

# Buku Ajar

# PEMISAHAN KIMIA

Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman

**Cl**<sup>17</sup>  
Chlorine

The background is a vibrant blue gradient. It features several white and light blue chemical symbols and molecular structures. A large, stylized hexagonal shape on the left contains the chemical symbol 'Cl' and the number '17', representing Chlorine. To the right, there are various symbols including a plus sign, a paperclip, and several hexagons of different sizes and colors (white, light blue, dark blue). Some hexagons have smaller circles inside them, suggesting molecular models or atoms. The overall aesthetic is clean and scientific.

**Dr. Nancy Willian, S.Si., M.Si .**  
**Hilfi Pardi, S.Si., M.Si.**

**Buku Ajar**

**PEMISAHAN KIMIA**

**Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman**

**Buku Ajar**  
**PEMISAHAN KIMIA**  
**Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman**

---

**Dr. Nancy Willian, S.Si., M.Si .**  
**Hilfi Pardi, S.Si., M.Si.**



# **Buku Ajar**

# **PEMISAHAN KIMIA**

## **Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman**

---

© Penerbit UMRAH Press

Penulis:

Dr. Nancy Willian, S.Si., M.Si .  
Hilfi Pardi, S.Si., M.Si.

Cetakan Pertama: Agustus 2022

Cover: Tim Penyusun

Tata Letak: Tim Kreatif UMRAH Press

Hak Cipta 2022, pada Penulis. Diterbitkan pertama kali oleh:

**UMRAH Press**

Kampus Universitas Maritim Raja Ali Haji, Gedung Rektorat Lantai III  
Jl. Dompok, Tanjungpinang - Kepulauan Riau 29111  
Telp/Fax:(0771) 7001550 – (0771) 7038999, 4500091  
E-mail: umrahpress@gmail.com / umrahpress@umrah.ac.id

- Cet. I –: UMRAH Press, 2022

Dimensi : 21 x 29,7 cm

ISBN: 978-623-5818-52-8

Hak cipta dilindungi undang-undang  
Dilarang memperbanyak buku ini dalam bentuk dan dengan  
cara apapun tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit

Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang  
**Hak Cipta Pasal 72**

Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta  
Pasal 72

Barang siapa dengan sengaja melanggar dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling sedikit 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp.1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah).

Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran hak cipta terkait sebagai dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

# KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan, ketekunan dan kesabaran sehingga buku yang sudah lama dipersiapkan ini akhirnya dapat diselesaikan.

Sumber bacaan pokok dari penulisan ini adalah *Chemical Separations* (Principles, Techniques and Experiments) by Clifton E. Meloon, *Hand Book of Separations Process Technology* by Ronald W.S, *Metoda Pemishan Kimia; Sebuah Pengantar*. Surjani Womoraharjo Jakarta: Akademia Permata, 2013. Buku teks kimia pendukung dan beberapa jurnal

Buku ini dipersiapkan terutama untuk mahasiswa Program Studi Pendidikan Kimia semester Ganjil. Buku ini membantu mahasiswa dalam memahami topik Pemisahan Kimia

Buku ini disusun seraca komprehensif berdasarkan RPS yangtelah disusun sesuai dengan kurikulum MBKM di Program Studi Pendidikan Kimia

Penulis mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu sehingga dapat diterbitkannya buku ajar ini. penulis juga merasa bahwa buku ini jauh dari sempurna, oleh karena itu segala masukan baik berupa saran maupun kritik yang membangun sangat diharapkan.

Tanjungpinang, Juli 2022

Penulis

Dr. Nancy Willian S.Si,M.Si dan Hilfi Pardi, S.Si.,M.Si

# PRAKATA

Analisis material sampai sakala kimia sangatdiperlukan di berbagai bidang. Dalam banyak analisis kimia mulai dari langkah pemisahan merupakan kunci dan sangat diperlukan untuk menentukan kandungan dalam skala unsur arau molekul suatu kandungan bahan.

Pemisahan kimia juga diperlukan sebagai salah satu tahapan analisis kimia karena intrumeny analisis kimia modern secara umum membutuhkan bahan murni dan bukan campuran. Buku ini dibutuhkan untuk mahasiswa pendidikan kimia dan para penieliti kimia dalam menentukan langkah dan konsep pemisahan kimia sebelum dilanjutkan dalam langkah dan analisis dengan metoda lain lebih lanjut. Adapun buku ini berjudul pemisahan kimia : Sebuah Pengantar. Adapun isi buku ini antara lain menjelaskana berbabai jenis ekstraksi, destilasi dan kromatografi serta penerapan pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari.

Penulis mengucapkan teimakasih kepada pimpinan Universitas Maritim Raja Ali Haji (UMRAH), Tanjungpinang, Kepulauan Riau karena telah mengupayakan penerbitan buku ini. Semoga buku ini menambah perbendaharaan buku, khususnya buku ajar, dilingkungan UMRAH

Muncul sebagai edisi pertama, buku ini terus ditingkatkan sisi kualitasnya dan desain penyajian sehingga akan tampil lebih menarik. Untuk keperluan tersebut penyusun mengharapkan input dari para pembaca. Faktor ini menjadi bagian penting pembaharuan paradigma penyusunan dan penyajian buku ajar yang ideal. Untuk selanjut akan disusul oleh buku ajar Pemisahan Kimia : Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman

Penulis berharap buku ini memenuhi minat dan harapan para mahasiswa yang mengambil mata kuliah Pemisahan Kimia

Akhirulkalam, tak ada gading yang tak retak, tak ada manusia yang luput dari kesalahan dan kealpaan. Oleh sebab itu, penulis minta maaf atas kekurangan yang terdapat di dalam buku ini, baik bahasa, ketuntasan dan penyajian materi, tata letak, dan perwajahnya. Segala yang baik bersumber dari Allah dan kekurangannya merupakan tanggung jawab penulis.

Tanjungpinang, Juli 2022

Penulis

Nancy Willian

Hilfi pardi

# DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
PRAKATA .....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Gambaran Profil Lulusan Program Studi Kimia .....	1
1.2 Kompetensi Lulusan .....	1
1.3 Analisis Kebutuhan Pembelajaran .....	5
1.4 Deskripsi Matakuliah.....	6
1.5 Kegunaan Mata Kuliah .....	6
1.6 Pedoman umum penggunaan mata kuliah .....	6
BAB 2 METODA EKSTRAKSI.....	39
2.1 Prinsip Ekstraksi .....	39
2.2 Ekstraksi Laboratorium .....	39
2.3 Klasifikasi Ekstraksi .....	42
2.4 Maserasi.....	42
2.5 Perkolasi .....	44
2.6 Refluks.....	46
2.7 Sokletasi.....	48
2.8 Faktor yang mempengaruhi Ekstraksi .....	49
2.9 Penerapan metoda ekstraksi dalam penelitian .....	51
2.10 Evaluasi.....	53
BAB 3 METODA KROMATOGRAFI CAIR (CAIR-CAIR).....	55
4.1 Pengertian Kromatografi Cair .....	58
4.2 Analisis Kualitatif .....	62
4.3 Analisis Kuantitatif.....	63
4.4 Aplikasi.....	64
4.5 Instrumen Kromatografi Cair .....	66
4.6 Parameter Yang Digunakan Kromatografi Cair .....	67
4.7 Evaluasi .....	71
BAB 4 METODA KROMATOGRAFI ADSORPSI.....	72



5.1 Kegunaan Kromatografi Adsorpsi.....	73
5.2 Pemisahan dan Analisis Kromatografi .....	74
5.3 Pemisahan Adsorpsi Melalui Kromatografi Kolom .....	75
5.4 Pemisahan Adsorpsi Melalui Kromatografi Lapis Tipis .....	75
5.5 Analisis Kromatografi Adsorpsi.....	76
5.6 Aplikasi .....	78
5.7 Evaluasi .....	79
<b>BAB 5 METODA KROMTOGRAFI PENUKAR ION .....</b>	<b>81</b>
5.1 Mekanisme Pertukaran Ion.....	82
5.2 Fase Diam.....	89
5.3 Fase Gerak (Eluen).....	95
5.4 Penyangga .....	97
5.5 Deteksi.....	99
5.6 Aplikasi .....	100
5.7 Evaluasi .....	102
<b>BAB 6 METODA KROMATOGRAFI <i>SIZE EXCLUSION</i> .....</b>	<b>103</b>
6.1 Kromatografi Eksklusi Ukuran .....	103
6.2 Kegunaan Kromatografi Eksklusi Ukuran .....	104
6.3 Pemisahan dan Analisis Kromatografi Eksklusi Ukuran .....	105
6.4 Aplikasi .....	105
6.5 Parameter Yang Digunakan.....	107
6.6 Evaluasi .....	108
<b>BAB 7 KROMATOGRAFI GAS (GAS-CAIR,FASE IKATAN GAS,DAN GAS PADAT)....</b>	<b>109</b>
7.1 Kromatografi Gas .....	109
7.2 Kromatografi Gas-Cair ( <i>Gas-Liquid</i> ).....	110
7.3 Kromatografi Fase Terikat Gas ( <i>Gas Bonded Phase</i> ) .....	111
7.4 Kromatografi Gas ( Padatan Gas) .....	113
7.5 Kegunaan Kromatografi Gas.....	114
7.6 Pemisahan dan analisis Kromatografi Gas .....	114
7.7 Aplikasi .....	114
7.8 Intrumen Kromatografi Gas .....	116
7.9 Parameter yang Digunakan Kromatografi Gas .....	117

7.10 Evaluasi.....	119
BAB 8 PEMISAHAN KIMIA DALAM ASPEK KEMARITIMAN .....	120
DAFTAR PUSTAKA .....	132
GLOSSARIUM.....	141
INDEKS .....	142



# BAB 1

## PENDAHULUAN

---

### 1.1 Gambaran Profil Lulusan Program Studi Kimia

---

Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Maritim Raja Ali Haji (UMRAH) melakukan pengembangan pada Kerangka Kualifikasi Nasional Indonesia (KKNI), mencakup penyusunan capaian pembelajaran beserta standar isi, standar proses belajar, standar pembelajaran, standar penilaian, penelitian dan pengabdian masyarakat yang berkaitan dengan mahasiswa. Di samping itu, penyesuaian kurikulum berbasis *OBE (Outcome Based Education)* juga dilakukan demi mendukung implementasi program Merdeka Belajar-Kampus Merdeka (MB-KM).

Berdasarkan visi, misi, dan tujuan program studi pendidikan kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Maritim Raja Ali Haji (UMRAH), maka dirumuskan profil lulusan sebagai berikut:

**Tabel 1.1** Profil Lulusan Program Studi Pendidikan Kimia FKIP UMRAH

<b>Kode</b>	<b>Profil Lulusan Profil Inti</b>	<b>Deskripsi</b>
PL-01	Pendidik	Pendidik kimia pada berbagai jenjang dan jenis pendidikan.
PL-02	Peneliti	Peneliti pemula pada bidang pendidikan kimia.
	<b>Profil Hibrida</b>	
PL-03	Pengelola Laboratorium	Sebagai pengelola laboratorium kimia pada institusi pendidikan.
PL-04	Wirausahawan	Wirausahawan pada bidang pendidikan kimia dan kimia
PL-05	Pengelola Pendidikan	Pengelola/pimpinan dalam lembaga pendidikan.

### 1.2 Kompetensi Lulusan

---

Untuk mencapai lulusan Program Studi Pendidikan Kimia yang sesuai dengan profil lulusan yang diharapkan, maka dirumuskan capaian pembelajaran lulusan yang terbagi dalam aspek

sikap, pengetahuan, keterampilan umum, dan keterampilan khusus yang disajikan secara rinci sebagai berikut:

**Tabel 1.2** Capaian Pembelajaran Lulusan (CPL) Program Studi Pendidikan Kimia FKIP

UMRAH

<b>Capaian Pembelajaran Lulusan</b>	<b>Kode CPL</b>	<b>Rincian CPL</b>
<b>Sikap (S)</b>	S-1	Bertaqwa kepada Tuhan Yang Maha Esa dan mampu menunjukkan sikap religious.
	S-2	Menjunjung tinggi nilai kemanusiaan dalam menjalankan tugas berdasarkan agama, moral, etika.
	S-3	Berkontribusi dalam peningkatan mutu kehidupan bermasyarakat, berbangsa, bernegara, dan kemajuan peradaban berdasarkan Pancasila.
	S-4	Berperan sebagai warga negara yang bangga dan cinta tanah air, memiliki nasionalisme serta rasa tanggungjawab pada negara dan bangsa.
	S-5	Menghargai keanekaragaman budaya, pandangan, agama, dan kepercayaan, serta pendapat atau temuan orisinal orang lain.
	S-6	Bekerja sama dan memiliki kepekaan sosial serta kepedulian terhadap masyarakat dan lingkungan.
	S-7	Taat hukum dan disiplin dalam kehidupan bermasyarakat dan bernegara.
	S-8	Menginternalisasi nilai, norma dan etika akademik.
	S-9	Menunjukkan sikap bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahlian pendidikan kimia secara mandiri.
	S-10	Menginternalisasi semangat kemandirian, kejuangan, dan kewirausahaan.
	S-11	Mempunyai ketulusan, komitmen, kesungguhan hati untuk mengembangkan ilmu dan mengamalkannya dengan berlandaskan berlandaskan nilai-nilai kearifan lokal wilayah maritim bagi kemaslahatan bersama secara lokal, nasional, dan global.

