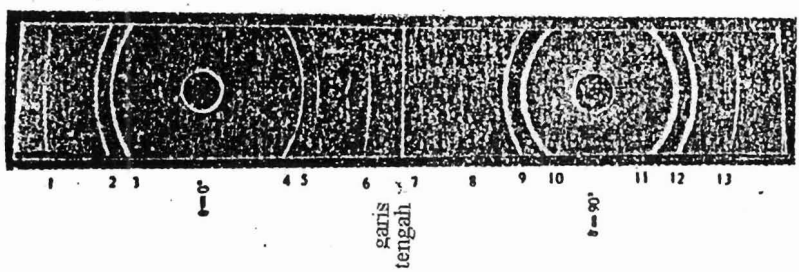
dimana r adalah jari-jari kamera. Kita mengetahui bahwa nilai {180° /π } adalah 57,3 radian. Kemudian jika kita mempunyai kamera yang berdiameter 2r = 57,3 mm, maka θ = S, sehingga 1° dalam θ berhubungan dalam 1 mm pada S. Namun untuk mendapatkan resolusi yang baik dan akurasi yang tinggi biasanya digunakan kamera yang diameternya 114,6 mm. Untuk kamera yang berukuran ini, maka 1° dalam θ berhubungan dengan 2 mm dalam S. Walaupun konversi dari S kedalam θ sudah diketahui, namum untuk mengevaluasi nilai θ secara langsung perlu memasukkan nilai koreksi untuk kesalahan penyusutan yang selalu ada ketika film dicuci dan dikeringkan. Kita tahu bahwa sebelum memproses film, jarak anggular θ di antara pusat dari lubang masuk dan keluar sinar adalah 90° yang sama dengan 90 mm. Jika kemudian film itu dicuci dan dikeringkan maka jarak antara pusat lubang selalu lebih kecil dari 90 mm. Perbandingan jarak sebenarnya dengan 90 mm, memberikan faktor penyusutan dari film.

Salah satu bagian penting dari pengukuran linier S dan mengkonversinya kedalam nilai θ adalah membedakan garis-garis difraksi sudut rendah dengan sudut

tinggi. Hal ini dapat diperoleh dengan cara mengamati dua karakteristik berikut pada film. Pertama berhubungan dengan intensitas yang timbul disebabkan oleh hamburan radiasi dari udara pada kamera. Hamburan ini maksimum terjadi di dekat $\theta = 0$. Hamburan ini menyebabkan penghitaman film di dekat sudut $\theta = 0$. Gambaran kedua yang membantu dalam membedakan sudut rendah dengan sudut tinggi adalah dalam memandang resolusi garis-garis yang berhubungan dengan $K_{\alpha 1}$ dan $K_{\alpha 2}$ yang merupakan komponen-komponen dari doblet K_α. Untuk CuK_α dimana radiasi yang berkerja pada fotograf serbuk, terurai menjadi $CuK_{\alpha 1}$ (λ= 1,54050 A°) dan $CuK_{\alpha 2}$ (λ= 1,54050 A°). Jadi setiap garis difraksi akan terurai menjadi dua komponen dengan panjang gelombang $K_{\alpha 1}$ dan $K_{\alpha 2}$. Dua komponen ini memberikan resolusi hanya pada sisi sudut tinggi dimana pemisahan antara dua sudut Bragg adalah signifikan dan menyebabkan doblet dapat dikenali. Pada umumnya doublet terlihat untuk kamera yang mempunyai diameter yang besar dimana pemisahan diantara dua komponen lumayan besar.

Setelah sudut Bragg θ diketahui, maka jarak antar bidang d secara mudah bisa ditentukan dengan menggunakan persamaan $2d \sin \theta = \lambda$. Jarak ini kemudian dihubungkan dengan konstanta kisi a, b, dan c melalui indeks Miller h, k, dan l. Untuk kasus kristal triklinik, penentuan parameter kisi sangatlah kompleks, karena mempunyai simetri yang rendah. Namun untuk kristal yang mempunyai simetri yang tinggi, penentuan parameter kisi tidaklah terlalu sukar. Sebagai contoh kita akan membahas cara penentuan parameter-parameter kisi dengan metode serbuk untuk kristal kubik yang diambil dengan kamera yang berdiameter 57,3 mm dan

radiasi yang dipakai adalah CuK_α (λ = 1,54 A°). Hasil pengambilan fotonya dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Pola difraksi serbuk (powder) dari kristal tembaga (copper) dengan radiasi CuK_α (λ = 1,54 A°) dibuat dengan kamera berdiamter 57,3 mm (Verma & Srivastava, 1982)

Berdasarkan persamaan Bragg, $2d \sin\theta = \lambda$ kita dapat menulis $\sin^2\theta = \lambda^2 / 4d^2$.

Untuk kristal kubik diketahui $d = a / \sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$, maka,

$$\sin^2\theta = \frac{\lambda^2}{4a^2}(h^2 + k^2 + l^2) = \frac{\lambda^2}{4a^2}N \qquad (4\text{-}2)$$

dimana $N = h^2 + k^2 + l^2$ adalah bilangan bulat. Dari pers. (4-2) diketahui bahwa nilai $\sin^2\theta$ membawa informasi tentang a dan indeks h, k, dan l yang terkandung dalam N. Untuk mendapatkan nilai ini kita pertama mengukur jarak linier dari garis-garis difraksi, dengan memasukkan kesalahan penyusutan dan menentukan nilai θ untuk setiap garis. Contoh perhitungan untuk mencari nilai θ dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2. Nilai sina θ kemudian diubah kedalam bentuk nilai $\sin^2\theta$.

Tabel 4.1. Konversi dari jarak linier S ke sudut hamburan θ

Nomor baris	Jarak di ukur dari ujung dalam cm	Posisi dari lubang dalam cm	Jarak antara dua lubang dalam cm (2θ=180°)	Faktor konversi
1	18.955			
2	20.055			
3	20.390			
lubang pertama		posisi rata-rata dari lubang pertama		8.92 cm = 90°
4	24.710	$\bar{y}_1 = 22.55$		1 cm = 10.089°
5	25.065			
6	26.240			
garis tengah	27.015			
7	27.285			
8	28.360		31.47−22.55 =8.92	
	29.325			
9(ii)	29.360			
10(i)	29.730			
10(ii)	29.780			
lubang kedua		posisi rata-rata dari lubang kedua		
11(i)	33.175	$\bar{y}_2 = 31.47$		
11(ii)	33.225			
12(i)	33.575			
12(ii)	33.615			
13	34.530			
1				

Tabel 4.2. Nilai sin θ dan $\sin^2$ θ untuk setiap garis-garis difraksi

Posisi garis (x)	$\theta = (x - \bar{y}_1) \times 10.089$ atau $= 90 - (y_2 - x) \times 10.089$ (dalam derajat)	sin θ	$\sin^2 \theta$
24.710	21.7937	0.3713	0.1378
25.065	25.3755	0.4289	0.1839
26.240	37.2309	0.6053	0.3663
27.015	45.0504	0.7081	0.5014
27.285	47.7746	0.7408	0.5487
28.360	58.6210	0.8539	0.7291
29.325	68.3576	0.9296	0.8641
29.360	68.7107	0.9318	0.8682
29.730	72.4439	0.9535	0.9091
29.780	72.9484	0.9561	0.9141

Kita membagi nilai-nilai $\sin^2 \theta$ ini dengan suatu nilai bilangan bulat N yang mungkin. Dari hasil $\sin^2 \theta$ / N ini terlihat suatu faktor konstanta λ^2 / $4a^2$ yang harganya sama. Tabel 4.3 memberikan faktor konstanta yang hampir sama yaitu berada pada N = 3, 4, 8,... untuk Tabel 4.2, yakni 0,0459 dan nilai merupakan λ^2 / $4a^2$. Dari faktor konstanta 0,0459 , setelah mensubtitusikan nilai λ = 1,54 A°, kita dapat memperoleh nilai aproksimasi untuk parameter kisi a. Tabel 4.4 memberikan faktor konstanta rata-rata untuk garis-garis sudut lebih tinggi. Sebagai contoh, nilai $\sin^2 \theta$ = 0,7291 ketika dibagi dengan faktor konstanta rata rata 0,0458 didapatkan nilai N = 16 (lihat Tabel 4.4). Untuk setiap garis faktor konstantanya adalah λ^2 / $4a^2$ = $\sin^2 \theta$/N sehingga dari besaran ini parameter a bisa ditentukan. Sebagai pengganti pengambilan nilai rata-rata untuk mendapatkan nilai a (lima kolom pertama dalam Tabel 4.4), nilai hitung yang akurat diperoleh dari garis-garis dengan sudut sedikit tinggi. Sebagai contoh, nilai a yang dihitung adalah 3,612 A° (lihat Tabel 4.5) didapatkan dari garis-garis tiga sudut tinggi terakhir pada Tabel 4.4.