<b>Pengetahuan (P)</b>	P-1	Memahami konsep teoritis dan aplikasi tentang struktur, dinamika, dan energi bahan kimia, pemisahan, analisis, sintesis dan karakterisasi ( <i>content knowledge</i> ).
	P-2	Memahami teori pendidikan, karakteristik peserta didik, dan keprofesian ( <i>pedagogy knowledge</i> ).
	P-3	Mengintegrasikan konsep kimia, pengetahuan pedagogik kimia, kurikulum, metodologi, media, evaluasi, pengelolaan kelas, dan TIK dalam pembelajaran kimia ( <i>technological pedagogical and content knowledge</i> ).
	P-4	Memahami prinsip-prinsip K3 (Keselamatan dan Keamanan Kerja), pengelolaan laboratorium, penggunaan peralatan dan instrumen kimia, serta penanganan isu lingkungan.
	P-5	Memahami dasar-dasar metode ilmiah dan integritas akademik dalam penelitian dan karya ilmiah.
	P-6	Menguasai konsep dan karakteristik kewirausahaan ( <i>entrepreneurship</i> ) di bidang pendidikan kimia dan kimia yang berwawasan kemaritiman.
	P-7	Menguasai prinsip-prinsip ilmu kemaritiman serta budaya kearifan lokal dalam pembelajaran kimia.
	KU-1	Mampu menerapkan pemikiran logis, kritis, sistematis, dan inovatif dalam konteks pengembangan atau implementasi ilmu pengetahuan dan
<b>Keterampilan Umum (KU)</b>		teknologi yang memperhatikan dan menerapkan nilai humaniora yang sesuai dengan bidang keahliannya.
	KU-2	Mampu menunjukkan kinerja mandiri, bermutu, dan terukur.
	KU-3	Mampu mengkaji implikasi pengembangan atau implementasi ilmu pengetahuan dan teknologi yang memperhatikan dan menerapkan nilai humaniora sesuai dengan keahliannya berdasarkan kaidah, tata cara dan etika ilmiah dalam rangka menghasilkan solusi, gagasan, desain atau kritik seni, menyusun deskripsi saintifik hasil kajiannya dalam bentuk skripsi atau laporan tugas akhir, dan mengunggahnya dalam laman perguruan tinggi.

	KU-4	Mampu menyusun deskripsi saintifik hasil kajian dalam bentuk skripsi atau laporan tugas akhir, serta mengunggahnya dalam laman perguruan tinggi.
	KU-5	Mampu mengambil keputusan secara tepat dalam konteks penyelesaian masalah di bidang keahliannya, berdasarkan hasil analisis informasi dan data.
	KU-6	Mampu memelihara dan mengembangkan jaringan kerja dengan pembimbing, kolega, sejawat baik di dalam maupun di luar lembaganya.
	KU-7	Mampu bertanggungjawab atas pencapaian hasil kerja kelompok dan melakukan supervisi serta evaluasi terhadap penyelesaian pekerjaan yang ditugaskan kepada pekerja yang berada di bawah tanggungjawabnya.
	KU-8	Mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri.
	KU-9	Mampu mendokumentasikan, menyimpan, mengamankan, dan menemukan kembali data untuk menjamin kesahihan dan mencegah plagiasi.
<b>Keterampilan Khusus (KK)</b>	KK-1	Merencanakan, mengelola, dan mengevaluasi pembelajaran kimia di sekolah sesuai dengan karakteristik materi (content knowledge) dan karakteristik peserta didik, pendekatan pembelajaran, sumber belajar, media pembelajaran (pedagogical knowledge), serta teknologi informasi dan komunikasi yang relevan (technological knowledge) secara inovatif dan adaptif.
	KK-2	Merencanakan, mengelola, dan mengevaluasi aktivitas di laboratorium dengan memperhatikan prinsip-prinsip K3 (Keselamatan dan Kesehatan Kerja) dan isu lingkungan secara inovatif dan adaptif.
	KK-3	Mengidentifikasi permasalahan dan menentukan alternatif solusi berdasarkan teori dan temuan penelitian, serta merancang dan mengimplementasikannya dalam penelitian pendidikan kimia.

	KK-4	Menyusun karya ilmiah sesuai kaidah dan integritas akademik.
	KK-5	Menerapkan kompetensi digital dalam pembelajaran kimia dan kehidupan sehari-hari yang relevan.
	KK-6	Mampu menerapkan ilmu pengetahuan kimia pada pengajaran melalui proses pengambilan keputusan, baik tercermin pada kegiatan microteaching, maupun praktik pengajaran di sekolah.
	KK-7	Mampu menghasilkan produk dalam bidang pembelajaran kimia dan kimia yang berwawasan kemaritiman, serta menerapkan teknik-teknik pemasaran produk.

### 1.3 Analisis Kebutuhan Pembelajaran

Analisis material sampai skala kimia sangat diperlukan di berbagai bidang. Dalam banyak analisis kimia mulai dari langkah pemisahan merupakan kunci dan sangat diperlukan untuk menentukan kandungan dalam skala unsur atau molekul suatu kandungan bahan. Pemisahan kimia juga diperlukan sebagai salah satu tahapan analisis kimia karena instrumen analisis kimia modern secara umum membutuhkan bahan murni dan bukan campuran. Buku ini dibutuhkan untuk mahasiswa pendidikan kimia dan para peneliti kimia dalam menentukan langkah dan konsep pemisahan kimia sebelum dilanjutkan dalam langkah dan analisis dengan metoda lain lebih lanjut. Adapun buku ini berjudul *Pemisahan Kimia: Sebuah Pengantar*. Adapun isi buku ini antara lain menjelaskan berbagai jenis ekstraksi, destilasi dan kromatografi serta penerapan pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Oleh karena itu, norma pedagogis pembelajarannya secara signifikan mengarahkan pengajar dalam pemilihan materi yang sesuai dengan karakter tersebut, serta memberikan kasus dan proyek secara langsung untuk menjelaskan tentang kaitan antara berbagai metode pemisahan dan cara-cara pengukuran modern meliputi metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi, ekstraksi ultrasonic, ekstraksi microwave, metoda destilasi kontinyu, metoda destilasi Bacth, metoda kromatografi cair, metoda kromatografi gas, penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Sistem pembelajaran menggunakan metode *Case Method* dan *Team Based Project* di mana dosen di dalam pembelajaran lebih banyak memosisikan dirinya sebagai fasilitator dan mitra bicara. Di dalam hal ini, pengajar memberikan penjelasan singkat tentang Pemisahan Kimia Kawasan pesisir, membuat kontrak kuliah, serta melakukan pembagian kelompok dan tugas kelompok di setiap awal perkuliahan. Hasil pekerjaan kelompok akan dipresentasikan pada pertemuan berikutnya. Pada setiap segmen akhir perkuliahan, pengajar melakukan umpan balik sebagai koreksi apa yang



apa yang telah dipresentasikan. Peserta mata kuliah Pemisahan Kimia adalah mahasiswa semester IV dengan jumlah peserta rata-rata di atas 25 orang per kelas, dan pembelajaran Pemisahan Kimia dititik beratkan pada penggunaan konsep-konsep teoritis yang telah ada untuk menjelaskan metode Pemisahan Kimia Kawasan pesisir dan pengaplikasiannya pada pengukuran instrumen, maka untuk kondisi seperti itu cukup ideal apabila pengajar menerapkan metode pembelaran *Case Method* dan *Team Based Project*.

#### **1.4 Deskripsi Matakuliah**

---

Mata kuliah ini bertujuan agar mahasiswa memiliki pemahaman yang benar tentang pemisahan kimia pada bahan alam kawasan daerah pesisir. metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi, ekstraksi ultrasonic, ekstraksi microwave, metoda destilasi kontinyu, metoda destilasi Bacth, metoda kromatografi cair, metoda kromatografi gas, penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Perkuliahan dilaksanakan dalam bentuk diskusi, pemberian simulasi kimia, *case method*, dan *team-based-project*, dan presentasi. Bentuk penilaian yang digunakan antara lain penilaian kinerja dan laporan praktikum, UTS, UAS, dan kehadiran.

#### **1.5 Kegunaan Mata Kuliah**

---


Mata kuliah Pemisahan kimia ini berguna dalam menentukan teknis pemisahan sesuai dengan sampel dan komponen yang diinginkan. Mata kuliah ini menyajikan metoda pemisahan secara konvensional sampai kepada pemisahan secara intrumental.

#### **1.6 Pedoman umum penggunaan mata kuliah**

---

Buku ini dibutuhkan untuk mahasiswa pendidikan kimia dan para penieliti kimia dalam menentukan langkah dan konsep pemisahan kimia sebelum dilanjutkan dalam langkah dan analisis dengan metoda lain lebih lanjut. Adapun buku ini berjudul pemisahan kimia: Sebuah Pengantar pada aspek kemaritiman. Adapun isi buku ini antara lain menjelaskana berbagai jenis ekstraksi, destilasi dan kromatografi serta penerapan pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Setiap bab dilengkapi dengan soal evaluasi. Buku ini juga dilengkapi dengan penerapan metoda pemisahan kimia dalam beberapa penelitian terkini yang bersumber dari artikel pada jurnal.

Tabel 1.3. Rencana Pembelajaran Semester

		<b>UNIVERSITAS MARITIM RAJA ALI HAJI</b> <b>FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN</b> <b>PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA</b>		
RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER				
MATAKULIAH (MK)	KODE MATAKULIAH	BOBOT (SKS)	SEMESTER	TANGGAL PENYUSUNAN
Kimia Larutan	PKM11017	Teori : 2 SKS Praktek : 1 SKS	2 (Genap)	
<b>OTORISASI</b>	<b>Pengembangan RPS</b>	<b>Koordinator MK</b>  Dr. Nancy Willian, M.Si	<b>Ketua Program Studi</b>  Ardi Widhia Sabekti, S.Pd.,M.Pd	<b>TANGGAL REVISI</b>
<b>Capaian Pembelajaran</b>	<b>CPL-Program Studi yang Dibebankan pada Matakuliah</b>			
	<b>CPL-1</b>	Bertaqwa kepada Tuhan Yang Maha Esa dan mampu menunjukkan sikap religius		
	<b>CPL-2</b>	Menginternalisasi nilai, norma, dan etika akademik		
	<b>CPL-3</b>	Menguasai konsep teoritis tentang dasar sains, matematika, struktur dinamika, dan energi bahan kimia, serta prinsip dasar pemisahan, analisis, sintesis, dan karakterisasinya		
	<b>CPL-4</b>	Menguasai prinsip-prinsip K3 (Keselamatan dan Keamanan Kerja), pengelolaan laboratorium kimia dan penggunaan peralatannya serta cara mengoperasikan instrumen kimia		
	<b>CPL-5</b>	Mampu menerapkan pemikiran logis, kritis, sistematis, dan inovatif dalam konteks pengembangan atau implementasi ilmu pengetahuan dan		

	teknologi yang memperhatikan dan menerapkan nilai humaniora yang sesuai dengan bidang keahliannya
<b>CPL-6</b>	Mampu menunjukkan kinerja mandiri, bermutu dan terukur.
<b>CPL-7</b>	Mampu merencanakan, melaksanakan, dan mengevaluasi kegiatan praktikum dalam rangka pelaksanaan pendekatan saintifik dengan memanfaatkan potensi kemaritiman yang tersedia serta memperhatikan keselamatan dan keamanan kerja (K3)
<b>CPL-8</b>	Mampu merancang, melaksanakan penelitian dan mempublikasikan hasilnya dalam bentuk artikel ilmiah yang dapat digunakan sebagai alternatif penyelesaian masalah di bidang pembelajaran kimia
<b>Capaian Pembelajaran Matakuliah (CPMK)</b>	
<b>CPM K-1</b>	Menganalisis penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari
<b>CPM K-2</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi
<b>CPM K-3</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi ultrasonik
<b>CPM K-4</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi microwave
<b>CPM K-5</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda destilasi kontinyu
<b>CPM K-6</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda destilasi Bacth
<b>CPM K-7</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda kromatografi cair
<b>CPM K-8</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda kromatografi gas
<b>Sub-Capaian Pembelajaran Matakuliah (Sub-CPMK)</b>	
<b>Sub-CPM K-1.1</b>	Menganalisis penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari

<b>Sub-CPM K-1.2</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi
<b>Sub-CPM K-1.3</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi ultrasonik
<b>Sub-CPM K-2.1</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda ekstraksi microwave
<b>Sub-CPM K-2.2</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda destilasi kontinyu
<b>Sub-CPM K-2.3</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda destilasi Bacht
<b>Sub-CPM K-2.4</b>	Menentukan aplikasi ekstraksi pelarut pada sampel daerah Kawasan pesisir
<b>Sub-CPM K-3.1</b>	Menentukan aplikasi destilasi pada sampel daerah Kawasan pesisir
<b>Sub-CPM K-3.2</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda kromatografi cair
<b>Sub-CPM K-3.3</b>	Menganalisis prinsip pemisahan kimia dengan metoda kromatografi gas
<b>Sub-CPM K-3.4</b>	Menentukan aplikasi kromatografi cair pada sampel daerah Kawasan pesisir
<b>Sub-CPM K-4.1</b>	Menentukan aplikasi kromatografi gas pada sampel daerah Kawasan pesisir

<b>Sub-CPM K-4.2</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: Liquid-liquid or partition)
<b>Sub-CPM K-4.3</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: Liquid-liquid or partition)
<b>Sub-CPM K-5.1</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: Liquid-bonded phase)
<b>Sub-CPM K-5.2</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: Liquid-adsorption or adsorption)
<b>Sub-CPM K-5.3</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: ion exchange)
<b>Sub-CPM K-5.4</b>	Mengalisis penerapan Liquid Chromatography (Specific method: Size exclusion)
<b>Sub-CPM K-6.1</b>	Mengalisis penerapan Gas Chromatography (Specific method: gas-liquid)
<b>Sub-CPM K-6.2</b>	Mengalisis penerapan Gas Chromatography (Specific method: gas bonded phase)
<b>Sub-CPM K-6.3</b>	Mengalisis penerapan Gas Chromatography (Specific method: gas solid)
<b>Sub-CPM K-7.1</b>	Menganalisis prinsip kerja kromatografi cair
<b>Sub-CPM K-7.2</b>	Menganalisis prinsip kerja kromatografi gas

<b>Sub-CPM K-7.3</b>	Menganalisis kromatogram pada artikel jurnal																																																																																		
<b>Sub-CPM K-8.1</b>	Menganalisis Parameters used in Liquid Chromatography or Gas Chromatography																																																																																		
<b>Sub-CPM K-8.2</b>	Mengidentifikasi Separation and Analysis (Qualitative analysis and Quantitative analysis)																																																																																		
<b>Sub-CPM K-8.3</b>	Menentukan Liquid Chromatography or Gas Chromatography																																																																																		
<b>Korelasi CPMK dan Sub-CPMK</b>																																																																																			
	<b>Sub-CPMK</b>																																																																																		
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>2</td><td>2</td><td>2</td><td>3</td><td>3</td><td>3</td><td>3</td><td>4</td><td>4</td><td>4</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>6</td><td>6</td><td>6</td><td>7</td><td>7</td><td>7</td><td>8</td><td>8</td><td>8</td> </tr> <tr> <td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td><td>.</td> </tr> <tr> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td> </tr> </table>	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4	5	5	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4	5	5	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	8																																																									
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.																																																								
1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	1	2	3																																																									
<b>CPM K-1</b>	√ √ √																																																																																		
<b>CPM K-2</b>	√ √ √ √																																																																																		
<b>CPM K-3</b>	√ √ √ √																																																																																		
<b>CPM K-4</b>	√ √ √																																																																																		
<b>CPM K-5</b>	√ √ √ √																																																																																		
<b>CPM K-6</b>	√ √ √																																																																																		
<b>CPM K-7</b>	√ √ √																																																																																		
<b>CPM K-8</b>	√ √ √																																																																																		

<b>Deskripsi Singkat MK</b>	Mata kuliah ini bertujuan agar mahasiswa memiliki pemahaman yang benar tentang pemisahan kimia pada bahan alam Kawasan daerah pesisir. metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi, ekstraksi ultrasonic, ekstraksi microwave, metoda destilasi kontinyu, metoda destilasi Bacth, metoda kromatografi cair, metoda kromatografi gas, penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Perkuliahan dilaksanakan dalam bentuk diskusi, pemberian simulasi kimia, <i>case method</i> , dan <i>team-based-project</i> , dan presentasi. Bentuk penilaian yang digunakan antara lain penilaian kinerja dan laporan praktikum (bobot penilaian 30%), UTS, UAS, dan kehadiran.
<b>Bahan Kajian: Materi Pembelajaran</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, infusa, digestasi, dekokta, dan fraksinasi</li> <li>2. Ekstraksi ultrasonic</li> <li>3. Ekstraksi microwave</li> <li>4. destilasi kontinyu</li> <li>5. destilasi Bacth</li> <li>6. kromatografi cair</li> <li>7. kromatografi gas</li> <li>8. Penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari</li> </ol>
<b>Pustaka</b>	<p><b>Utama:</b></p> <p>Basset,J.et.al,Trans.ByAHadyanaPudjaatmakadanL.Setiono,1994,BukuAjarVogel,KimiaAnalisisKuantitatifAnorganik,4thEd.,Jakarta:PenerbitBukuKedokteran E G C. Christian, G.D., 1994, Analytical Chemistry, 5th Ed., New York: John Wiley &amp; Sons.</p> <p><b>Pendukung:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Day, R. A. &amp; Underwood, A. L., Trans. By A HadyanaPudjaatmaka, 1989, Analisis Kimia Kuantitatif, Jakarta: PenerbitErlangga. Gutter, R.J., et al., Trans.</li> <li>2. PengantarKromatografi, 2nd Ed., Bandung: Penerbit ITB Harris, D.C., 1991, Quantitative Chemical Analysis, 3rd Ed., New York: W.H.</li> <li>3. Khairuddin, dkk., 2000, Pemisahan Kimia; FMIPA, Universitas Taduloako.</li> </ol>
<b>Dosen Pengajar</b>	<b>Hilfi Pardi, S.Si.,M.Si</b>
<b>Matakuliah Syarat</b>	-

## RINCIAN RENCANA KEGIATAN PEMBELAJARAN

Pek an Ke-	Sub- CPMK	Penilaian		Bentuk Pembelajaran; Metode Pembelajaran: Penugasan [Estimasi Waktu]		Materi Pembela jaran [Pustaka ]	Bobot Penil aian [%]
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring	Daring		
				1-2	Mengana lisis proses pemisah an digunaka n untuk mendapa tkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campura n senyawa kimia dengan teknik/m etode ekstraksi pelarut secara maserasi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan perkolasi .</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan</li> </ul>



	dan perkolasi .	perkolasi . •Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan perkolasi .	perkolasi . •mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan perkolasi . •mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode	metode ekstraksi pelarut secara maserasi dan perkolasi. •Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut •Menyajikan beberapa contoh teknik/metode ekstraksi pelarut secara			
--	-----------------	---	---	--	--	--	--

		<p>ekstraksi pelarut secara maserasi dan perkolasi .</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</li> </ul> <p><b>Test:</b>  <b>Mengalinalisis</b> teknik/metode ekstraksi pelarut secara maserasi</p>	<p>maserasi dan perkolasi dalam kehidupan sehari-hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</li> <li>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</li> </ul> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b>  <b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b>  <b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>		
--	--	--	--	--	--

			dan perkolasi dari artikel jurnal internasional.				
3-4	Mengana lisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan sokletasi.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<p><b>Metode ekstraksi:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Refluksi</li> <li>• Sokletasi</li> </ul> <p>Aplikasi bahan alam</p> <p>Kawasan maritim</p>	5

	<p>dan sokletasi .</p> <p>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan sokletasi .</p>	<p>sokletasi .</p> <p>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan sokletasi .</p> <p>• Mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode ekstraksi</p>	<p>dan sokletasi.</p> <p>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan sokletasi.</p> <p>• mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode ekstraksi</p>	<p>metode ekstraksi pelarut refluks dan sokletasi .</p> <p>• Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</p> <p>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks</p>			
--	--	---	---	--	--	--	--

			<p>pelarut secara refluks dan sokletasi.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</li> </ul> <p><b>Test:</b>  <b>Mengalinalisis</b> teknik/metode ekstraksi pelarut secara refluks dan sokletasi dari artikel</p>	<p>dan sokletasi dalam kehidupan sehari-hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</li> <li>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</li> </ul> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b>  <b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b>  <b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>		
--	--	--	--	---	--	--

			jurnal internasional.				
5-6	Mengana lisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta, dan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinasi.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinasi.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode ekstraksi pelarut infusa,</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<p><b>Metode ekstraksi :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infusi</li> <li>• Digestasi</li> <li>• Dekokta</li> <li>• fraksinasi</li> <li>• Aplikasi bahan alam Kawasan maritim</li> </ul>	10

	<p>fraksinas i.</p>	<p>fraksinas i. •Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinas i.</p>	<p>•mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinas i. •mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode</p>	<p>digestasi, dekokta dan fraksinas i. •Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut •Menyajikan beberapa contoh teknik/metode ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi</p>			
--	-------------------------	---	---	---	--	--	--

		<p>ekstraksi pelarut secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinasi.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</li> </ul> <p><b>Test:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Menganalisis teknik/metode ekstraksi pelarut</b></li> </ul>	<p>, dekokta dan fraksinasi dalam kehidupan sehari-hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</li> <li>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</li> </ul> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b></p> <p><b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b></p>		
--	--	---	--	--	--



			secara infusa, digestasi, dekokta dan fraksinas i dari artikel jurnal internasional.	<b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b>			
7	Mengana lisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara microwave dan ultrasonik.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode ekstraksi pelarut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode ekstraksi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<p><b>Metode ekstraksi :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Microwave</li> <li>• ultrasonik</li> <li>• Aplikasi bahan alam Kawasmaritim</li> </ul>	<b>10</b>

	<p>ekstraksi pelarut secara microwa ve dan ultrasoni k.</p>	<p>secara microwa ve dan ultrasoni k.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara microwa ve dan ultrasoni k.</li> </ul>	<p>pelarut secara microwa ve dan ultrasoni k.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode ekstraksi pelarut secara microwa ve dan ultrasoni k.</li> <li>• mahasiswa mampu mengana</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode ekstraksi pelarut microwa ve dan ultrasoni k.</li> <li>• Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/</li> </ul>			
--	---	--	---	--	--	--	--

			<p>lisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara microwa ve dan ultrasonik.</p> <p>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</p> <p><b>Test:</b> <b>Mengalinalisis</b> teknik/metode</p>	<p>metode ekstraksi pelarut secara microwa ve dan ultrasonik dalam kehidupan sehari-hari.</p> <p>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</p> <p>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</p> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b></p>		
--	--	--	---	--	--	--

			ekstraksi pelarut secara microwave dan ultrasonik dari artikel jurnal internasional.	<b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b> <b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b>			
<b>8</b>	<b>UTS (10%)</b>						
<b>9-10</b>	Mengana lisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode destilasi kontinyu dan batch.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode destilasi kontinyu dan batch.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode destilasi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<b>Metode destilasi:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• kontinyu</li> <li>• Batch</li> <li>• Aplikasi bahan alam Kawasan maritim</li> </ul>	<b>10</b>

	<p>destilasi kontinyu dan batch.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode ekstraksi pelarut secara destilasi kontinyu dan batch.</li> </ul>	<p>kontinyu dan batch.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode destilasi kontinyu dan batch.</li> <li>• mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode destilasi kontinyu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode destilasi kontinyu dan batch.</li> <li>• Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode destilasi</li> </ul>			
--	--------------------------------------	--	--	--	--	--	--

			<p>dan batch.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</li> </ul> <p><b>Test:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Menganalisis teknik/metode ekstraksi pelarut secara destilasi kontinyu dan batch dari artikel</b></li> </ul>	<p>kontinyu dan batch dalam kehidupan sehari-hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</li> <li>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</li> </ul> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b></p> <p><b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b></p> <p><b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>		
--	--	--	---	--	--	--

			jurnal internasional.				
11-12	Mengana lisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or adsorption.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode kromatografi cair secara</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase,</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> <li>• Menyajikan beberapa teknik/metode kromatografi cair</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<p><b>Metode kromatografi cair:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• liquid-liquid or partition</li> <li>• liquid-bonded phase</li> <li>• liquid-adsorption or adsorption.</li> <li>• Aplikasi bahan alam Kawasan maritim</li> </ul>	10

	<p>phase, liquid-adsorption or adsorption.</p>	<p>liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or adsorption. Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or adsorption.</p>	<p>liquid-adsorption or adsorption.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or</li> </ul>	<p>secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or adsorption.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/</li> </ul>			
--	--	---	--	--	--	--	--



			<p>adsorptio n.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa wa mampu mengana lisis aplikasi teknik/m etode kromato grafi cair secara liquid- liquid or partition, liquid- bonded phase, liquid- adsorptio n or adsorptio n.</li> <li>• mahasiswa wa melakuk an analisis terhadap proses pemisah an kimia berdasar kan</li> </ul>	<p>metode kromato grafi cair secara liquid- liquid or partition , liquid- bonded phase, liquid- adsorpti on or adsorpti on dalam kehidup an sehari- hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa wa berdisku si aktif di dalam kelompo k</li> <li>• Melaksa nakan sesi tanya jawab dari hasil</li> </ul>			
--	--	--	---	--	--	--	--

			<p>kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</p> <p><b>Test:</b></p> <p><b>Mengalinalisis teknik/metode kromatografi cair secara liquid-liquid or partition, liquid-bonded phase, liquid-adsorption or adsorption dari artikel jurnal internasional.</b></p>	<p>diskusi kelompok</p> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b></p> <p><b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b></p> <p><b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>			
<b>13-14</b>	Menganalisis proses pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/m</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<b>Metode kromatografi cair:</b>	<b>15</b>

<p>digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <p>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode kromato</p>	<p>etode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <p>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <p>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode kromato</p>	<p>skor 0-100</p> <p>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</p> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <p>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <p>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh</p>	<p>kelompok dalam diskusi kelas</p> <p>• Menyajikan beberapa contoh campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</p> <p>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <p>• Melalui laborato</p>	<p>• Ion exchange</p> <p>• Size exclusion</p> <p>• Aplikasi bahan alam Kawasan maritim</p>
--	---	---	---	--

		<p>grafi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p>	<p>penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size</li> </ul>	<p>rium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion dalam kehidupan</li> </ul>		
--	--	---	---	---	--	--