Tabel 4.3. Penentuan faktor konstanta nilai $\sin^2 \theta$ / N untuk beberapa garis pertama

	$\sin^2 \theta$	$\sin^2 \theta/N$						Faktor konstanta rata-rata terendah untuk N=3,4,8, ...
		2	3	4	5	6	8	
1	0.1378	0.0689	*0.0459*	0.0344	0.0255	0.0229	0.0172	
2	0.1839	0.0919	0.0613	*0.0459*	0.0367	0.0306	0.0229	
3	0.3663	0.01835	0.1221	0.0915	0.0732	0.0610	*0.0457*	0,0458
4	0.5014	0.2507	0.1671	0.1253	0.1003	0.0835	0.0626	

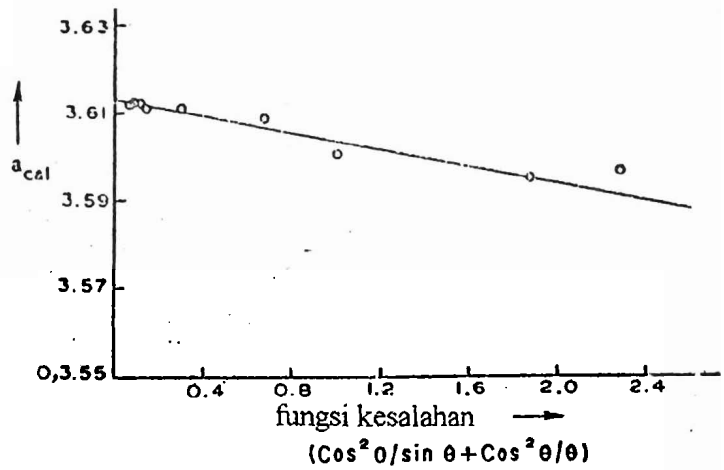
Tabel 4.4. Pengindeksan refleksi dan penentuan parameter kisi

S. No.	$\sin^2\theta$	N	(hkl)	$\sin^2\theta/N = \lambda^2/4a^2$	a in Å	Fungsi kesalahan $\frac{1}{2}\left(\frac{\cos^2\theta}{\sin\theta}+\frac{\cos^2\theta}{\theta}\right)$
1	0.1378	3	(111)	0.04593	3.5969	2.2948
2	0.1839	4	(200)	0.04597	3.5953	1.8748
3	0.3663	8	(220)	0.04580	3.6025	1.0117
4	0.5014	11	(311)	0.04558	3.6106	0.6700
5	0.5487	12	(222)	0.04573	3.6051	0.5740
6	0.7291	16	(400)	0.04556	3.6111	0.2913
7	0.8641	19 } doublet	(331)	0.04547	3.6118	0.1302
8	0.8682	19		0.04569	3.6122	0.1258
9	0.9091	20 } doublet	(420)	0.04545	3.6126	0.0837
10	0.9141	20		0.04570	3.6133	0.0788

Tabel 4.5. Parameter kisi a

Sumber	Nilai a
Dari tabel 4.4	3,612 A°
Dari grafik (gambar 4.6)	3,613 A°
Standar nilai yang diketahui	3,615 A°

Untuk menentukan parameter-parameter kisi secara akurat, digunakan grafik yang memplot parameter kisi terhadap sebuah fungsi kesalahan, seperti terlihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Grafik parameter kisi diplot terhadap fungsi kesalahan (Verma & Srivastava, 1982)

Sebuah garis lurus yang menghubungkan beberapa titik terhadap titik-titik sudut tinggi dilukis. Titik potong fungsi kesalahan terhadap sumbu ordinat memberikan nilai parameter kisi yang sangat akurat dimana sudut hamburan pada titik tersebut adalah $\theta = 90°$.

Langkah selanjutnya adalah menentukan indeks h, k, dan l pada garis-garis tersebut. Pertama yang dilakukan adalah mencatat seluruh nilai N, kemudian memfaktorisasikan nilai N dengan coba-coba dalam bentuk $N = h^2 + k^2 + l^2$. Nilai h, k, dan l kemudian didapatkan dan nilai ini merepresentasikan indeks-indeks untuk garis yang berhubungan. Sebagai sontoh, jika nilai N = 3, maka nilai h, k, dan l yang mungkin adalah 1,1, dan 1 dan indeks dari garis tersebut adalah (111). Prosedur yang sama diikuti untuk semua nilai N yang lain, dan indeksnya telah dijabarkan dalam Tabel 4.4. Jadi setiap garis yang diobservasi bisa diindeks.

4.3. Penentuan Parameter-Parameter Kisi

Salah satu bagian terpenting dalam karakterisasi kristalografi dari material sembarang adalah menentukan parameter kisi seakurat mungkin. Metode serbuk sangat baik untuk tujuan ini karena parameter kisi secara langsung berhubungan dengan jarak antar bidang. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, parameter kisi dapat ditentukan secara akurat dari nilai d pada garis difraksi $\theta = 90°$. Untuk jelasnya, mari kita tinjau persamaan Bragg berikut. Turunan pertama dari d terhadap sudut θ dari persamaan Bragg, $2d \sin\theta = \lambda$, atau $d = 1/2\ \lambda \operatorname{cosec} \theta$ adalah

$$\delta d = -1/2\,\lambda\,(\operatorname{cosec}\theta \cot\theta)(\delta\theta) = -(d \cot\theta)(\delta\theta) \qquad (4\text{-}3)$$

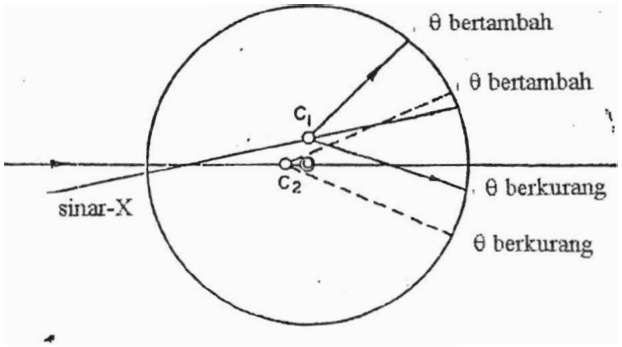
Karena $\cot\theta = 0$ pada $\theta = \pi/2$ maka $\delta d/d = 0$ untuk $\theta = \pi/2$, artinya adalah kesalahan sembarang δd pada pengukuran nilai d menjadi hilang walaupun terdapat beberapa kesalahan dalam pengukuran nilai θ pada $\theta = \pi/2$. Bagaimanapun pada $\theta = \pi/2$, berkas-berkas difraksi yang dipantulkan searah sinar datang sehingga difraksi tidak mungkin dapat direkam.

Disamping penyusutan pada film, ada beberapa kesalahan yang mungkin terjadi dalam pengukuran nilai θ sehingga menyebabkan kesalahan dalam menghitung nilai d. Beberapa kesalahan yang penting untuk diketahui adalah (i) ketidaksesuaian sampel, (ii) biasan sinar-X oleh sampel, (iii) perpindahan dari garis serbuk jika direkam pada dua sisi berlawanan pada film, (iv) divergensi dari sinar-X, dan (v) absorbsi sinar-X oleh sampel.

Ketidaksesuaian dari sampel timbul sebagai akibat ketidaktepatan sumbu kamera dengan sumbu rotasi dari sampel. Seperti diperlihatkan pada Gambar 4.7, dua jenis sumber kesalahan mungkin terjadi. Pertama, sampel ditempatkan tegaklurus dengan sumbu yang menghubungkan pusat-pusat dari lubang masuk dan keluar sinar dari kamera. Pada posisi C_1, garis-garis difraksi pada salah satu sisi dari film akan tertukar untuk sudut θ tinggi dan sisi yang lainnya untuk sudut θ rendah. Nilai rata-rata tidak akan berubah secara signifikan dari nilai yang benar. Namun, jika sampel dipertukarkan paralel terhadap sumbu kearah sinar masuk (posisi C_2), dua garis difraksi yang berhubungan akan menjauh dan nilai θ bertambah dari nilai

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

yang sebenarnya. Sebaliknya, kasus pergeseran kearah sinar keluar nilai θ berkurang dari nilai yang sebenarnya. Analisis terhadap jenis kesalahan ini pada awalnya diperkenalkan oleh Bradley dan Jay yang menemukan bahwa kesalahan jenis ini sebanding dengan $\cos^2 \theta$ (Verma & Srivastava,1982).



Gambar 4.7. Efek ketidaksesuaian sampel dengan sumbu kamera yang berhubungan dengan posisi kristal yang benar (Verma & Srivastava, 1982)

Kemudian mengenai biasan dari sinar-X biasanya kecil, karena indeks bias untuk semua material mendekati satu. Kesalahan jenis ini bisa diabaikan. Pergeseran garis yang sama yang direkam pada dua sisi yang berlawanan pada film, biasanya terjadi ketika salah satu berkas difraksi tidak memotong film tegaklurus atau ketika berkas yang fokusnya sangat tinggi digunakan. Kesalahan jenis ini dapat diatasi dengan menggunakan film berlapis atau dengan memindahkan emulsi dari salah satu sisi film dengan menarik film ketika film dibasahi.

Kesalahan yang disebabkan oleh divergensi dan absorbsi dari sinar-X lebih serius dan walaupun divergensi dan absorbsi ini menyebabkan efek yang berbeda. Pada kasus ini pusat dari garis serbuk tidak dapat diambil untuk merepresentasikan posisi Bragg yang benar. Ada beberapa usaha untuk menentukan bentuk fungsi kesalahannya dan fungsi ini telah ditemukan sesuai dengan hasil eksperimen yaitu $\left[\frac{1}{2}\left(\frac{\cos^2\theta}{\sin\theta}+\frac{\cos^2\theta}{\theta}\right)\right]$. Menurut Verma & Srivastava (1982) fungsi ini diperkenalkan oleh Nelson dan Riley.