			<p>exclusion.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasarkan kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</li> </ul> <p><b>Test:</b>  <b>Mengalinalisis</b>  teknik/metode kromatografi cair secara ion exchange dan size exclusion dari artikel jurnal</p>	<p>sehari-hari.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</li> <li>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</li> </ul> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b>  <b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b>  <b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>			
--	--	--	---	---	--	--	--

			internasion al.				
15	Mengana lisis proses pemisah an digunaka n untuk mendapa tkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campura n senyawa kimia dengan teknik/m etode kromato grafi gas secara gas- liquid, bonded phase dan gas solid.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan identifikasi teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded phase dan gas solid.</li> <li>• Ketepatan klasifikasi penggunaan pelarut teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded phase dan gas solid.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pencapaian indikator dengan skor 0-100</li> <li>• Kriteria kinerja sesuai dengan rubrik</li> </ul> <p><b>Non Test:</b> <i>Case Method</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded phase dan gas solid.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kuliah Pengantar</li> <li>• Pembagian kelompok dalam diskusi kelas</li> <li>• Menyajikan beberapa campuran sebagai bahan diskusi mahasiswa (<i>Case Method</i>)</li> <li>• Menyajikan beberapa teknik/metode kromatografi gas secara</li> </ul>	<a href="https://phet.colorado.edu/">https://phet.colorado.edu/</a>	<p><b>Metode kromatografi gas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• gas-liquid</li> <li>• bonded phase</li> <li>• gas solid</li> <li>• Aplikasi bahan alam Kawasanan maritim</li> </ul>	10

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan analisis aplikasi teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded phase dan gas solid.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mahasiswa melakukan analisis terhadap beberapa contoh penggunaan berbagai macam pelarut yang digunakan pada teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded phase dan gas solid.</li> <li>• mahasiswa mampu menganalisis aplikasi teknik/metode</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>liquid, bonded phase dan gas solid.</li> <li>• Melalui laboratorium virtual phet.colorado mahasiswa menganalisis teknik pemisahan berdasarkan kemampuan pelarut</li> <li>• Menyajikan beberapa contoh teknik/metode kromatografi gas secara gas-liquid, bonded</li> </ul>			
--	--	---	--	--	--	--	--

			<p>kromato grafi cair secara kromato grafi gas secara gas- liquid, bonded phase dan gas solid.</p> <p>• mahasiswa melakukan analisis terhadap proses pemisahan kimia berdasar kemampuan pelarut pada laboratorium virtual</p> <p><b>Test: Mengalinalisis teknik/met</b></p>	<p>phase dan gas solid dalam kehidupan sehari-hari.</p> <p>• Mahasiswa berdiskusi aktif di dalam kelompok</p> <p>• Melaksanakan sesi tanya jawab dari hasil diskusi kelompok</p> <p><b>TM : 2 (2 × 50 menit)</b></p> <p><b>BT : 2 (2 × 60 menit)</b></p> <p><b>BM : 2 (2 × 60 menit)</b></p>		
--	--	--	---	--	--	--



			ode kromatogr afi gas secara gas- liquid, bonded phase dan gas solid dari artikel jurnal internasion al.				
<b>UAS (15%)</b>							

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Ewing, G.W. (1975), Instrumental Methods of Chemical Analysis 4th ed., Mc. Graw-Hill Kogakusha, Ltd, Tokyo
2. Pecsok (1976), Modern Methods of Chemical Analysis . 2nd ed, John Wiley and Sons, New York
3. Skoog, D.A., and Leary, J.J., (1998), Principles of Instrumental Analysis, 5th ed., Sanders Coll. Publ., New York.
4. Skoog, D.A., West, D.M., Holler F.J., and Crouch, S.T., (2004). Fundamentals of Analytical Chemistry, 8th ed., Thomson Brooks/Cole, Australia.
5. Day, R. A. & Underwood, A. L., Trans. By A HadyanaPudjaatmaka, 1989, Analisis Kimia Kuantitatif, Jakarta: PenerbitErlangga. Gutter, R.J., et al., Trans.
6. PengantarKromatografi, 2nd Ed., Bandung: Penerbit ITB Harris, D.C., 1991, Quantitative Chemical Analysis, 3rd Ed., New York: W.H.
7. Khairuddin, dkk., 2000, Pemisahan Kimia; FMIPA, Universitas Taduloako.
8. Artikel-artikel dari jurnal terkini.

# BAB 2

## METODA EKSTRAKSI

---

Capaian Pembelajaran Mata kuliah (CPMK) pada topik ini adalah mahasiswa mampu menganalisis proses pemisahan digunakan untuk mendapatkan satu atau lebih produk yang lebih murni dari suatu campuran senyawa kimia dengan teknik/metode ekstraksi. Mahasiswa juga mampu memahami prinsip ekstraksi, klasifikasi ekstraksi dan faktor yang mempengaruhi ekstraksi. Penerapan metoda ekstraksi dalam riset serta dilengkapi dengan soal evaluasi untuk mengukur pemahaman mahasiswa dalam topik ini.

### 2.1 Prinsip Ekstraksi

---

Ekstraksi dalam kimia adalah proses pemisahan yang terdiri dari pemisahan suatu zat dari matriks. Dalam ekstraksi termasuk ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat. Ekstraksi adalah langkah pertama untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan baku. Salah satu contoh sederhana ekstraksi adalah ekstraksi pada daun teh.

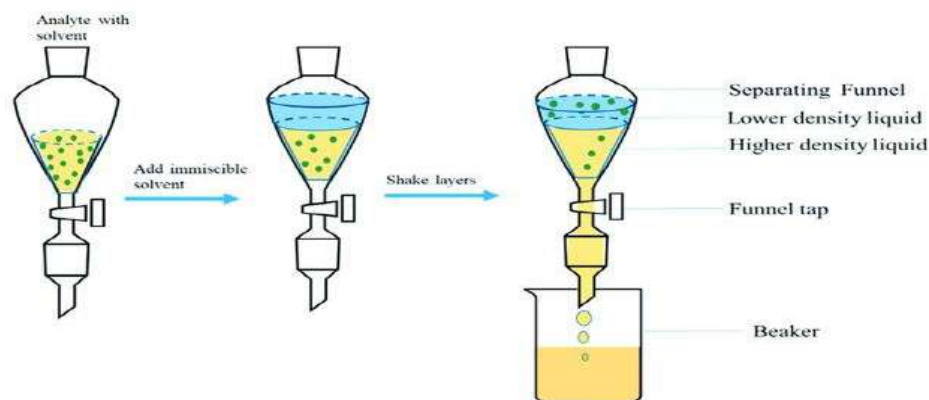
Dalam skala laboratorium, ekstraksi digunakan sebagai langkah awal dalam mengisolasi bahan tanaman. Ekstraksi memindahkan senyawa dari satu cairan ke cairan lain, sehingga larutan dapat lebih mudah dimanipulasi atau terkonsentrasi. Ini juga memungkinkan penghilangan komponen tertentu secara selektif dalam campuran. Konsep distribusi zat terlarut antara dua fase adalah kondisi kesetimbangan yang dijelaskan oleh teori partisi. Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu zat yang diinginkan ketika bercampur dengan zat lain. Campuran dibawa ke dalam kontak dengan pelarut di mana zat yang diinginkan larut, tetapi zat lain yang ada tidak larut.

Contoh ekstraksi yang mudah dipahami adalah pembuatan teh dari bahan baku daun teh atau tanaman lain yang potensial. Pembuatan teh adalah ekstraksi non-laboratorium yang sangat mendasar. Secara sederhana saat merebus daun teh dalam air untuk mengekstrak tanin, polifenol, dan kafein dari daun teh padat dan ke dalam air cair. Kandungan komponen metabolis yang terdapat dalam daun digunakan sebagai komponen unggulan dalam daun teh yang mampu memberika khasiat.

### 2.2 Ekstraksi Laboratorium

---

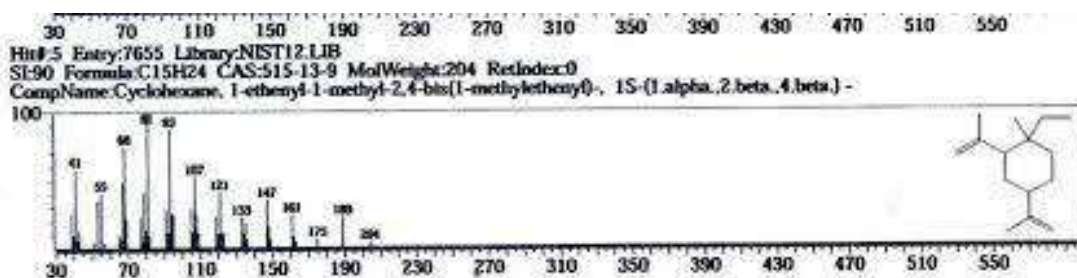
Ekstraksi laboratorium yang khas adalah untuk mengangkut senyawa organik keluar dari fase air dan masuk ke fase organik. Ini sering dilakukan dengan menggunakan corong pemisah, seperti yang diilustrasikan di bawah ini.



**Gambar 2.1.** Ekstraksi komponen pada daun teh menggunakan alat corong pisah (Targuma et al., 2021)

Ada beberapa alasan untuk menggunakan ekstraksi di laboratorium kimia. Ini adalah metode utama untuk mengisolasi senyawa dari bahan tanaman. Ekstraksi memindahkan senyawa dari satu cairan ke cairan lain, sehingga dapat lebih mudah terkonsentrasi. Ini juga memungkinkan penghilangan komponen secara selektif dalam campuran. Ataupun mengetahui komponen utama dalam campuran. Di laboratorium kimia, minyak atsiri pada tanaman sering diekstraksi dari sumbernya menggunakan pelarut, dan dianalisis menggunakan kromatografi gas atau spektroskopi.

Salah satu contoh ekstraksi minyak atsiri pada tanaman bunga melati dengan menggunakan *Gas Chromatografi Mass Spectrofotometri (GC-MS)* (Udayani, 2022).



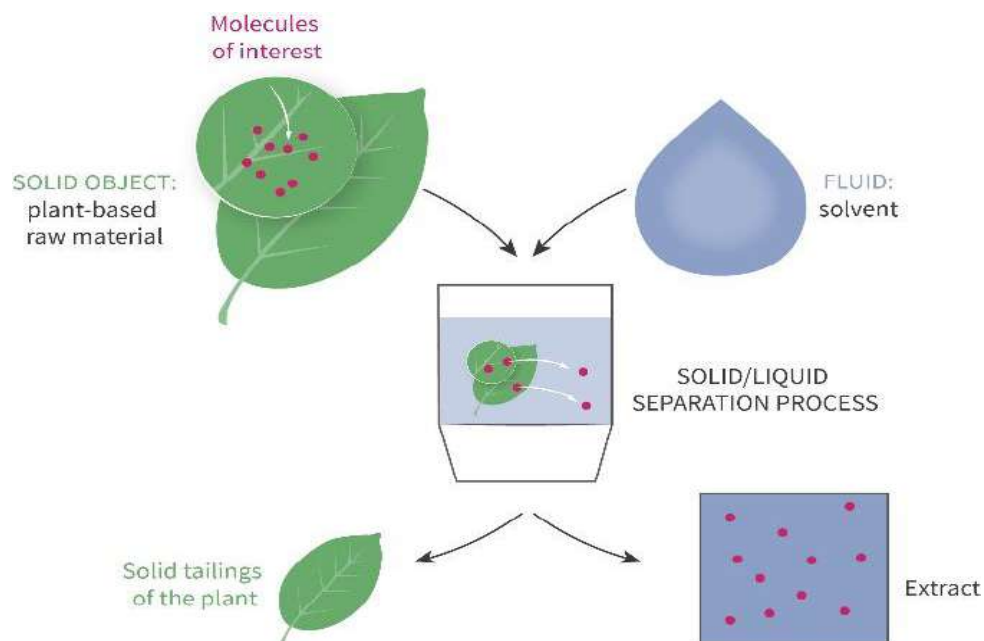
**Gambar 2.2.** Bentuk spektrum minyak atsiri secara GC-MS

Distribusi zat terlarut antara dua fase adalah keseimbangan yang dijelaskan oleh teori partisi. Ekstraksi mengacu pada pemindahan senyawa (s) dari padat atau cair ke dalam pelarut atau fase yang berbeda. Ketika kantong teh ditambahkan ke air panas, senyawa yang bertanggung jawab untuk rasa dan warna teh diekstraksi dari bubuk ke dalam air. Distribusi zat terlarut antara dua fase adalah kondisi kesetimbangan yang dijelaskan oleh teori partisi.

Ekstraksi pelarut adalah salah satu teknik pemisahan yang disukai karena lebih sederhana, kecepatan dan cakupan yang luas. Dengan menggunakan peralatan yang relatif simpel dan hanya

membutuhkan beberapa waktu untuk melakukannya, prosedur ekstraksi menawarkan banyak hal. Metode ini sangat ideal untuk memisahkan elemen kecil dari zat lain yang jumlahnya banyak (Kislik, 2012).

Ekstraksi tumbuhan adalah suatu proses yang bertujuan untuk mengekstraksi komponen-komponen tertentu yang ada pada tumbuhan. Ini adalah operasi pemisahan padat / cair: benda padat (tanaman) ditempatkan dalam kontak dengan cairan (pelarut). Komponen tanaman yang menarik kemudian dilarutkan dan terkandung dalam pelarut. Larutan yang diperoleh adalah ekstrak yang diinginkan. Pelarut pada akhirnya akan dihilangkan untuk mengisolasi ekstrak tumbuhan. Ekstraksi tumbuhan adalah ekstraksi padat/cair, yang pada akhirnya dilanjutkan dengan tahap pemurnian. Dengan demikian didefinisikan sebagai operasi pemisahan satu atau beberapa konstituen (padat atau cair) yang terkandung dalam benda padat dengan pelarutan dalam cairan.