Supaya dapat mengaplikasikan fungsi ini guna mengeliminasi semua sistem kesalahan untuk menentukan parameter kisi secara akurat, parameter kisi ditentukan untuk setiap nilai dari sudut Bragg θ (sebagai ilustrasi lihat Tabel 4.4 untuk sistem kristal kubik). Fungsi kesalahan untuk setiap nilai θ dicari berdasarkan persamaan $\left[\frac{1}{2}\left(\frac{\cos^2\theta}{\sin\theta}+\frac{\cos^2\theta}{\theta}\right)\right]$. Grafiknya fungsi kesalahan ini kemudian diplot terhadap nilai parameter kisi a seperti diperlihatkan pada Gambar 4.4. Garis lurus memberikan kecocokan terbaik antara beberapa titik yang digambar dengan nilai parameter kisi a untuk $\left[\frac{1}{2}\left(\frac{\cos^2\theta}{\sin\theta}+\frac{\cos^2\theta}{\theta}\right)\right]=0$. Garis ini memberikan parameter kisi yang sangat akurat pada sudut θ = 90°.

4.4. Pengindeksan pada Metoda Serbuk

Pengindeksan pada metode serbuk dapat dikategorikan atas dua kelompok, yaitu pengindeksan untuk unit sel yang diketahui dan pengindeksan untuk unit sel

yang tidak diketahui. Pada kasus pertama, pengindeksan agak sederhana dan pengindeksan dapat dikerjakan secara cepat tanpa bermakna ganda. Namun, bila unit sel tidak diketahui, penyeleseaiannya sangatlah sukar dan digunakan metoda coba-coba untuk mengindeks garis-garis serbuk tersebut. Kita akan membahas metode pengindeksan jika unit sel diketahui. Ada dua prosedur yang dapat digunakan yaitu pengindeksan secara analitik dan pengindeksan secara grafik.

4.4.1. Pengindeksan Secara Analitik

Dalam kasus unit sel yang diketahui, pengindeksan dikerjakan dengan membandingkan nilai θ yang dihitung dengan yang diobservasi. Karena $\sin^2\theta$ adalah fungsi sederhana dari parameter kisi, lebih baik bekerja membandingkan nilai-nilai $\sin^2\theta$ dari pada nilai θ. Nilai $\sin^2\theta$ ditentukan dari pola serbuk. Kemudian daftar nilai $\sin^2\theta$ untuk beberapa indeks (hkl) untuk parameter unit sel yang diketahui dihitung. Bila nilai observasi dari $\sin^2\theta$ cocok dengan nilai $\sin^2\theta$ yang dihitung, garis serbuk mempunyai indeks hkl yang bersesuaian dengan nilai yang dihitung.

Perhitungan untuk nilai $\sin^2\theta$ dalam bentuk parameter kisi yang diketahui pada kasus kristal kubik sederhana akan dicontohkan di bawah ini dimana jarak antar bidang d diberikan oleh rumus $d = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}}$. Karena $2d \sin\theta = \lambda$, maka

$\sin^2\theta = (\frac{\lambda^2}{4a^2})(h^2 + k^2 + l^2) = \frac{\lambda^2 N}{4a^2}$. Nilai yang mungkin dari N diberikan pada

Tabel 4.6. Kemudian jika $\frac{\lambda^2}{4a^2}$ dihitung dan hasilnya dikalikan dengan nilai yang mungkin dari N akan memberikan sekumpulan nilai $\sin^2\theta$ yang dihitung.

Tabel 4.6. Kemungkinan nilai $N(= h^2 + k^2 + l^2)$ untuk kisi kubik

Primitive (P)	Face Centred (F)	Body Centred (I)
1		
2		2
3	3	
4	4	4
5		
6		6
8	8	8
9		
10		10
11	11	
12	12	12
13		
14		14
16	16	16
17		
18		18
19	19	
20	20	20
21		
22		22
24	24	24
25		
26		26
27	27	
29		
30		30
32	32	32

Beberapa hal yang perlu dicatat dari Tabel 4.6. adalah bahwa beberapa nilai tertentu dari N terlarang, yaitu 7, 15, 23, 28, 31, dst., karena nilai ini tidak merepresentasikan nilai yang mungkin dari $N = h^2 + k^2 + l^2$ dimana h, k, l adalah bilangan bulat. Bagian terpenting yang bisa dicatat adalah bahwa distribusi nilai N untuk tiga sistem kubik P, F dan I berbeda. Kemudian pengujian secara hati-hati dari pola serbuk dilakukan untuk mengklasifikasi jenis dari kisi kubik. Pada kasus primitif sejumlah besar garis pada interval regular akan muncul, kecuali untuk nilai

terlarang diatas. Pada kasus kisi body-center (I), nilai yang mungkin dari N adalah 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan seterusnya dan oleh karena itu termasuk beberapa garis akan terjadi, melalui susunan yang berulang secara teratur. Dari pengamatan visual, jika susunannya berulang, garis pada no. 7 (N = 7) hilang. Kisinya adalah kubik primitif. Untuk kisi bodi center kubik, garis pada No. 7 (N=14) ada. Pada sisi lain, pada kasus face center kubik, garis akan didistribusikan secara teratur. Dua garis pertama dengan N = 3 dan 4, akan berdekatan, tetapi garis N= 8 dan 11 akan berjauhan. Namun, jarak antara garis-garis berhubungan dengan N = 4 dan 8 dan untuk N = 8 dan 11 sama dekatnya. Jarak pola akan lebih dahulu berulang mulai dari nilai N = 11, 12, 16 dan 19.

Untuk sistem bukan kubik, maka prosedur pengindeksan akan berbeda dengan sistem kubik. Sebagai contoh, untuk sistem tetragonal, hubungan $\sin^2\theta$ dengan indeks h, k, l adalah sebagai berikut :

$$\sin^2\theta = \left(\frac{\lambda^2}{4a^2}\right)(h^2 + k^2) + \frac{\lambda^2}{4c^2}l^2 \qquad (4\text{-}4)$$

dimana a dan c adalah parameter kisi. Misalkan $\frac{\lambda^2}{4a^2}$ sebagai A dan $\frac{\lambda^2}{4c^2}$ maka persamaan menjadi

$$\mathrm{Sin}^2\theta = A\,(h^2 + k^2) + B\,(l^2) \qquad (4\text{-}5)$$

Untuk menghitung nilai $\sin^2\theta$ untuk set yang berbeda dari indeks (hkl), sebuah tabel dibuat yang berisi dengan kolom nilai yang mungkin dari A dan kolom nilai

yang mungkin dari B seperti terlihat pada Tabel 4.7. Kemudian nilai $\sin^2\theta$ tertentu dapat dicari dengan penambahan yang sesuai dengan kedua set diatas. Sebagai contoh, untuk sistem tetragonaldengan A = x dan B = y, nilai dari $\sin^2\theta$ dapat dihitung. Tabel 4.7. memperlihatkan nilai yang mungkin dari $\sin^2\theta$ yang dapat dihitung. Nilai $\sin^2\theta$ yang dihitung kemudian dibandingkan dengan nilai eksperimen dan indeks h, k, l yang ditandakan dengan garis yang diobservasi.

Tabel 4.7. Nilai yang mungkin dari $\sin^2\theta = A(h^2 + k^2) + B(l^2)$ untuk A=x dan B=y

l	h , k							
	0,0	1,0	1,1	2,0	2,1	2,2	3,0	3,1
0	0	x	2x	4x	5x	8x	9x	10x
1	y	x+y	2x+y	4x+y	5x+y	8x+y	9x+y	10x+y
4	4y	x+4y	2x+4y	4x+4y	5x+4y	8x+4y	9x+4y	10x+4y
3	9y	x+9y	2x+9y	4x+9y	5x+9y	8x+9y	9x+9y	10x+9y
4	16y	x+16y	2x+16y	4x+16y	5x+16y	8x+16y	9x+16y	10x+16y

Prosedur yang sama dengan yang diatas dilakukan untuk pengindeksan garis pada sistem trigonal (sistem heksagonal dan rhombohedral) dan sistem orthorombik. Persamaan yang dipakai untuk sistem ini adalah sebagai berikut :

Untuk sistem Heksagonal dan rhombohedral:

$$\sin^2\theta = \left(\frac{\lambda^2}{3a^2}\right)(h^2 + hk + k^2) + \frac{\lambda^2}{4c^2}l^2 \qquad (4\text{-}6)$$

Untuk sistem orthorombik :

$$\sin^2\theta = \frac{\lambda^2}{4a^2}h^2 + \frac{\lambda^2}{4b^2}k^2 + \frac{\lambda^2}{4c^2}l^2 \qquad (4\text{-}7)$$

Pada kasus sistem monoklinik dan sistem triklinik perumusan $\sin^2\theta$ diberikan dalam bentuk $1/d^2$ yaitu :

$$1/d^2 = h^2 a^{*2} + k^2 b^{*2} + l^2 c^{*2} + 2lhc^*a^*\cos\beta^* \qquad (4\text{-}8)$$

dan untuk sistem monoklinik, unit sel didefinisikan sehingga sumbu b tegaklurus dengan sumbu a dan c.

Untuk sistem triklinik :

$$1/d^2 = h^2 a^{*2} + k^2 b^{*2} + l^2 c^{*2} + 2hka^*b^*\cos\gamma^* + 2klb^*c^*\cos\alpha^* + 2lhc^*a^*\beta^* \qquad (4\text{-}9)$$

dimana a^*, b^*, c^* dan $\alpha^*\beta^*\gamma^*$ adalah parameter kisi balik.

4.4.2. Pengindeksan Secara Grafik

Selain pengindeksan secara analitik, dimungkinkan juga menggunakan metode grafik dalam pengindeksan (unit sel diketahui). Untuk mengindeks secara eksperimental pola serbuk yang diamati, jarak d diplot dan dibandingkan secara langsung dengan kurva teoritik dan kemudian kedua kurva dicocokkan.

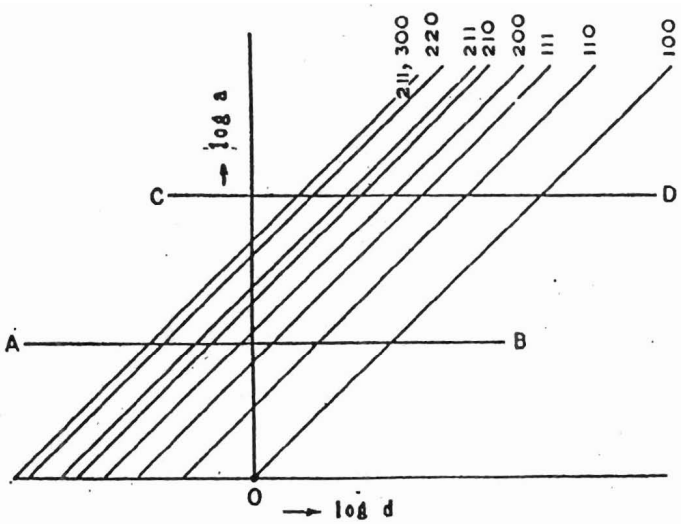
Sebagai ilustrasi akan diberikan contoh untuk sistem kubik dan sistem tetragonal dibawah ini. Untuk sistem kubik ketahui

$$\frac{1}{d^2} = \frac{1}{a^2}(h^2 + k^2 + l^2)$$

atau

$$d = (h^2 + k^2 + l^2)^{-1/2}.a = N^{-1/2}\, a \qquad (4\text{-}10)$$

Sekarang jumlah dari tiga bilangan bulat yang dikuadratkan hanya dapat mempunyai nilai-nilai 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8,.... Jumlah 7, 15, 23,.... yang dinyatakan dengan 4m (8n +7) dimana m dan n adalah bilangan bulat, terlarang karena nilai ini tidak ada untuk $h^2 + k^2 + l^2$. Nampak bahwa N mempunyai set nilai yang sama untuk sistem kubik yang berbeda. Perbedaan nilai d akan memberikan faktor skala yang tergantung pada parameter kisi a seperti yang diperlihatkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Variasi log d terhadap log a dalam kasus kristal kubik (Verma & Srivastava, 1982)

Untuk sistem kubik dari persamaan dapat ditulis

$$d = \frac{a}{\sqrt{(h^2 + k^2 + l^2)}} \tag{4-11}$$

kita memperoleh bahwa log d = log a - 1/2 log (h^2 + k^2 + l^2). Persamaan ini merepresentasikan sebuah garis lurus antara log d dan log a yang mempunyai kemiringan 45° dan memotong pada nilai - 1/2 log (h^2 + k^2 + l^2) pada sumbu d seperti yang diperlihatkan pada Gambar 4.7. Beberapa garis pada grafik ini seperti garis AB atau CD berhubungan dengan sebuah set nilai dari log d untuk nilai tertentu dari log a. Gambaran yang unik dari grafik ini adalah bahwa perpotongan pada garis AB dan CD adalah sama dan garis-garis ini hanya secara relatif digantikan. Untuk menggunakan grafik untuk mengindeks garis-garis difraksi, secara eksperimental nilai d yang diobservasi ditandai pada kertas bergaris yang ditempatkan paralel dengan sumbu x. Dengan kemiringan yang sesuai paralel dengan sumbu x dan sumbu y, didapatkan kesesuaian antara nilai yang diobservasi dan nilai yang diplot. Kesesuaian nilai dari garis-garis serbuk kemudian dibaca secara langsung dari kurva standar.

Contoh selanjutnya adalah untuk sistem tetragonal. Hubungan antara jarak antar bidang d dengan parameter kisi diberikan oleh

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} \tag{4-12}$$

Dengan memisalkan c/a = x, pers. (4-12) dapat ditulis

$$d^2 = \frac{a^2}{\left(h^2 + k^2 + \frac{l^2}{x^2}\right)} \tag{4-13}$$

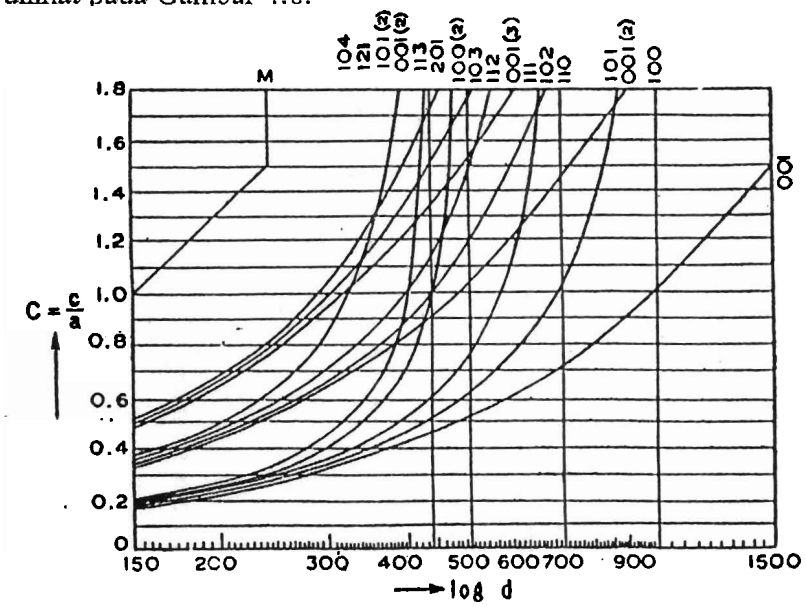
Dengan menglogaritmakan kedua sisi maka :

$$2 \log d = 2 \log a - \log \left(h^2 + k^2 + \frac{l^2}{x^2}\right) \tag{4-14}$$

Sisi kanan dari pers. (4-14) diatas telah mengandung a dalam x = c/a, hal ini mungkin untuk menyatakan a = 1 atau log a = 0 dan persamaan menjadi :

$$2 \log d = - \log \left(h^2 + k^2 + \frac{l^2}{x^2}\right) \tag{4-15}$$

Hull dan Davey dikutip Verma dan Srivastva (1982) memperkenalkan sebuah grafik untuk sistem tetragonal dengan memplot log d dalam bentuk x = c/a. Grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.9. Chart Hull-Davey untuk sistem tetragonal
(Verma & Srivastava, 1982)

BAB V
KRISTALISASI BAHAN ORGANIK

A. TEORI KRISTALISASI

Kristalisasi adalah salah satu dari beberapa cara (termasuk aggregasi non spesifik/ precipitant) yang mana larutan supersaturasi metastabil dapat mencapai keadaan energi terendah yang stabil dengan mereduksi konsentrasi protein. (Weber, 1991). Ada tiga tingkat dari kristalisasi yang umum untuk semua sistem : nukleasi, pertumbuhan, dan perhentian pertumbuhan.

Nukleasi adalah proses dimana molekul atau agregat non kristalin (dimer, trimer, dsb) yang berada dalam keadaan bebas dalam larutan berkumpul bersama dalam suatu cara untuk menghasilkan sebuah agregat stabil secara termodinamik dengan kisi yang berulang. Kristalisasi dikenal dengan merendahkan energi bebas dari protein dengan ~3-6 kkal/mol relatif terhadap keadaan larutan (Drenth dan Haas , 1992). Pembentukan agregat kristalin dari larutan supersaturasi bagaimanapun tidak mengharuskan pembentukan kristal maksroskopik. Malahan, agregat pertama harus melebihi ukuran spesifik (ukuran kritis) yang didefinisikan sebagai perbandingan luas permukaan agregat terhadap volumenya (Feher dan Kam, 1985; Boistelle dan Astier, 1988). Jika ukuran kritis terlampaui, agregat menjadi sebuah inti superkritis yang mempunyai kemampuan untuk melanjutkan pertumbuhan. Jika ukuran inti lebih kecil dari ukuran kritis, pemutusan secara spontan akan terjadi.

Derajat dimana nukleasi terjadi ditentukan oleh derajat supersaturasi dari protein dalam larutan. Pemahaman dari supersaturasi sebaliknya dihubungkan dengan daya larut keseluruhan dari molekul yang mengalami kristalisasi. Daya larut yang tinggi menyebabkan sejumlah besar dari molekul bertumbukan secara difusi. Kemudian derajat yang lebih tinggi dari supersaturasi menghasilkan agregat yang lebih stabil (disebabkan oleh kemungkinan molekul bertumbukan secara difusi lebih tinggi) dan karena itu menambah kemungkinan dari pembentukan inti stabil. Pada kasus jumlah molekul terlarut terbatas, kondisi ini secara umum menghasilkan sejumlah besar dari kristal kecil.

Pertumbuhan kristal secara umum dimulai pada konsentrasi protein yang cukup untuk nukleasi terjadi, dan berlanjut pada konsentrasi dibawah konsentrasi ambang. Kecepatan pertumbuhan adalah ditentukan oleh kombinasi dari pertumbuhan permukaan kristal dan kecepatan difusi. Pertambahan dari molekul menuju permukaan kasar memerlukan energi yang lebih kecil daripada pertambahan pada permukaan halus.