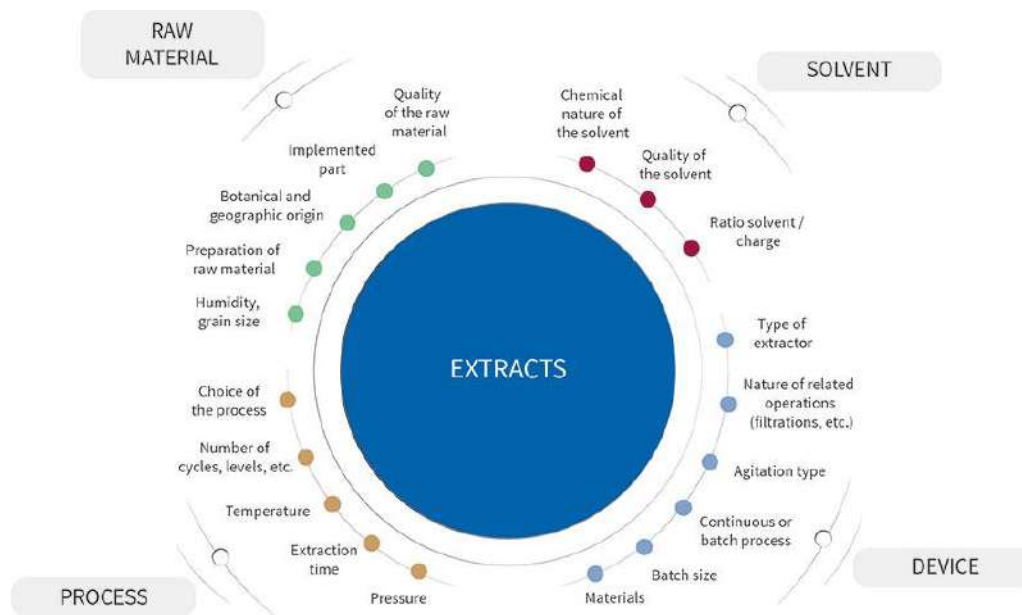
**Gambar 2.3.** Ekstraksi tanaman

(sumber: <https://www.berkem.com/en/expertise-en/plant-extraction>)

Kombinasikan metode dengan proses lain seperti distilasi, distilasi uap, rektifikasi, dll. Metoda ini dapat menggunakan berbagai pelarut, baik berturut-turut atau dalam kombinasi. Penggunaannya memanfaatkan alat bantu ekstraksi seperti ultrafiltrasi, reverse osmosis, tekanan tinggi (CO<sub>2</sub>), gelombang mikro, ultrasound, dll.

Bahan baku/ bagian tanaman adalah salah satu parameter terpenting, tetapi juga yang paling sulit untuk digunakan. Kenyataannya, bahkan dalam suatu varietas tanaman, seringkali terdapat variasi yang cukup besar dalam kualitas tergantung pada kondisi iklim, praktik budidaya, asal geografis, dll. Hal ini membuat semakin sulit untuk menjamin kualitas ekstrak yang konsisten dengan

menggunakan metoda ini. Spesifisitas dan hasil ekstraksi juga tergantung pada parameter intrinsiknya (kualitas pelarut, pilihan peralatan dan sifat yang berkaitan dengan prosedur).



**Gambar 2.4.** Grafik parameter yang mempengaruhi kualitas ekstrak

### 2.3 Klasifikasi Ekstraksi

Teknik ekstraksi konvensional salah satunya adalah maserasi dan perkolasi. Saat ini metoda konvensional sudah mulai ditinggalkan karena teknik ini memiliki beberapa kelemahan seperti tidak memiliki prinsip pada *green chemistry*. (Willian, Pardi, et al., 2021). Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai separating agent.

### 2.4 Maserasi

Dalam proses ini, bahan alami atau bubuk kasar sampel ditempatkan dalam wadah bersumbat dengan pelarut dan dibiarkan pada suhu kamar untuk jangka waktu minimal 3 hari dengan sering agitasi sampai zat terlarut telah larut. Proses ini dapat dilakukan berkali-kali, campuran tersebut kemudian disaring, dilakukan filtrasi atau dekantasi. Sampel maserasi yang dijadikan bubuk, bertujuan untuk memperbesar ukuran permukaan sehingga semakin banyak kontak sampel dengan pelarut selama dalam perendaman.

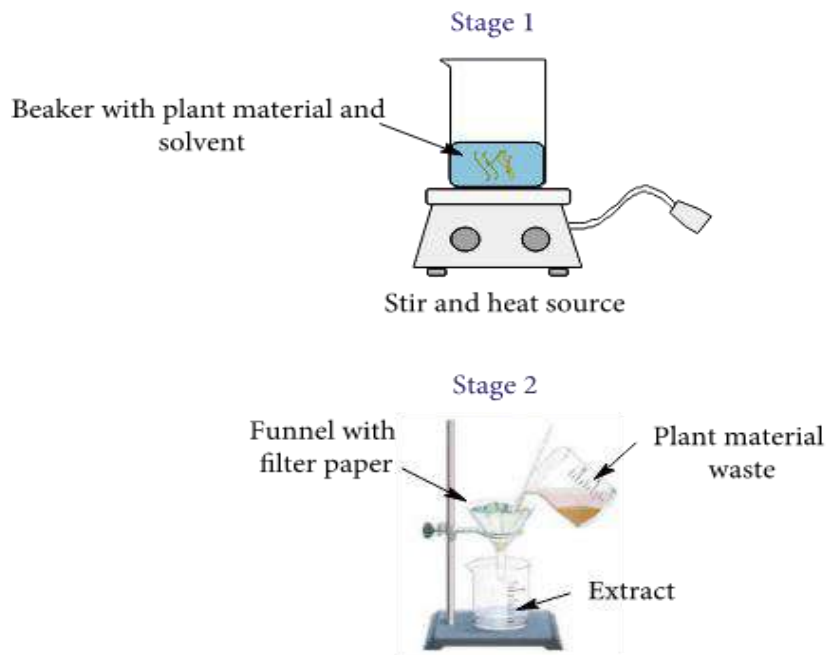
Sebelum abad kesembilan belas, tidak ada kemajuan nyata dalam metode ekstraksi bahan tanaman. Teknik yang tersedia terbatas pada ekstraksi dan penguapan. Proses ini menggunakan alkohol sebagai pelarut. Teknik seperti itu sangat sukses di bidang fitokimia sehingga menggunakan metoda ini digunakan dalam isolasi molekul murni dalam keperluan industri dan

obat-obatan. Setelah abad kesembilan belas, kemajuan pesat dibuat dalam proses ekstraksi yang menyebabkan isolasi dan karakterisasi banyak kelompok metabolit tanaman terapeutik yang penting dalam mendapatkan bahan organik yang diinginkan.

Maserasi adalah teknik umum yang digunakan untuk ekstraksi tanaman. Satu-satunya tujuan dari prosedur ekstraksi dasar tersebut adalah untuk mendapatkan bagian yang diinginkan secara terapeutik. Teknik-teknik ini juga memainkan peran yang menentukan dalam evaluasi kualitatif dan kuantitatif ekstrak. Proses umum maserasi dalam skala kecil terdiri dari menempatkan bahan tanaman yang dihancurkan dengan tepat, atau bubuk agak kasar yang dibuat darinya, ke dalam bejana tertutup dan menambahkan pelarut terpilih yang disebut pencair. Sistem dibiarkan selama tujuh hari, dengan sesekali diaduk. Cairan kemudian disaring dan residu padat, yang disebut marc.

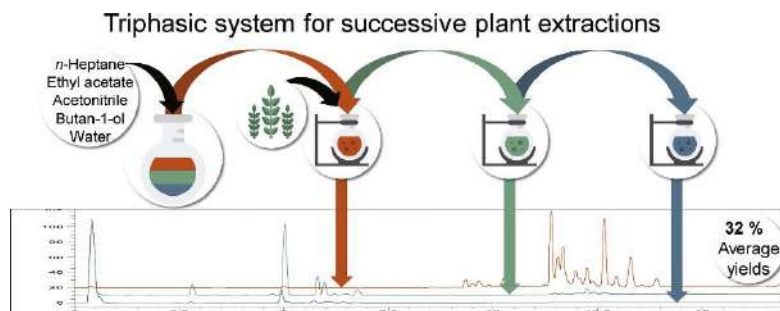
Merasi adalah proses perendaman sederhana sampel bubuk dalam pelarut yang sesuai dalam sistem tertutup, diikuti dengan agitasi konstan atau sporadis pada suhu kamar. Meskipun ini adalah teknik yang mudah, ia memiliki kekurangan memakan waktu dan membutuhkan pelarut dalam volume besar (Alara et al., 2021).

Proses maserasi adalah proses yang populer dan murah untuk persiapan ekstrak yang telah dikenal sejak lama. Selain itu, teknik ini digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri dan senyawa aktif dari bahan tanaman. Umumnya, prosedur maserasi terdiri dari beberapa langkah dalam ekstraksi. Seluruh atau bubuk kasar tanaman dihaluskan untuk meningkatkan luas permukaan untuk pencampuran yang tepat dari bahan bubuk dengan pelarut. Proses ini dilakukan dalam wadah tertutup di mana pelarut yang sesuai (menstruum) ditambahkan. **Menstrum** : Pelarut/campuran pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Selanjutnya, pelarut disaring diikuti dengan menekan residu padat dari proses ekstraksi yang dikenal sebagai marc untuk memulihkan jumlah optimum larutan yang tersumbat. Baik cairan yang ditekan keluar dan pelarut yang disaring dicampur bersama dan dipisahkan dari bahan yang tidak diinginkan dengan penyaringan. Agitasi yang sering selama maserasi memfasilitasi ekstraksi dengan dua proses: (1) mempromosikan difusi, (2) memisahkan larutan pekat dari permukaan sampel dengan menambahkan pelarut baru ke mens untuk meningkatkan hasil ekstrak (Srivastava et al., 2021).



Maceration

**Gambar 2.5.** Proses maserasi



**Gambar 2.6.** Sistem ekstrak tanaman (Gori et al., 2021)

Ekstraksi komponen aktif dari tanaman adalah langkah penting pertama dalam penelitian produk alami. Untuk ekstraksi yang tidak ditargetkan dengan tujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa sebanyak mungkin, teknik yang paling klasik, dan yang paling sederhana untuk dilakukan adalah ekstraksi Soxhlet. Namun, teknik ini tidak memungkinkan pengambilan semua senyawa dari sumber utama. Teknik kedua yang paling banyak digunakan adalah ekstraksi dengan maserasi berturut-turut menggunakan pelarut yang polaritasnya meningkat. Keuntungan penggunaan teknik ini adalah teknik ekstraksi ini memerlukan beberapa peningkatan terutama untuk alasan efisiensi, lingkungan dan kendala waktu. Menyajikan metode maserasi menggunakan campuran pelarut dengan tujuan meningkatkan hasil secara bersamaan, partisi senyawa antara fase yang berbeda dan mengurangi volume pelarut ekstraksi. (Gori et al., 2021).

## 2.5 Perkolasi

---

Saat ini, metode maserasi tidak umum digunakan karena ketersediaan metode lain yang lebih layak dan efektif. Ekstraksi dengan maserasi adalah proses sederhana perendaman sampel bubuk (sampel daun) dalam pelarut yang sesuai dalam sistem tertutup, diikuti dengan pengadukan konstan atau terus menerus secara periodik pada suhu kamar diterapkan untuk memisahkan bagian padat dari pelarut. Proses ini dibantu dengan penyaringan, dekantasi, atau klarifikasi (Cuji et al., 2016). Meskipun ini adalah teknik yang mudah, namun memiliki kekurangan karena memakan waktu dan membutuhkan pelarut dalam volume besar

Prosedur perkolasi sering digunakan dalam ekstraksi senyawa bioaktif alami dalam persiapan ekstrak cairan. Peralatan "perkolator" (bejana sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya) digunakan dalam prosedur perkolasi. Dalam prosedur ini, bahan tanaman obat direndam dengan pelarut tertentu (menstruum) dalam jumlah yang sesuai dan didiamkan selama 4 jam dalam wadah tertutup baik. Setelah itu ditambahkan menstruum secukupnya untuk menutupi seluruh obat/bahan, dan proses maserasi dilakukan dalam perkolator tertutup selama 24 jam. Ujung outlet perkolator dibuka untuk mengumpulkan seluruh cairan secara perlahan. Menstruum tambahan ditambahkan sampai ukuran perkolat sekitar tiga perempat dari volume produk jadi. Proses ini diulang dua hingga tiga kali untuk memulihkan senyawa bioaktif optimal dari bahan biologis.

Ini adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak aktif bahan dalam persiapan simplisia dan ekstrak cairan. Sebuah perkolator (bejana sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya) umumnya digunakan. Sampel padat dibasahi dengan jumlah yang tepat dari pelarut tertentu dan didiamkan selama kurang lebih 4 jam dalam wadah tertutup baik, setelah itu bagian atas perkolator ditutup. Pelarut tambahan ditambahkan untuk membentuk lapisan dangkal di atas bahan simplisia, dan campuran dibiarkan di maserasi dalam perkolator tertutup selama 24 jam. Outlet ceruk penapis kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut tambahan ditambahkan sesuai kebutuhan, sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang dibutuhkan dari produk, kemudian ditekan dan cairan yang diekspresikan ditambahkan ke perkolat. Pelarut yang cukup ditambahkan untuk menghasilkan volume yang dibutuhkan, di filtrasi diikuti dengan dekantasi. Gambar 5 memperlihatkan teknik perkolasi dalam ekstraksi material tanaman.