Menurut teori rantai ikatan periodik (Boistelle dan Astier, 1988), tiga jenis berbeda dari permukaan kristal yang ada : permukaan plat, permukaan "stepped", dan permukaan kusut. Permukaan plat memerlukan nukleasi dua dimensi untuk menginduksi pertumbuhan, dan memperlambat pertumbuhan. Pertumbuhan permukaan "stepped" memerlukan hanya nukleasi satu dimensi, dan kemudian mempunyai kecepatan pertumbuhan intermediat. Permukaan "stepped" secara khusus terjadi jika hasil dari sumbu srew kristallografi menyebabkan pola pertumbuhan spiral yang terjadi pada permukaan dari kristal. Akhirnya, permukan kusut adalah kedudukan pertumbuhan yang tidak memerlukan nukleasi untuk mempromosikan pertumbuhan selanjutnya. Kemudian jenis dari permukaan kristal pertumbuhan secara kuat dipengaruhi oleh kecepatan yang mana terjadi pertumbuhan kristal.

Pertumbuhan kristal dari inti juga secara kuat dipengaruhi oleh efek konveksi/ aliran dan difusi /tumbukan. Seperti dengan nukleasi, bertambahnya daya larut menghasilkan kecepatan pertumbuhan yang bertambah. Feher dan Kam, menggunakan mikroskop ultraviolet telah mendemonstrasikan daerah disekitar pertumbuhan kristal dengan konsentrasi protein yang lebih rendah relatif terhadap larutan disekitarnya. (feher dan Kam, 1985). Kecepatan difusi dari protein didalam dan diluar dari lingkaran sekitar pertumbuhan kristal memberikan faktor kecepatan terbatas.

Pembentukan dari lingkaran pada proses pertumbuhan disebabkan konsentrasi protein yang lebih rendah disekitar pertumbuhan kristal juga mempengaruhi produksi gradien density dalam area ini. Jika pembentukan dari gradien konsentrasi sekitar pertumbuhan kristal sebanding dengan kecepatan dimana molekul bertambah terhadap permukaan (kecepatan pertumbuhan kristal), pertumbuhan yang lebih lambat mengurangi arus konveksi. Ini mungkin disertai dengan pertumbuhan kristal dalam media gel yang berpori. (Robert dan Lefaucheuc, 1988). Pertumbuhan kristal dalam gravity nol (efektif)

dapat digunakan untuk memindahkan efek konveksi dan sedimentasi (littke dan John, 1986; DeLucas et.al, 1986).

Perhentian pertumbuhan dari kristal dapat dilakukan dalam berbagai cara. Salah satunya adalah pengurangan konsentrasi dari protein kristalisasi terhadap titik dimana fase padat dan larutan mencapai perubahan keseimbangan. Dalam kasus ini, penambahan protein dapat menghasilkan pertumbuhan kristal yang berlanjut. Poisonian dari permukaan pertumbuhan terjadi ketika molekul yang yang rusak atau asing tergabung dalam pertumbuhan permukaan kristal menghasilkan cacat yang mengganggu kisi kristal.

1. Sifat larutan yang mempengaruhi kristalisasi

Kristalisasi dari makromolekul adalah sebuah paradigma yang sama dengan lipatan protein (Feher dan Kam, 1985). Ada berbagai macam faktor yang mempengaruhi kristalisasi protein : 1). Derajat tinggi mobilitas pada permukaan protein, 2) gambaran elektrostatik dari protein (yaitu komposisi muatan sebagai campuran random dari muatan titik yang bergerak) , 3) komposisi zat kimia dan ketidakstabilan fisika dari protein (tidak terlipat,.syarat hydrasi, sensitivitas temperature), dan 4) faktor spesifik molekul (seperti grup protestik dan ligan). Faktor-faktor ini berkontribusi secara besar terhadap kesukaran dan kekasaran dalam usaha-usaha untuk memprediksi sifat kristalisasi protein (Durbin dan Feher. 1991). Faktor-faktor diatas merupakan penyebab dari ketidakteraturan kristal (dan resolusi yang rendah dari data difraksi) (Abraham et.al, 1994).

Faktor penting lain dalam kristalisasi adalah kemurnian dari sampel yang akan dikristalisasi. Kontaminasi 1 ppm dalam protein 10-20 mg/ml sama dengan 10^9 molekul (Carter, 1988). Walaupun pertumbuhan kristal dilakukan memakai protein yang sudah murni, kehadiran konsentrasi tinggi zat asing dalam volume kecil, niscaya akan menimbulkan kontaminasi dari kisi kristal, dan akhirnya mendapatkan kristal yang jelek. Lin dan kawan-kawan merekomemdasikan menggunakan HPLC untuk pemurnian secara umum dari protein dan untuk menyakinkan homogenitas pada kedua tingkat makroskopik dan mikroskopik (Lin dkk, 1992). Lin mencatat beberapa kasus dimana menggunakan teknik HPLC telah meningkatkan keberhasilan kristalisasi dan juga resolusi maksimum pada saat kristal protein di difraksi sinar-X.

Seperti yang telah dijelaskan awal, kristalisasi molekul dari larutan supersaturasi metastabil berarti merendahkan energi bebas dari keseluruhan larutan. Precipitan kimia adalah metode yang banyak digunakan untuk pencapaian supersaturasi dari molekul untuk menginduksi kristalisasi. Untuk kristalisasi dari protein, precipitan dapat dibagi dalam enam kategori: garam, polimer rantai dengan berat molekul yang tinggi (seperti PEG), MPD, protein organik, sulfonik kering, air terionisasi (McPherson, 1990; Arakawa dan Timasheff, 1985).

a. Garam.

Garam adalah precipitan yang biasa digunakan untuk kristalisasi makromolekul. Garam mempunyai latar belakang menambah kerapatan elektron rata-rata dari larutan kristalisasi yang mengurangi perbandingan sinyal noise untuk data kristalografi. Tetapi garam mempunyai kecendrungan berinteraksi secara kuat dengan senyawa atom berat, sehingga menyebabkan pembuatan "derivative" kristal untuk fase M.I.R adalah sukar.

Kemanjuran dari garam tertentu sebagai precipitan adalah sebanding dengan kuadrat dari valensi dari kation dan anion yang membangun garam. Secara khusus anion adalah spesies yang lebih penting daripada kation, secara umum kation monovalen tidak berbahaya dan digunakan untuk mengindari pembentukan komplek protein /kation kuat yang cendrung terjadi dengan kation polyvalent (khususnya ion logam transisi khusus) Kemampuan dari garam untuk precipitan protein dapat secara umum dilukiskan dengan deret Hofmeister:

$PO_4^{3}>HPO_4^{2-}=SO_4^{2}$.citrat$>CH_3CO_2^->Cl^->Br^->NO_3^->ClO_4^->SCN^-$

Dan

$NH_4^+>K^+>Na^+>Li^+$

Anion dan kation yang paling lemah dalam deret Hofmeister mempunyai efek "salting in" daripada "salting out" protein. Anion PO_4^{3-} tidak dijumpai dalam larutan dalam rentangan pH yang khusus digunakan untuk percobaan kristalisasi, dan ada dalam HPO_4^{2-} dan $H_2PO_4^-$. Juga kation NH_4^+ kehilangan H^+ diatas pH 8.0 dan titik didih dari NH_3, membuat garam NH_4^+ sukar untuk digunakan untuk pH tinggi, dan juga membuat pH tinggi tidak stabil.

Dua kategori umum dari garam adalah yang pertama yang berinteraksi dengan air (garam non-chaotropik), dan yang berinteraksi dengan protein (garam chaotropik). Garam non chaotropik adalah terhidrasi terhadap larutan protein. Pengaruhnya adalah bertambahnya tegangan permukaan dari lingkungan protein dari makromolekul, kemudian dehydrasi dari permukaan protein. dan meniadakan efek volume, yang mana mengerakkan molekul protein untuk membentuk interaksi yang dekat satu sama lain. Larutan dari muatan garam ini mengubah protein dari satu dengan yang lain dengan menambah dielektrik protein, yang selanjutnya memfasilitasi interaksi protein-protein dengan tetangga terdekatnya. Pengikatan garam non-chaotropik dengan protein tidak secara umum memainkan hukum yang penting dalam kristalisasi, walaupun dalam beberapa kasus ion garam (terutama sulfat dan phosphate) terlihat mengikat makromolekul dalam struktur kristal, dan akibatnya bertindak sebagai kontak kisi antara molekul dalam kristal. Khususnya garam ini menambah kestabilan makromolekul dalam larutan (Scopes, 1994).

Garam chaotropik secara umum tidak digunakan dalam kristalisasi disebabkan kecendrungan mereka untuk mengarami dalam makromolekul dan untuk menginduksi non lipatan melalui interaksi dengan elemen struktural dari protein.

b. Polimer.

Menggunakan polimer linear dengan berat molekul yang tinggi sebagai agen precipitan telah dipionir oleh Polson dan teman-temannya yang mencoba berbagi polimer termasuk polyethylene glycol, dextran, polyvinyl alcohol, dan polyvinyl pyrrolidone (Polson dkk, 1964). Dari semua ini, plyethylene glycol (PEG) ditemukan lebih efektif dari segi kemampuan precipitan dan biaya. PEG dihasilkan dalam berbagai berat molekul, dari 200 (~3 monomer) sampai pada 1 juta (~15000 monomer), dan sebagai mono dan di methyl lainnya. Seperti garam, PEG berkompetisi dengan protein untuk air dan meniadakan efek volume (yang bervariasi sesuai dengan panjang polymer). Namun tak seperti garam, PEG mengurangi dielektrik effektif dari larutan. Larutan dari (PEG) mempunyai kerapatan elektron rata-rata yang rapat ekivalent terhadap air dan secara umum tidak berinteraksi dengan senyawa atom berat, dan membuat PEG sangat cocok untuk kristalisasi makromolekul.. PEG dengan berat molekul kurang dari 1000 berbentuk

cair dan secara umum digunakan pada konsentrasi diatas 40 % v/v. PEG dengan berat molekul diatas 1000 secara umum berbentuk padat dan digunakan dalam konsentrasi 5-50% w/v. Semua larutan PEG dibuat dengan memasukkan ~0, 1 % Na azide untuk menghindari pertumbuhan bakteri. Juga buffer konsentrasi tinggi (40 %) larutan PEG dengan Na citrate pada konsentrasi diatas 100 mM cendrung menyebabkan pembentukan transisi fasa dan perubahan warna dalam larutan PEG, yang mengsugesti beberapa bentuk reaksi.

c. MPD.

MPD adalah polyalcohol kecil (2-methyl-2,4 pentane diol) yang mempunyai sifat pertengahan antara yang mempunyai berat molekul rendah PEG dan protein organik. Fungsi MPD sebagai precipitan meliputi kompetisi dengan air, eklusion hydropobik dari protein protein, merendahkan dielektrik protein, dan efek seperti detergen. MPD secara umum digunakan dalam konsentrasi 40% v/v dengan air atau buffer, dan cendrung untuk menyebabkan transisi fasa. Jika dengan PEG, menggunakan MPD sebagai precipitan menghasilkan larutan density elektreon rendah yang tidak secara umum berinteraksi dengan senyawa atom berat.

d. Pelarut Organik.

Secara historik, pelarut organik telah digunakan sebagai precipitant untuk kristalisasi protein. Kristalisasi yang dilakukan dengan pelarut organik adalah dimulai selama pemurnian protein, khususnya dalam kehadiran pelarut organik biasa seperti ethanol, methanol, aceptone atau isopropanol (McPherson, 1990). Disebabkan gambaran hydropobik mereka, pelarut organik menyebabkan transisi fasa yang mirip dengan yang terbentuk oleh kehadiran MPD dan dielektrik bulk dari protein. Pelarut organik juga cendrung menyebabkan denaturasi protein, kecuali mereka digunakan pada temperature pada atau dibawah 0C.

e. Sulfonik kering.

Sulfonik kering secara khusus dicantumkan dengan grup sulfonat. Studi awal oleh Lovrien dkk mengsugestikan bahwa molekul ini mungkin secara spesifik berinteraksi

cair dan secara umum digunakan pada konsentrasi diatas 40 % v/v. PEG dengan berat molekul diatas 1000 secara umum berbentuk padat dan digunakan dalam konsentrasi 5-50% w/v. Semua larutan PEG dibuat dengan memasukkan ~0, 1 % Na azide untuk menghindari pertumbuhan bakteri. Juga buffer konsentrasi tinggi (40 %) larutan PEG dengan Na citrate pada konsentrasi diatas 100 mM cendrung menyebabkan pembentukan transisi fasa dan perubahan warna dalam larutan PEG yang mengsugesti beberapa bentuk dengan permukaan protein dengan grup sulfonat kering (Conroy dan Lovrien, 1992; Lovrien dkk, 1993). Lovrien mengsugestikan bahwa perbandingan dari ~1-5 molekul kering per molekul protein adalah cukup untuk kristalisasi..

f. Air terionisasi.

Dialisis protein terhadap air terionisasi sebagai sebuah metode dari kristalisasi mempunyai keuntungan dimana protein berada dalam lingkungan ion muatan positif dan negatif (efek Donnan). Jika awan dari anion dan kation ini dipindahkan secara dialysis, protein akan berusaha untuk bergerak disekitar dirinya yang akhirnya terjadi pembentukan struktur kisi dimensi (seperti kristalisasi).

Walaupun semua precipitan kimia telah didiskusikan diatas, bekerja dengan satu system atau lainnya, seringkali efek individual mereka sangat menonjol untuk kristalisasi dapat terjadi dan mungkin membentuk kristal satu atau dua dimensi yang jelek. Dalam kasus seperti itu, kombinasi dari precipitan (seperti garam dan PEG, MPD dan garam) menghasilkan kristal difraksi yang besar, dan grup ruang yang baik. Beberapa kombinasi yang paling baik (didasari dari percobaan kristalisasi) dapat dilihat pada table berikut :

Tabel 1. Kombinasi Precipitan yang terbaik

Precipitan Mayor	Additif	Konsentrasi Precipitan Mayor	Konsentrasi Aditif
(NH4)2SO4	PEG 400-2000, MPD, ethanol, methanol	2.0-4.0 M	6 % - 0.5 %
Na citrate	PEG 400-2000, MPD, ethanol, methanol	1.4-1.8 M	6 % - 0.5%
PEG 1000-20000	(NH4)2SO4, NaCl, atau Na format	40 – 50 %	0.2 – 0.6 M

Kecendrungan yang dapat dilihat dalam Tabel 1 adalah kombinasi dari salah satu

rendah (precipitant mayor) dengan spesies yang menaikkan dielektrik (precipitant minor, PEG/MPD/organik dengan garam). Kedua jenis kombinasi mungkin secara efektif menimbulkan ukuran yang besar dan efek kompetisi dengan air sementara menghindari repulsion muatan antar molekul dengan menambah dielektrik protein, kemudian diharapkan dapat menghasilkan kristalisasi dan kualitas dari kristal yang baik.

Aditif dapat juga digunakan untuk kristalisasi karena mempunyai sifat bereaksi dengan garam diluar dan didalam makromolekul. Larutan biphasic (seperti yang dihasilkan dengan mencampur konsentrasi tinggi dari garam dengan konsentrasi tinggi dari berat molekul tinggi PEG) efektif dalam menginduksi nukleasi dan kristalisasi (Kuciel dkk, 1992; Ray dan Bracker, 1986)

Penambahan ion logam (terutama cadmium (Cd), cobalt (Co), dan mangan (Mn) untuk larutan kristalisasi dapat digunakan untuk menghasilkan nukleasi. (McPherson, 1991). Ion cadmium cendrung untuk membentuk kompleks kovalen yang sangat kuat antara grup asam karbolik yang berdekatan dalam susunan jenis planar persegi dengan semua empat oksigen asam karbolik yang terlibat dalam ikatan. Jenis dari ikatan ini dapat sebagai sebuah kontak kisi dalam sebuah kristal atau sebagai sebuah faktor nukleasi untuk pertumbuhan kristal protein. Mangan mempunyai interaksi yang mirip, sementara ion cobalt pada dasarnya berinteraksi dengan amino (lysine dan histidin).

Dua faktor kimia yang dapat digunakan untuk mengawali atau meningkatkan kristalisasi adalah mengubah visikositas senyawa dan anti twinning/solubizing senyawa(detergent dan lainnya). Seperti dicatat dalam bagian teori kristalisasi, kecepatan dimana kristal tumbuh sering mempengaruhi kualitas keseluruhan dari kristal.

Faktor penting lain dalam kristalisasi protein selain dari pada kompisisi kimia dari larutan induk adalah pH. Untuk beberapa protein, kristalisasi terjadi pada rentangan pH yang lebar dengan sedikit variasi dari morfologi kristal. Morfologi kristal, termasuk berbagai jenis twinned dan bentuk pertumbuhan polynukleasi, sering secara langsung dihubungkan dengan pH. Secara khusus, terdapat peningkatan disini ada improvement gradual dalam morpologi k Dalam beberapa kasus, pH dari protein adalah pH pada mana pertumbuhan kristalnya paling baik.

Temperatur adalah faktor lain yang penting dalam kristalisasi protein. Kristalisasi dari protein dapatdilakukan dalam rentang temperatur dari 60 C sampai 0 C, walaupun

mayoritas tercepat dari molekul adalah terkristalisasi pada 4 C atau 22 derajat (temperature kamar). Temperatur rendah cenderung bertindak sebagai bahan pengawet untuk protein yang sensitive dan juga inhibitor pertumbuhan bakteri. Daya larut protein dalam larutan garam cendrung bertambah pada temperature rendah (4 C), sementara dalam larutan PEG dan MPD, daya larut protein secara umum berkurang dengan berkurangnya temperature. Pemanasan, melting, dan pendinginan dari kristal atau agregat mungkin juga dapat dicoba untuk mendapatkan kristal besar, walaupun ini secara umum tidak sukses.

Modifikasi kimia/biokimia dari protein adalah faktor lain yang mungkin digunakan untuk mengubah kondisi kristalisasi. Karakteristik permukaan elektrostatik memainkan peranan yang penting dalam mengatur apakah sebuah protein terkristalisasi atau tidak. Kemudian, modifikasi atau muatan permukaan oleh salah satu kimia atau biokimia berarti dapat memberikan kristal dimana tidak satu pun diketahui sebelumnya (Rayment dkk, 1992).

2. Metoda Fisika dari Kristalisasi

Tiga metode yang sering diseitakan untuk mempengaruhi supersaturasi dalam kristalisasi dari makromolekul; Vapor diffusion (hanging drop dan sitting drop), batch, dan dialysis. Walaupun setiap dari teknik ini mencapai supersaturasi dari makromolekul tertentu untuk dikristalisasi, tetapi berapa cepat supersaturasi dicapai dalam setiap kasus bervariasi sangat besar, Setiap teknik ini akan didiskusikan dibawah:

a. Vapor diffusion.