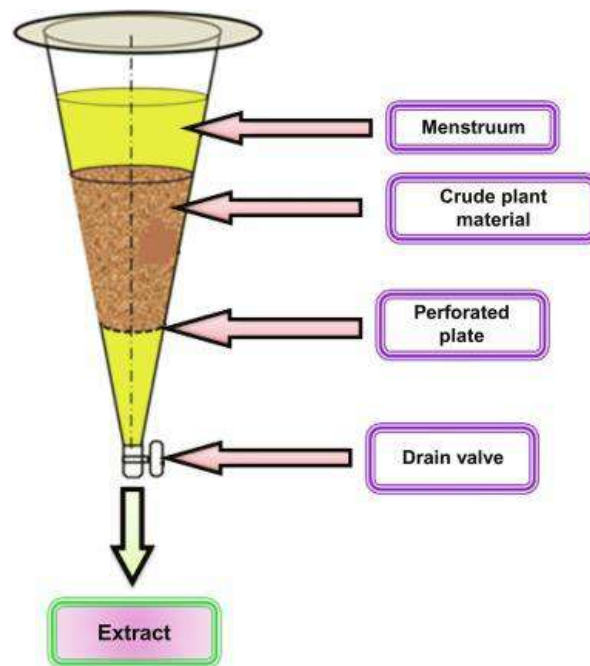
Kekuatan daya yang berperan dalam perkolasi adalah:

Gaya berat

1. Kekentalan
2. Daya larut
3. Tegangan permukaan,



4. Difusi
5. Osmosa
6. Adesi
7. Daya kapiler
8. Gaya gesekan (fiksi)

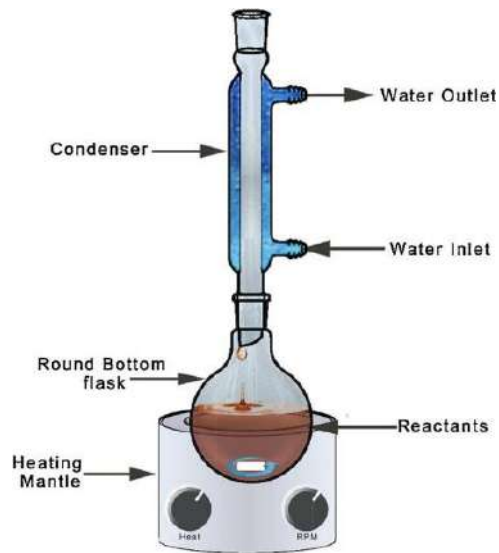


**Gambar 2.7.** Teknik Perkolasi (Alara et al., 2021)

Saat ini, metode maserasi tidak umum digunakan karena ketersediaan metode lain yang lebih layak dan efektif. Ekstraksi dengan maserasi adalah proses sederhana perendaman sampel bubuk (sampel daun) dalam pelarut yang sesuai dalam sistem tertutup, diikuti dengan pengadukan konstan atau terus menerus secara periodik pada suhu kamar diterapkan untuk memisahkan bagian padat dari pelarut. Proses ini dibantu dengan penyaringan, dekantasi, atau klarifikasi (Cuji et al., 2016). Meskipun ini adalah teknik yang mudah, namun memiliki kekurangan karena memakan waktu dan membutuhkan pelarut dalam volume besar. Gambar 5 di atas memperlihatkan teknik perkolasi dalam ekstraksi material tanaman.

## 2.6 Refluks

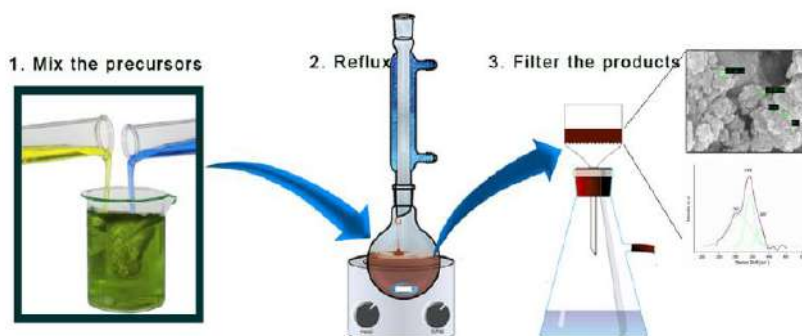
Pada teknik ekstraksi metoda refluks, berbeda dengan teknik yang telah dijelaskan sebelumnya. Teknik maserasi dan perkolasi tergolong teknik ekstraksi dengan metoda ekstraksi cara dingin. Metoda lain yang bisa digunakan adalah ekstraksi cara panas. Sesuai namanya, ekstraksi ini menggunakan aliran panas yang membantu proses penyaringan. Yang tergolong ekstraksi panas adalah metoda refluks, infusa dan soxhlet.



**Gambar 2.8.** Peralatan Refluk (Aditha et al., 2016)

Prinsip proses refluks adalah pelarut yang mudah menguap yang digunakan diuapkan pada suhu tinggi, tetapi didinginkan oleh kondensor, sehingga pelarut yang berbentuk uap mengembun di kondensor dan kembali ke wadah. Pelarut tetap dalam reaksi. Metode ini sering digunakan untuk sintesis senyawa anorganik.

Dalam perkembangan penelitian sintesis senyawa anorganik, seperti yang dilihat pada gambar 7, menggunakan metode refluks berbasis air yang berguna untuk sintesis hijau struktur material nano. Dalam penelitian ini digunakan parameter: urutan penambahan prekursor, waktu refluks dan laju pendinginan untuk mendapatkan fase dan morfologi struktur nano yang diinginkan. Pada penelitian ini, metoda dengan bantuan refluk dengan pelarut asir berbasis tanaman, di anggap sebagai metoda sederhana, ramah lingkungan dan rendah biaya.



**Gambar 2.9.** Tahapan sintesis nanomaterial dengan teknik refluks

Metode refluks berbasis air adalah metode sederhana dan berbiaya rendah yang memberikan produk yang diinginkan dengan kontrol yang tepat atas parameter reaksi. Metode ini telah digunakan untuk mensintesis berbagai bahan berstrukturnano seperti nanopartike, kawat nan, nanorods, nanourchins , struktur nano core-shell, struktur nano hierarkis . Dalam metode ini energi yang diperlukan untuk reaksi disuplai dengan memanaskan larutan reaksi selama periode waktu

yang lama. Melalui metode ini seseorang dapat mengontrol ukuran, morfologi dan kristalinitas bahan dengan memvariasikan parameter seperti waktu reaksi, konsentrasi prekursor dan jenis pelarut yang digunakan. Dalam metode ini, parameter: urutan penambahan prekursor, waktu refluks dan laju pendinginan harus dioptimalkan untuk mendapatkan fase dan morfologi struktur nano yang diinginkan.(Aditha et al., 2016).

## **2.7 Sokletasi**

Ekstraksi soxhlet adalah salah satu teknik yang paling populer untuk mengekstraksi analit dari bahan padat. Pretreatment dan persiapan sampel adalah langkah paling kritis dalam proses analisis. Langkah ini paling memakan waktu, terutama untuk sampel padat, karena biasanya memerlukan penanganan yang cukup besar. Salah satu bentuk ekstraksi padat-cair adalah ekstraksi Soxhlet. Teknik dasar ini dikembangkan pada tahun 1879 oleh ahli kimia dan fisiologi nutrisi Jerman Franz Ritter von Soxhlet. Perangkat yang sekarang dikenal sebagai ekstraktor Soxhlet pertama kali digunakan untuk mengukur kandungan lemak susu. Sejak itu, metode ekstraksi Soxhlet menjadi populer di bidang preparasi sampel. Teknik ekstraksi Soxhlet konvensional sekarang digunakan sebagai teknik standar untuk mengekstraksi analit dari sampel padat dibandingkan dengan efisiensi teknik pelindian lainnya (Zygler et al., 2012).

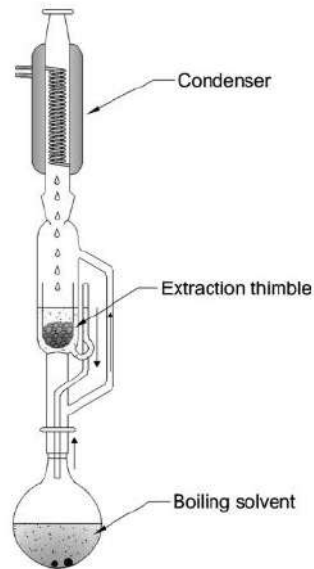
Karena prinsip Soxhletization adalah penyaringan berulang, hasil yang diperoleh sempurna dan jumlah pelarut yang digunakan relatif kecil. Pelarut organik dapat berulang kali mengadsorpsi senyawa organik yang terkandung dalam bahan alami. Soxhletification digunakan dengan pelarut organik tertentu. Pelarut secara berkala dikembalikan ke labu yang berisi senyawa yang akan diisolasi dengan pemanasan sehingga uap yang terbentuk setelah pendinginan terus menerus membasahi sampel.

Ekstraksi Soxhlet konvensional memiliki beberapa keuntungan yang sangat penting:

1. kesetimbangan transfer siap dipindahkan karena kontak berulang antara sampel dan bagian pelarut yang baru;
2. Pemanasan labu destilasi memberikan suhu yang relatif tinggi selama seluruh proses ekstraksi;
3. metodologinya sederhana – sangat sedikit pelatihan khusus yang diperlukan;
4. tidak diperlukan penyaringan setelah pencucian;
5. peralatannya sederhana dan murah;
6. ekstraksi simultan secara paralel dimungkinkan, throughput sampel dapat ditingkatkan;
7. ekstraksi analit dapat dilakukan dari massa sampel yang lebih besar dibandingkan dengan teknik lain untuk ekstraksi sampel padat
8. berbagai macam senyawa dapat diekstraksi dari matriks padat yang berbeda;

Namun, ekstraksi Soxhlet juga memiliki beberapa kelemahan signifikan:

1. waktu ekstraksi panjang (hingga 48 jam);
2. sejumlah besar pelarut digunakan, jadi ada masalah pembuangan limbah yang tepat;
3. analit dapat terurai secara termal selama proses ekstraksi yang lama;
4. langkah penguapan/konsentrasi diperlukan setelah ekstraksi;
5. selektivitas ekstraksi terbatas pada selektivitas pelarut.



**Gambar 2.10.** Peralatan soxhletasi (Zygler et al., 2012)

## 2.8 Faktor yang mempengaruhi Ekstraksi

Mengisolasi senyawa dari campuran produk alami penting karena kecenderungannya yang tinggi untuk berinteraksi dengan target biologis. Hampir setengah dari obat yang tersedia saat ini berasal dari produk alami dan perusahaan farmasi menganalisis ekstrak mentah dari, misalnya, bahan tanaman untuk aktivitas biologis. Setiap senyawa aktif dimurnikan baik dengan ekstraksi dan/atau kromatografi.

Metode ekstraksi saat ini bergantung pada sifat fisik senyawa seperti kelarutan, polaritas atau ukuran. Meskipun kemajuan dalam teknologi pemisahan, pemurnian masih bermasalah dan memakan waktu.

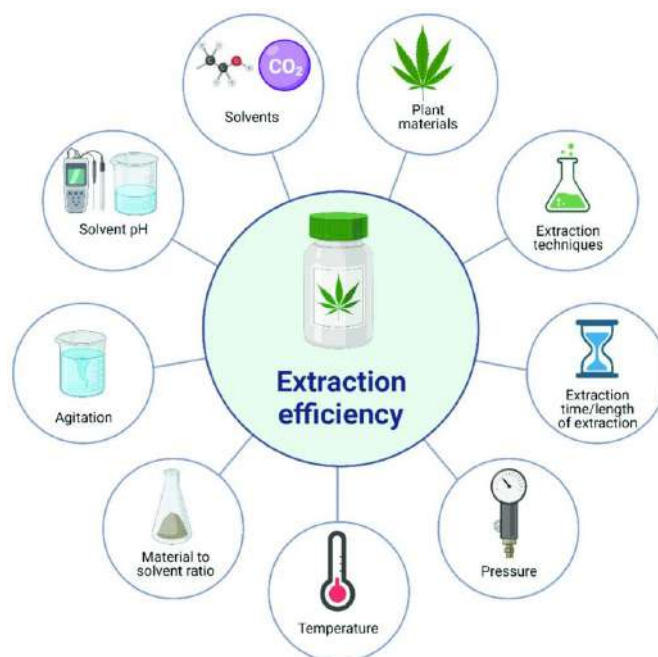
Dalam konsep pemisahan komponen kimia dari bahan alami, banyak faktor yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi fitokimia dari bahan tanaman. Faktor-faktor yang mempengaruhi utama yang mempengaruhi ekstraksi efisiensi fitokimia dari bahan tanaman ditunjukkan pada ilustrasi gambar dibawah ini (Al Ubeed et al., 2022).