Teknik vapor diffusion menggunakan penguapan dan difusi dari air antara larutan dari konsentrasi yang berbeda yang berarti mendekati dan mencapai supersaturasi dari makromolekul. Secara khusus larutan yang mengandung protein dicampur 1 : 1 dengan larutan yang mengandung precipitan pada konsentrasi akhir yang dicapai setelah vapor seimbang. Drop yang mengandung 1:1 campuran dari protein dan precipitan pada konsentrasi target, salah satunya hanging drop atau sitting drop. Perbedaan dalam konsentrasi precipitan antara drop dan larutan reservoir merupakan gaya penggerak yang

menyebabkan air menguap dari drop sampai konsentrasi precipitan dari drop sama dengan konsentrasi precipitan dalam reservoir.

Vapor diffusion adalah teknik yang optimal untuk digunakan ketika menscrening sejumlah besar dari kondisi protein (dengan memvariasikan komposisi dari setiap larutan reservoir). Selanjutnya metode ini dapat digunakan untuk menambah dan mengurangi konsentrasi dari protein dalam keadaan keseimbangan relatif terhadap konsentrasi awalnya

Salah satu kekurangan dari metode ini adalah cendrung untuk membentuk kristal yang lebih kecil dari metode lain. Ini disebabkan karena volume drop dibandingkan teknik lain yang menggunakan volume protein yang besar.

b. Metode Batch

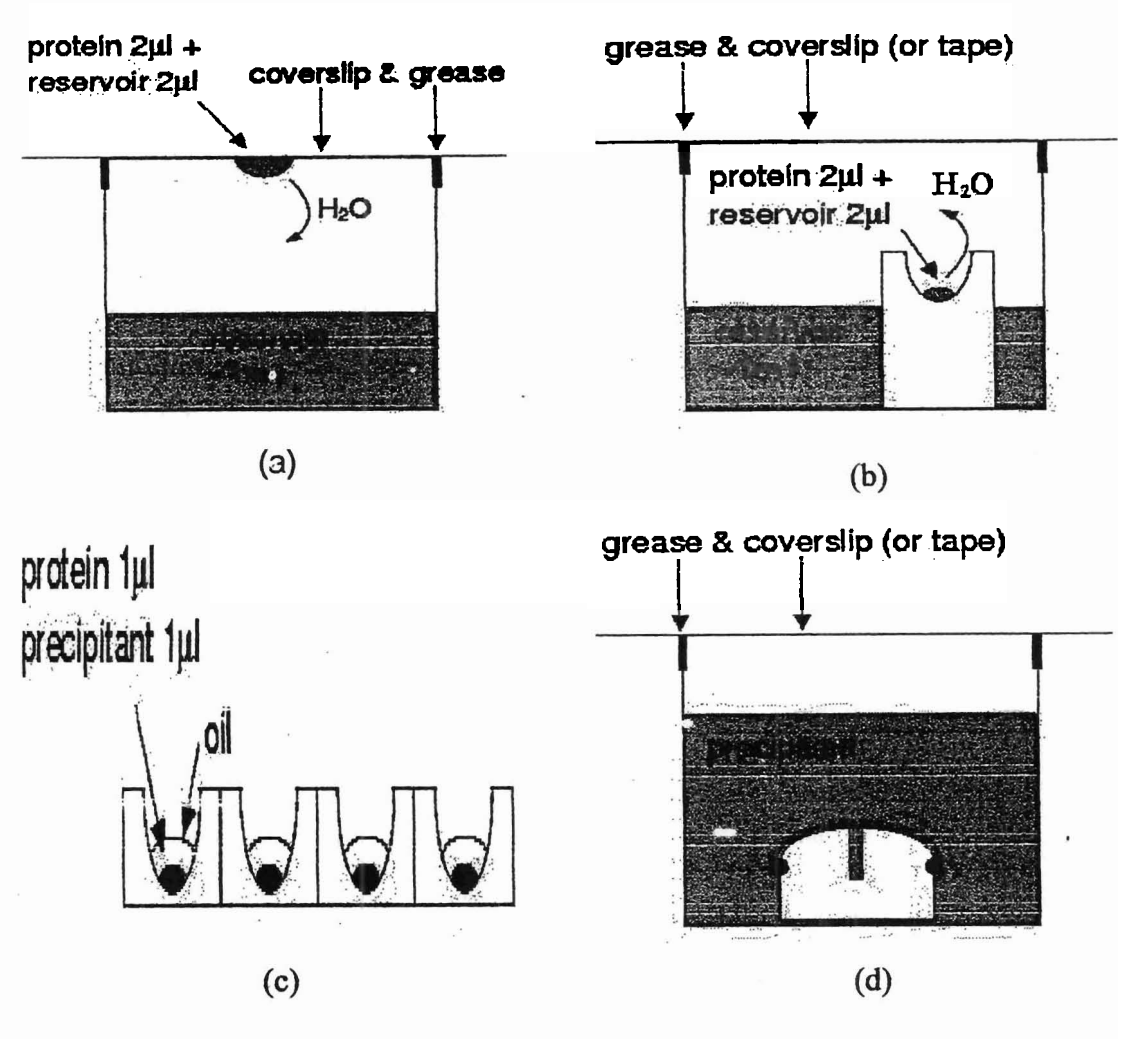
Dalam metode batch, konsentrat protein dicampur dengan konsentrat precipitan untuk menghasilkan konsentrasi akhir yang supersaturasi dalam bentuk makromolekul terlarut untuk kristalisasi. Ini dapat dilakukan dengan mengambil sejumlah ml dari larutan dan akhirnya menghasilkan kristal yang besar disebabkan volume yang besar dari protein. Teknik ini jauh lebih mahal dari pada teknik yang lain karena membutuhkan protein dengan jumlah yang besar, sehingga tidak umum digunakan untuk menscrening kondisi awal kristalisasi.

c. Dialisis

Teknik dialisis menggunakan difusi dan keseimbangan dari molekul precipitan kecil melalui membrane semipermiabel yang berarti secara lambat mendekati konsentrasi yang mana protein akan terkristalisasi. Pada awalnya, protein yang terkandung dalam membrane dialisis diseimbangkan terhadap larutan precipitan. Keseimbangan terhadap precipitan dalam lingkungan pelarut secara lambat mencapai supersaturasi untuk protein dalam membrane dialisis, dan akhirnya menghasilkan kristal. Keuntungan metode ini dibandingkan metode lain adalah larutan precipitan secara mudah dapat divariasikan dengan menggerakkan seluruh tabung dialisis dari satu kondisi ke kondisi lainnya. Protein dapat secara kontiniu "recycled" sampai kondisi yang benar dari kristalisasi ditemukan (Carteret.al, 1998). Salah satu kekurangan dari metode ini adalah tidak dapat

bekerja pada semua larutan konsentrat PEG karena PEG dapat menembus membran secara cepat.

Gambaran dari masing-masing metode diatas dapat dilihat pada Gambar 1. berikut:



Gambar 5.1. Skema penumbuhan kristal dengan metode (a) *hanging drop vapor diffusion* (b) Sitting drop *vapor diffusion* , (c) batch, dan (d) dialisis

3. Contoh dari Kristalisasi Protein

Contoh yang diambil untuk kristalisasi protein adalah Luciferase dari Bakteri *Photobacterium phosporium* (LBPP) yang diisolasi dari Cumi laut Indonesia (Jepara). Konsentrasi LBPP diharapkan berkisar 5–20 mg/ml. LBPP dilarutkan dalam buffer

potassium phosphate (20 mM) pH 7. Bahan kimia yang digunakan untuk kristalisasi adalah :

a. Prepicipitan; 1. Ammonium Sulfat (1-2,5 M)

2. DTT (2,5 dan 5 mM)

b. Buffer: Potasium Phosphat (50 mM) dengan variasi pH : 6,5 ; 7 ; 7,5 ; dan 8

Alat yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Peralatan kimia umum dan gelas: labu erlenmeyer, labu ukur, gelas piala, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, kaca arloji, batang pengaduk, spatel logam.
2. Mikropipet dan tip.
3.. pH meter Beckmann kode 40.
4. Perangkat kristalisasi Hanging Drop Vapour Diffusion

Kunci sukses penyelidikan struktur molekul protein menggunakan analisis sinar-X adalah bagaimana menumbuhkan kristal protein berkualitas tinggi. Kualitas dari kristal ditentukan oleh bentuk, mosaik, batas resolusi dan ukurannya (LoVerde, 2000). Kristal yang lebih simetri memberikan akurasi data statistik yang lebih baik. Mosaik berkaitan dengan keteraturan dari kristal. Kristal yang mempunyai mosaik tinggi akan mempunyai grup unit sel yang tidak teratur. Batas resolusi dari kristal adalah sudut terbesar dimana sebuah bintik difraksi dapat diobservasi secara eksperimental. Batas resolusi ditentukan oleh keteraturan dari struktur kristal dimana kristal yang keteraturannya tinggi akan mempunyai batas resolusi yang tinggi. Kristal dengan batas resolusi tinggi akan mempunyai jarak bidang kisi besar dan akan dibelokkan pada sudut besar. Alberts *et al.*, (1989) mengatakan bahwa struktur dari kristal protein kualitas baik dapat ditentukan pada resolusi 3Å dan struktur kristal kualitas sangat baik dapat ditentukan pada resolusi 1.5Å. Kristal yang mempunyai ukuran yang besar dari 0,1 mm akan menghasilkan pola lenturan yang kuat (Knapp and Rupp, 2000).

Dari penjelasan sebelumnya, diketahui ada beberapa metode penumbuhan kristal (kristalisasi) protein tiga dimensi, diantaranya *mikrobatch* dan *hanging drop vapor diffusion.* Metode yang akan dipakai untuk kristalisasi LBPP adalah *hanging drop vapor diffusion* Salah satu keuntungan dari metode ini adalah jumlah protein yang dibutuhkan sedikit (1-2 µl), waktu penumbuhan kristal tidak terlalu lama dengan tingkat keberhasilan yang relatif lebih tinggi.Untuk mendapatkan kristal berkualitas baik yang akan dilakukan

adalah dengan mengatur dan memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi kristalisasi yaitu; konsentrasi protein, konsentrasi precipitant, ph dan temperatur. Desain yang digunakan adalah multi variasi, yaitu semua variabel diubah selama proses kristalisasi sampai didapatkan kristal kualitas tinggi.

Secara garis besar penumbuhan kristal protein tiga dimensi adalah sebagai berikut: larutan yang mengandung protein dicampur dengan larutan yang mengandung precipitant dengan perbandingan 1 : 1 . Larutan campuran ini diteteskan diatas gelas *coverslip* membentuk sebuah *drop*. Gelas ini dibalik dan digunakan untuk menutup resevoir yang telah diisi dengan *precipitant* yang sama 1 ml seperti terlihat pada Gambar 1a. Setelah beberapa jam atau minggu kristal diharapkan terbentuk dengan dimensi > 0,1mm.

1. Langkah-Langkah Kristalisasi

Kristalisasi LBPP dilakukan dalam beberapa langkah:

a. Screen awal, untuk mengidentifikasi kondisi kristalisasi / nukleasi dari protein. Menyediakan larutan stok, terdiri dari buffer dengan pH berbeda, precipitan dan aditif dalam 50 ml tabung reaksi, kemudian difilter dengan filter 0,22 μm filter dan disimpan pada temperatur kamar. Untuk screen awal, ukuran drop adalah 1 μl protein dan 1 μl larutan reservoir. Untuk menghindari drop dari pengeringan, jangan lebih dari 3 drop yang dibuat pada setip waktu.Tempatkan satu screen pada 4 C dan satu lagi pada temperatur kamar, jika protein stabil pada kedua temperatur tersebut. Dinginkan plat pada 4 C sebelum mempipet dengan drop untuk menghindari kondensasi pada kaca.

Desain Screen awal untuk LBPP:

1. Untuk reservoir (20 kondisi)

1→

A. Sulfat 1 M Buffer pH 6,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 6,5 DTT 2,5 mM	Am. Sulfat 2 M Buffer pH 6,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2,5 M Buffer pH 6,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 6,5 DTT 5 mM
aA. Sulfat 1 M Buffer pH 7 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 7 DTT 2,5 mM	Am. Sulfat 2 M Buffer pH 7 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2,5 M Buffer pH 7 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 7 DTT 5 mM

A. Sulfat 1 M Buffer pH 7,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 7,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2 M Buffer pH 7,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2,5 M Buffer pH 7,5 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 7,5 DTT 5 mM
A. Sulfat 1 M Buffer pH 8 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 8 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2 M Buffer pH 8 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 2,5 M Buffer pH 8 DTT 2,5 mM	A. Sulfat 1,5 M Buffer pH 8 DTT 5 mM

2. Untuk Drop : diteteskan 1μl LBPP (dalam larutan daparnya, konsentrasi larutan dapar maupun konsentrasi garam yang terlarut didalamnya dijaga serendah mungkin) keatas plat yang sudah disilikonisasi. Kepada tetesan protein tadi, diteteskan 1 μl larutan reservoir dan dibiarkan sesaat (beberapa menit) agar homogen

Jika plat dan reservoir sudah siap, pada permukaan reservoir diolesi dengan pasta silicon. Tujuannya adalah untuk mencegah evaporasi dari reservoir maupun drop. Kemudian plat yang sudah ada drop diatasnya, ditutupkan ke atas reservoir yang sesuai, sehingga benar-benar menutup rapat.

Eksperimen set hanging drop ini kemudian diinkubasi pada suhu yang diinginkan (suhu kamar atau 4^0C). Screen dicek segera setiap hari (dalam minggu pertama) amati precipitan/kristalisasi dari protein.dengan memakai pengkodean yang ada pada lembaran kerja dibawah.

b.Screen yang diatur, Setiap kondisi dari screen awal diatur untuk mendekati supersaturasi secara lambat.

Semua reservoir, dimana pada screen awal tidak teramati nukleasi, ulangi dengan modifikasi berikut:

1. **Kondisi di**mana protein terprecipitasi segera setelah pencampuran, konsentrasi precipitannya dikurangi setengahnya.
2. Kondisi tanpa penampakan precipitan setelah lebih dari dua minggu, maka konsentrasi protein ataupun konsentrasi precipitan ditambahkan duakali dari sebelumnya.

c. Optimasi screen, didasari hasil yang ditemukan dalam screen awal dan screen yang diatur, untuk mendapatkan kristal tunggal besar yang cocok untuk difraksi sinar-X.

Kondisi dimana nukleasi favorit yang teramati dalam screen awal atau screen yang diatur sekarang digunakan untuk optimasi screen. Untuk setiap kondisi, susun peralatan kristalisasi yang mana salah satu parameter divariasikan dan yang lain dijaga konstan.

1. Barisan A : precipitan 1 konsentrasinya divariasikan dengan precipitan 2
2. Barisan B : Precipitan 1 konsentrasinya divariasikan , tanpa precipitan 2
3. Barisan C : Buffer dan pH divariasikan
4. barisan D : Konsentrasi protein divariasikan

Rentangan konsentrasi untuk precipitan 1 dalam barisan A dan B biasanya antara setengah sampai konsentrasi precipitan dimana teramati precipitasi pada screen sebelumnya. Bandingkan hasil dari barisan A dan B untuk memperlihatkan apakah precipitan 2 penting, dan konsentrasi precipitan 1 optimal.

Hasil dari barisan C akan memperlihatkan kebergantungan pH.

Drop kemudian dicek dengan mikroskop dengan pembesaran 40 X atau pembesaran 100 x. .

d.Untuk improvisasi hasil kristal, tambahkan additif.

Hasil eksperimen direkam dengan menggunakan skala penskoran:

Pengkodean :

1. : *clear drop*, tidak ada apa apa hanya larutan jernih
2. : *precipitation*, proteinnya mengendap, biasanya terlihat di bawah mikroskop sebagai warna gelap merata. Ini terjadi biasanya kalau protein yang digunakan sudah mengagregasi
3. : *aggregation and denaturation*, proteinnya rusak, biasanya terlihat sebagai sebaran acak berwarna gelap atau gumpalan
4. : *nucleation*, terlihat titik-titik kecil yang tersebar merata diseluruh *drop*. Nukleasi yang baik adalah pertanda pembentukan kristal
5. : *microcrystal*, kristal bentuk kecil-kecil, bisa dicoba dibiarkan dulu untuk melihat apakah akan tumbuh jadi kristal besar atau tetap, kalau tetap berarti memang kristalnya kecil. Hati-hati rancu dengan kristal garam !
6. : kristal protein .....

BARISAN A

ıari ke:	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**
No. 1																			
No. 2																			

No. 3																			
No. 4																			
No. 5																			

Barisan B

ri ke: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
No. 1																		
No. 2																		
No. 3																		
No. 4																		
No. 5																		

Barisan C

ri ke: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
No. 1																		
No. 2																		
No. 3																		
No. 4																		
No. 5																		

Barisan D

ri ke: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
No. 1																		
No. 2																		
No. 3																		
No. 4																		
No. 5																		

Untuk cek itu kristal garam atau protein, bias dilihat apakah kristalnya berpendar (birefringent) pada polarisasi warna atau tidak, kalau kristal protein akan berpendar dan pada bagian tepi kristal mempunyai warna yang khas. Dalam sejarah kristalisasi protein, mikroskop polarisasi merupakan alat yang secara teratur digunakan oleh peneliti untuk mendeteksi dan mengkarakterisasi kristal yang cocok untuk analisis sinar-X. Terutama karena warna atraktif yang dihasilkannya dan teknik yang berguna untuk merepresentasikan pertumbuhan kristal dan habitatnya (Nollert, 2003). Cara yang lebih sederhana adalah kristalnya diambil dari drop, di "cuci" dengan buffernya dan kemudian dilarutkan kembali dan dicek dengan elektroforesis. Cara lain adalah, dibawah miksroskop biasa, gunakan seuntai ijuk lalu kristalnya di "sentuh", kalau fragile (kelihatan mudah pecah atau lembut) itu tanda kristal protein, kalau garam biasanya keras dan solid.

DAFTAR PUSTAKA

Buerger, M. J., (1942), *X-Ray Crystallography*, John Wiley & Sons, Inc., London.

Cullity, B.D., (1956), *Elements of X-Ray Diffraction*. Addison-Wesley Publishing Company, Inc., Massachusetts.

Hendri, N F. M., Lipson, H., and Wooster, W. A., (1961), *The Interpretation of X-Ray Diffraction Photograf*, Macmillan & Co. Ltd., London.

Ladd, M. F. C., and Palmer, R. A., (1977), *Structure Determination by X-Ray Crystallography*, Plenum Press, New York.

Nuffield, E. W., (1966), X-Ray Diffraction Methods, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Sands, D. E., (1975), *Introduction to Crystallography*, W. A. Benjamin, Inc., Massachusetts.

Verma A. R., and Srivastava, O. N., (1982), *Crystallography for Solid StatePhysics*, Wiley Eastern Limited, New Delhi. hal.

Warren, B.E., (1990), *X-Ray Diffraction*, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., Massachusetts.