Dari gambar diatas terlihat ada 9 faktor yang mempengaruhi ekstraksi yaitu

1. Jenis material tanaman. Faktor-faktor ini dapat membantu menetapkan kondisi optimal untuk ekstraksi yang hemat biaya, senyawa target dari matriks tanaman. Bahan tanaman memainkan peran penting dalam efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif mereka. Setiap bahan tanaman memiliki matriks tertentu, struktur, dan fitokimia; oleh karena itu, kemampuan ekstraksi fitokimia bervariasi tergantung dari jenis bahannya. Dengan bahan tanaman yang sama, bagian yang berbeda, seperti daun, batang, akar, dan bunga, memiliki kemampuan ekstrak yang berbeda dari senyawa target. Selain itu, bahan tanaman segar, kering, atau digiling dengan ukuran partikel kecil memiliki perbedaan efisiensi ekstraksi ketika ekstraksi dilakukan di bawah kondisi yang sama (Nugraheni et al., 2022)
2. Teknik ekstraksi yang dipilih untuk pemisahan komponen kimia
3. Waktu ekstraksi yang dibutuhkan. Sesuai dengan penelitian (Nugraheni et al., 2022), waktu perendaman sampel daun teh mempengaruhi kandungan fenolat. Dimana semakin lama waktu perendaman, konsentrasi fenolat sebagai bahan aktif semakin banyak
4. Tekanan. Semakin besar tekanan, komponen ekstraksi akan semakin banyak terekstrak. Semakin besar **tekanan**, akan membuat volume pereaksi semakin kecil dan menjadikan konsentrasi pereaksi menjadi semakin besar. Seperti diketahui, konsentrasi zat pereaksi yang semakin besar akan membuat **laju reaksi** berjalan semakin cepat
5. Temperatur. Saat suhu dinaikkan dalam proses ekstraksi, maka semakin cepat laju reaksi sehingga akibat peningkatan energi kinetik. Membuat partikel bergerak lebih cepat dan komponen aktif yang akan diekstrak akan semakin terkonsentrat.
6. Rasio material dengan solven atau pelarut. Hal ini berkaitan dengan kemampuan pelarut untuk melarutkan komponen yang diinginkan dalam sampel. Rasio antara sampel dengan pelarut akan mempengaruhi konsentrasi larutan. Dalam ekstraksi komponen aktif metabolit sekunder pada tanaman mangrove, dilakukan pemberian 2 variasi rasio jumlah ekstrak terhadap pelarut dengan komposisi 1 : 10 dan 1 : 5 berat per volum. Dari perubahan warna ekstrak yang terlihat dimana jumlah rasio 1 : 5 lebih pekat dan kental yang mengindikasikan jumlah komponen bioaktif seperti flavonoid, tannin dan lainnya lebih banyak. Hal ini juga akan mempengaruhi aktivitas biologis komponen ini seperti aktivitas antioksidannya. (Willian, Syukri, et al., 2021).
7. Agitasi. Kecepatan agitasi mempengaruhi proses ekstraksi. Kecepatan agitasi tertentu akan menghasilkan proses ekstraksi yang optimal untuk menghasilkan komponen tertentu dalam suatu sampel.
8. PH Pelarut. Penelitian yang dilakukan oleh (Aliwarga et al., 2020) dimana penggunaan pelarut yang berbeda dengan kondisi PH yang bervariasi pada ekstraksi asam 6-aminopenisilat (6-APA) merupakan bahan dasar pembuatan penisilin semi-sintetis. Variasi pH ekstraksi dilakukan antara rentang 2,0-5,0, sedangkan jenis pelarut yang digunakan adalah n-butil asetat,

iso butil asetat, metil isobutil keton, dan iso amil asetat. Rentang pH terbaik untuk pemisahan 6-APA adalah 2,0-3,0 dengan pelarut metil isobutil keton.

9. Pelarut. Penggunaan jenis pelarut dengan perbedaan polaritas dapat memberikan pengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektriknya dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan non polar. Konstanta dielektrik dinyatakan sebagai gaya tolak menolak antara dua partikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul. Semakin tinggi konstanta dielektriknya maka pelarut bersifat semakin polar. Konstanta dielektrik pada air, metanol, etanol dan aseton masing-masing mempunyai nilai yaitu 80, 33, 24 dan 21 (Verdiana et al., 2018)



**Gambar 2.11.** Faktor-faktor yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif tanaman.

## 2.9 Penerapan metoda ekstraksi dalam penelitian

Dalam perkembangan penerapan ekstraksi dalam penelitian/ riset, sering ditemukan pada ekstraksi kandungan metabolit yang terkandung dalam komponen bahan alam. Beberapa metabolit sekunder yang unggul dalam beberapa kandungan tanaman antara lain fenolik, flavonoid dan tanin yang memiliki kemampuan antibakteri, antioksidan bahkan efek antitumor dan antikanker.

Ekstraksi senyawa fenolik dari daun teh hijau (*Camellia Sinensis*) (Nugraheni et al., 2022). Komponen fenol ini memiliki sifat antioksidan. Maserasi dengan air sebagai pelarut dipilih sebagai metode ekstraksi. Proses ekstraksi dioptimalkan dengan memvariasikan suhu ekstraksi (80 °C, 90 °C, 100 °C) dan waktu perendaman (5 menit dan 10 menit). Ukuran sampel, suhu, dan waktu perendaman diketahui mempengaruhi kandungan senyawa fenolik yang diperoleh. Kandungan

fenol yang dihasilkan meningkat dengan menurunnya ukuran partikel dan meningkatnya waktu perendaman dan suhu ekstraksi.

Biosintesis nanopartikel logam yang ramah lingkungan menawarkan banyak aplikasi biomedis dalam memerangi berbagai penyakit patogen (Nasrollahzadeh et al., 2019). Sintesis perak dilakukan dengan proses reduksi biologis menggunakan tumbuhan sebagai reduktor. Mangrove *Rhizophora stylosa* (RS) tanaman pesisir pantai banyak dibudidayakan di sepanjang perairan pesisir kota Tanjung Pinang Kepulauan Riau dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Dalam penelitian ini, identifikasi dilakukan oleh Balai Biologi Kelautan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji, Kepulauan Riau, untuk menentukan jenis mangrove hospital (Willian, Syukri, et al., 2021).

Pengujian kandungan metabolit sekunder secara kualitatif pada daun RS dilakukan dengan menggunakan 4 jenis pelarut seperti Tabel 3.

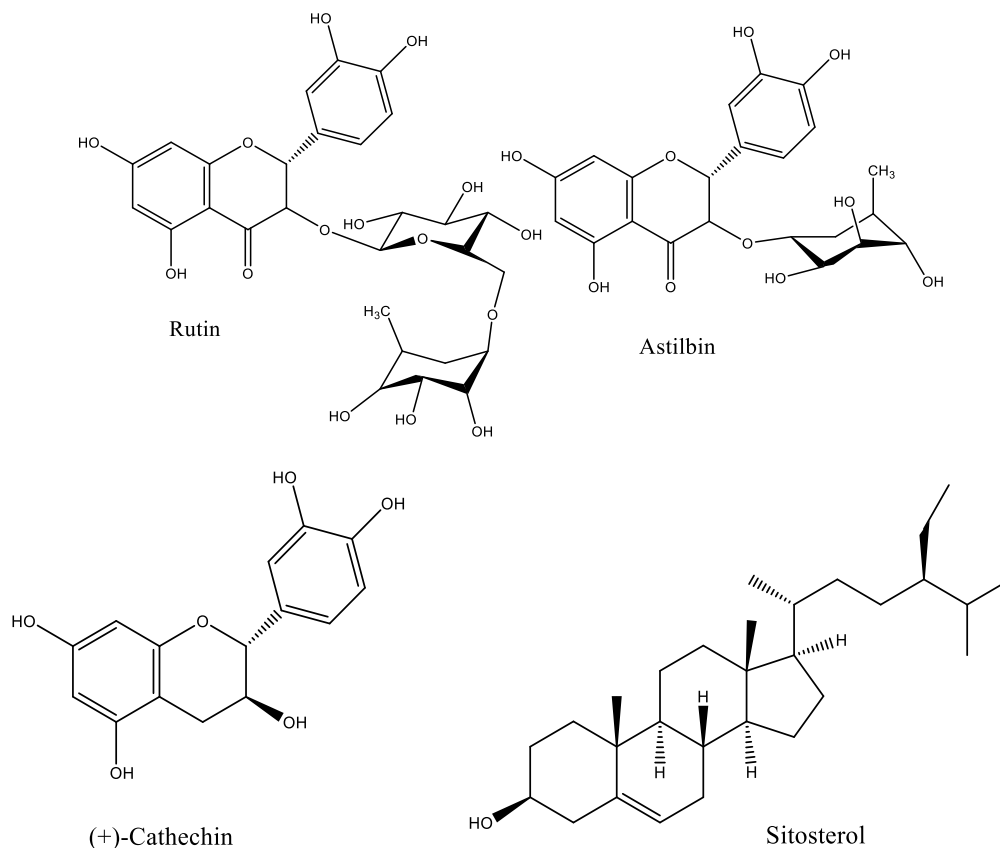
**Tabel 2.1.** Kandungan Metabolit Sekunder secara Kualitatif pada Daun RS

<b>Jenis metabolit sekunder</b>	<b>Aquabides</b>	<b>Metanol (polar)</b>	<b>Etil Asetat ( semi polar)</b>	<b>n-heksan (non Polar)</b>
Alkaloid	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan
Steroid/ triterpenoid	ditemukan	ditemukan	ditemukan	ditemukan
Flavonoid	ditemukan	ditemukan	ditemukan	Tidak ditemukan
Saponin	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan	Tidak ditemukan
Polifenol/ tanin	ditemukan	ditemukan	ditemukan	Tidak ditemukan

Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah pelarut ramah lingkungan yaitu aquabidest. Pada tabel diatas terlihat bahwa steroid, flavonoid dan tannin terdapat pada ekstrak daun yang berperan dalam reduktor AgNPs. (Willian et al., 2020)

Studi sebelumnya, komponen senyawa metabolis sekunder yang telah diidentifikasi pada daun *Rhizophora stylosa* antara lain teraxerol, teraxerone (triterpenoids), sitosterol (steroid), protocatechuic acid dan isovanillic acid ( phenolic compounds), rutin, astilbin, catechin (flavonoids) (Li et al., 2007; Yang XH1 et.al., 2008; Ebula, et.al., 2013) (Takara et al., 2008)

yang berperan dalam reduksi, stabilitas dan capping agent dalam pembentukan RS-AgNPs. Adapun beberapa struktur senyawa ditampilkan pada gambar 13 berikut :



**Gambar 2.12.** Struktur senyawa kimia pada daun RS

Daun mangrove RS kaya akan senyawa fenolik, senyawa bioaktif dengan efek antibakteri dan antioksidan (Willian et al., 2020). Selain flavonoid, daun mangrove juga kaya akan tanin (Li et al., 2008; Rahim et al., 2007; Thi et al., 2015). Tanin merupakan senyawa fenolik alami yang merupakan polifenol sederhana dengan gugus hidroksi fenolik bebas. Senyawa polifenol mudah larut dalam pelarut air. Tanaman mangrove yang memiliki kondisi lingkungan yang berbeda dan tumbuh pada lingkungan dengan kondisi cekaman yang berbeda menghasilkan komponen bioaktif yang berbeda pula. Karena kelimpahan komponen tersebut, mangrove dikenal sebagai tanaman obat etnik yang melawan berbagai penyakit (Gnanadesigan et al., 2011; Gouda et al., 2015).

## 2.10 Evaluasi

1. Jelaskanlah prinsip teknik ekstraksi dengan metoda maserasi
2. Apakah prinsip teknik perkolasi?
3. Teknik maserasi saat ini sudah banyak ditinggalkan, jelaskah kelemahan teknik maserasi
4. Berikan contoh teknik maserasi yang dapat anda jelaskan



5. Berikan juga teknik perkolasi dalam ekstraksi bahan tanaman dalam perkembangan penelitian saat ini. Gambarkan dengan jelas tahapannya.
6. Jelaskan prinsip metoda soxletasi
7. Apakah kelebihan dan keuntungan metoda soxhletasi
8. Apakah faktor faktor yang mempengaruhi ekstraksi
9. Lakukanlah literatur review tentang perkembangan metoda soxletasi dalam penelitian terkini.

# BAB 3

## METODA KROMATOGRAFI CAIR (CAIR-CAIR)

---

Bumi merupakan sebuah tempat atau rumah bagi jutaan spesies baik di ekosistem darat maupun di laut. Ekosistem sangat penting dalam menjaga kelestarian makhluk hidup dan menciptakan lingkungan yang produktif. Bumi memiliki lautan yang luas dibandingkan daratan, sehingga ekosistem laut merupakan ekosistem terbesar pada bumi ini.

Penelitian terhadap sumber daya laut dalam beberapa tahun ini mengalami peningkatan. Hal ini dilakukan untuk mempertimbangkan perlindungan lingkungan dan penggunaan lahan. Dengan demikian, habitat yang ada di laut memiliki potensi senyawa bioaktif pada tumbuh-tumbuhannya, seperti lamun dan alga. Untuk memisahkan senyawa bioaktif tersebut dapat menggunakan metode kromatografi.

Kromatografi memiliki beberapa jenis, seperti kromatografi kolom (*Column Chromatography*), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (*High Performance Liquid Chromatography*), kromatografi pertukaran ion (*Ion-Exchange Chromatography*), kromatografi gas (*Gas Chromatography*), dan kromatografi kertas (*Paper Chromatography*).

Kromatografi adalah berupa teknik komponen atau zat terlarut berupa campuran yang dipisahkan tergantung pada jumlah komperatif masing-masing telah terdispersi antara aliran fluida yang bergerak, yang disebut fase gerak dan fase diam. fase diam biasanya padat atau cair sedangkan fase gerak bisa berupa cairan atau gas.

Kromatografi cair (LC) merupakan sebuah pemisahan di mana fase geraknya adalah cairan, di mana ion atau molekul sampel dilarutkan. Ketika larutan sampel berinteraksi dengan fase diam, molekul yang terkandung dalam larutan sampel berinteraksi dengan fase diam. Namun, interaksinya akan berbeda karena perbedaan adsorpsi, pertukaran ion, distribusi, atau ukuran. Perbedaan ini memisahkan komponen satu sama lain dan membuat perbedaan dalam waktu yang dibutuhkan komponen untuk melintasi kolom. Perbedaan pertukaran ion, adsorpsi, distribusi, atau ukuran memungkinkan zat terlarut yang berbeda untuk berinteraksi dengan fase diam untuk berbagai derajat, menghasilkan pemisahan senyawa dan waktu yang dibutuhkan zat terlarut untuk melewati kolom. Diputuskan dengan mengambil keuntungan dari perbedaan-perbedaan ini.

Terdapat beberapa jenis kromatografi cair, di antaranya: Kromatografi Fase Terbalik, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Pengecualian Ukuran, serta Kromatografi Cair Superkritis.

### 1. Kromatografi fase terbalik

Kromatografi fase terbalik adalah alat analisis yang kuat yang menggabungkan hidrofobisitas fase diam dengan polaritas rendah dan secara kimia terikat pada padatan inert seperti silika gel. Metode ini umumnya digunakan untuk ekstraksi dan pemisahan senyawa non-volatil.

### 2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, HPLC (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, HPLC)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) memiliki prinsip yang mirip dengan kromatografi fase terbalik. Namun, metode ini bekerja pada tekanan tinggi dan kecepatan tinggi. Kolom yang digunakan dalam HPLC lebih pendek dan berdiameter lebih kecil, tetapi dapat menghasilkan sejumlah besar tingkat ekuilibrasi.

### 3. Kromatografi pengecualian ukuran

Kromatografi eksklusi ini, juga dikenal sebagai kromatografi permeasi gel atau filtrasi, umumnya untuk pemisahan dan pemurnian protein. Metode ini tidak mengalami penyerapan dan sangat cepat. Alat berupa gel berpori yang bisa memisahkan molekul besar dan kecil. Molekul besar tidak masuk ke pori-pori karena harus dielusikan terlebih dahulu.

Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dikembangkan selama tahun 1960-an sebagai cabang langsung kromatografi cair kolom klasik melalui perbaikan dalam teknologi kolom dan komponen instrumental (pompa, katup injeksi, dan detektor). Awalnya, HPLC adalah akronim untuk kromatografi cair tekanan tinggi, yang mencerminkan tekanan operasi tinggi yang dihasilkan oleh kolom awal. HPLC dapat diterapkan pada analisis setiap senyawa dengan kelarutan dalam cairan yang dapat digunakan sebagai fase gerak. Meskipun paling sering digunakan sebagai teknik analisis, HPLC juga dapat digunakan dalam mode persiapan. Ada banyak keunggulan HPLC dibandingkan tekanan rendah tradisional kromatografi cair kolom.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah suatu teknik pemisahan dengan aplikasi yang sangat baik dan lebih banyak dibandingkan dengan teknik kromatografi gas.

KCKT memiliki upaya dalam memisahkan molekul pada zat padat sesuai dengan afinitasnya, dimana zat padat tersebut merupakan fase diam (stasioner) sedangkan cairan yang dipisahkan ialah fase cair. Pada KCKT ini metode yang digunakan dengan baik pada analisis kualitatif dan analisis kuantitatif serta metode ini tidak destruktif (merusak).

Terdapat berbagai macam jenis pemisahan kromatografi seperti kromatografi kertas, kromatografi gas, kromatografi cair, dan kromatografi pertukaran ion. Dalam menganalisis kandungan dalam rumput laut dapat menggunakan teknik pemisahan kromatografi cair jenis kromatografi cair tekanan tinggi. Kromatografi cair terdiri atas beberapa jenis yaitu Kromatografi Cair Kinerja (KCKT), kromatografi fase terbalik dan kromatografi pertukaran ion.

Kromatografi cair sangat mengesankan bagi kehidupan di abad-19 sebagai teknik yang sangat diperlukan untuk pemisahan dan analisis zat organik. Kromatografi cair (LC) tidak diragukan lagi merupakan teknik yang paling penting dan umum digunakan untuk pemulihan dan pengisolir protein, peptida dan biomole lainnya. LC telah terbukti sangat selektif, tetapi juga sangat fleksibel dan sangat lembut. Kombinasi yang unik ini memungkinkan hasil yang baik dari aktivitas massa maupun biologi bersama dengan kemurnian yang sangat tinggi.

Namun, LC yang saat ini dipraktekkan memiliki sejumlah keterbatasan. Waktu siklus untuk kromatografi relatif panjang dibandingkan dengan metode pemisah lainnya. Hal ini cenderung membatasi penggunaan LC dalam waktu penggunaannya seperti pemantauan di internet. Selain itu, waktu yang diperlukan membatasi jumlah pekerjaan yang dilakukan dalam pengembangan dan pengoptimalkan metode. Karena kompleksitas kimia kromatografi juga banyak aplikasi saat ini. Akhirnya, melalui pemeriksaan yang ketat pada kolom kromatografi hingga saat ini membatasi penggunaan LC untuk penyelarasan selektif bahan dari larutan makanan yang diurai.

Salah satu metode kromatografi cair yaitu adsorpsi. Kromatografi adsorpsi adalah jenis LC di mana bahan kimia dipertahankan berdasarkan adsorpsi dan desorpsinya pada permukaan penyangga, yang juga bertindak sebagai fase diam. Metode ini juga kadang-kadang disebut sebagai kromatografi cair-padat. Retensi dalam metode ini didasarkan pada kompetisi analit dengan molekul fase gerak karena keduanya berikatan dengan permukaan penyangga. Derajat retensi bahan kimia dalam kromatografi adsorpsi akan tergantung pada kekuatan pengikatan bahan kimia ini ke penyangga, luas permukaan penyangga, jumlah fase gerak yang dipindahkan dari penyangga oleh bahan kimia, dan kekuatan pengikatan fase gerak ke penyangga. Interaksi elektrostatik, ikatan hidrogen, interaksi dipol-dipol, dan interaksi dispersif (yaitu, gaya van der Waals) semuanya dapat mempengaruhi retensi dalam jenis kromatografi ini.

### **Sejarah dan Definisi Kromatografi Cair**

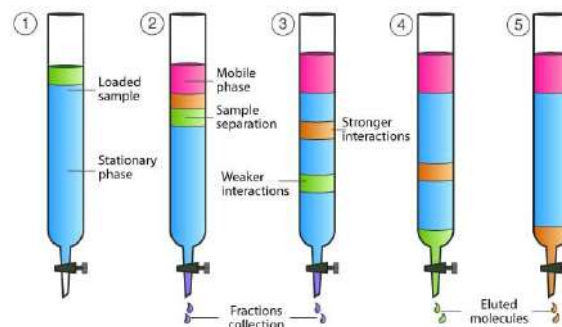
Kromatografi cair dimulai pada awal 1900-an, yang dikenal sebagai "kromatografi kolom klasik". Sebuah silinder kaca dikemas dengan bubuk halus seperti kapur, sampel diterapkan ke bagian atas kolom, dan pelarut dituangkan ke kolom. Saat pelarut mengalir ke bawah kolom dengan gravitasi, komponen sampel mulai bergerak melalui kolom pada kecepatan yang berbeda dan menjadi terpisah.

Dalam bentuk awalnya, sampel berwarna diselidiki sehingga pemisahan dalam kolom dapat diamati secara visual. Kemudian bagian pelarut yang meninggalkan kolom dikumpulkan, pelarutnya diuapkan, dan senyawa yang dipisahkan diperoleh kembali untuk analisis kuantitatif atau penggunaan lain. Pada masa itu diperlukan kolom baru untuk setiap sampel, dan seluruh proses dilakukan secara manual (tidak ada otomatisasi). Konsekuensi upaya yang diperlukan untuk

setiap pemisahan bisa jadi membosankan dan memakan waktu. Tetapi pada tahap pengembangan ini, kromatografi memberikan kemampuan yang unik dibandingkan dengan metode lain untuk analisis campuran kimia (Snyder, 2010).

Kromatografi cair merupakan salah satu teknik pemisahan kimia. Salah satu metode kromatografi yang digunakan dalam pemisahan dan analisis campuran kimia yaitu kromatografi cair kinerja tinggi atau dapat disingkat KCKT. Kromatografi cair kinerja tinggi memiliki beberapa ciri-ciri (Snyder, 2010):

1. Hampir semua sampel dapat menggunakan metode KCKT
2. Presisi pengujian yang baik ( $\pm 0,5\%$  atau lebih baik dalam banyak kasus)
3. peralatan yang digunakan mudah didapatkan karena dikomersilkan.
4. sebagian besar laboratorium yang menangani kebutuhan untuk menganalisis campuran kimia dilengkapi untuk penggunaan metode KCKT sehingga sering kali menjadi teknik pilihan pertama dalam melakukan sebuah analisis.



**Gambar 3.1.** Kromatografi Cair

#### **4.1 Pengertian Kromatografi Cair**

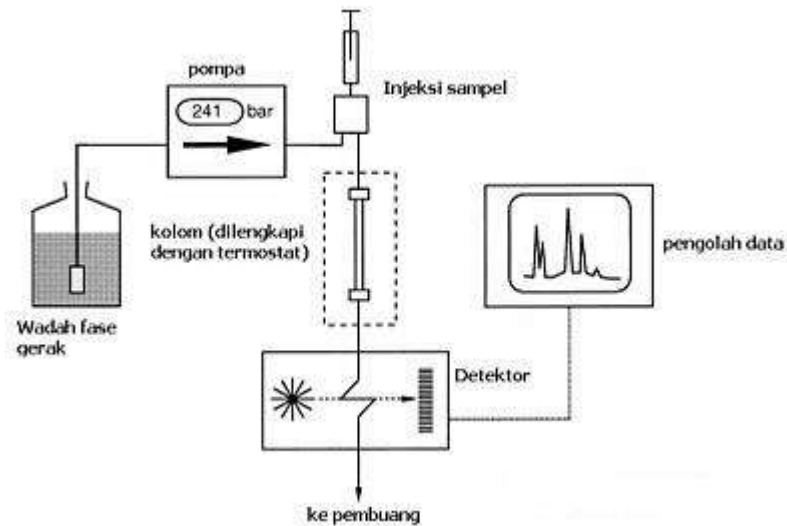
Kromatografi cair (LC) adalah salah satu teknik analisis yang paling umum digunakan untuk menentukan berbagai senyawa alami dan sintetis.

Kromatografi cair pada awalnya dilakukan pada kolom kaca bergaris tengah besar dalam kondisi atmosfer yang memerlukan waktu analisis yang panjang. Pada pengembangan kromatografi cair lebih banyak perhatian sebagai cara dalam melengkapi kromatografi gas.

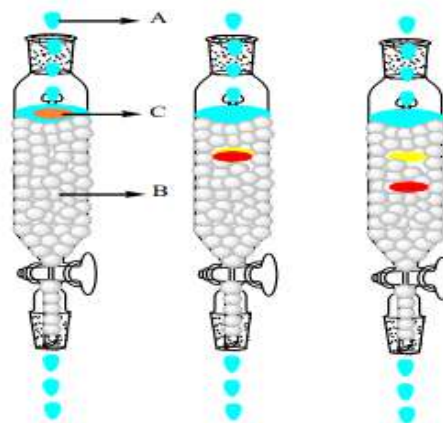
KCKT adalah suatu teknik pemisahan dengan aplikasi yang sangat baik dan lebih banyak dibandingkan dengan teknik kromatografi gas.



**Gambar 3.2.** Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)



**Gambar 3.3.** Diagram Alat HPLC



**Gambar 1.4.** Kromatografi Cair; (A) Fase Gerak (B) Fase Diam dan (C) Campuran Solute

KCKT memiliki upaya dalam memisahkan molekul pada zat padat sesuai dengan afinitasnya, dimana zat padat tersebut merupakan fase diam (stasioner) sedangkan cairan yang dipisahkan ialah fase cair. Pada KCKT ini merupakan metode yang digunakan dengan baik pada analisis kualitatif dan analisis kuantitatif serta metode ini tidak destruktif (merusak).

## **Kegunaan Kromatografi Cair**

Kegunaan dari kromatografi ialah untuk memisahkan suatu komponen campuran menjadi bagian partikel penyusun komponen atau pemurnian terhadap komponen tersebut dengan memperhatikan karakteristiknya, seperti bentuk, massa, ukuran, dan lain sebagainya. Kromatografi juga digunakan untuk sebuah analisis kualitas maupun kuantitas dalam industri dengan pemisahan dan analisis aditif serta dapat juga mendeteksi adanya kontaminasi atau racun pada makanan.

Menurut Rohman (2009) umumnya KCKT digunakan untuk:

- 1) Sebagai pemisahan senyawa organik, anorganik, dan senyawa biologis
- 2) Sebagai penganalisisan ketidakmurnian pada sampel
- 3) Untuk menentukan molekul ionic, netral, maupun zwitter ion
- 4) Sebagai isolasi dan pemurnian senyawa

KCKT sering digunakan untuk menetapkan kadar dalam cairan fisiologis pada senyawa tertentu, seperti asam amino hingga skala besar.

Keunggulan dari kromatografi cair kinerja tinggi adalah pembuatan turunan senyawa dalam meningkatkan kepekaan detector UV-Vis yang biasa digunakan. Metode KCKT ini memiliki keterbatasan seperti menganalisis senyawa, dan apabila sempurna jika digabungkan dengan alat yang mendukung. Namun, jika sampel yang sudah ada itu terlalu kompleks, sehingga resolusi yang baik itu susah didapatkan (Rohman, 2009).

Peralatan yang digunakan dalam metode KCKT merupakan alat biasa yang ada dilaboratorium yang digunakan untuk memisahkan enansiomer dengan cepat untuk menilai lebih lanjut aktivitas biologis yang berbeda yang mungkin dimiliki oleh dua enansiomer (Dascalu *et al.*, 2022).

Metode kromatografi memiliki pengaruh disemua bidang kehidupan manusia yang dapat memberikan kebermanfaatannya bagi manusia seperti:

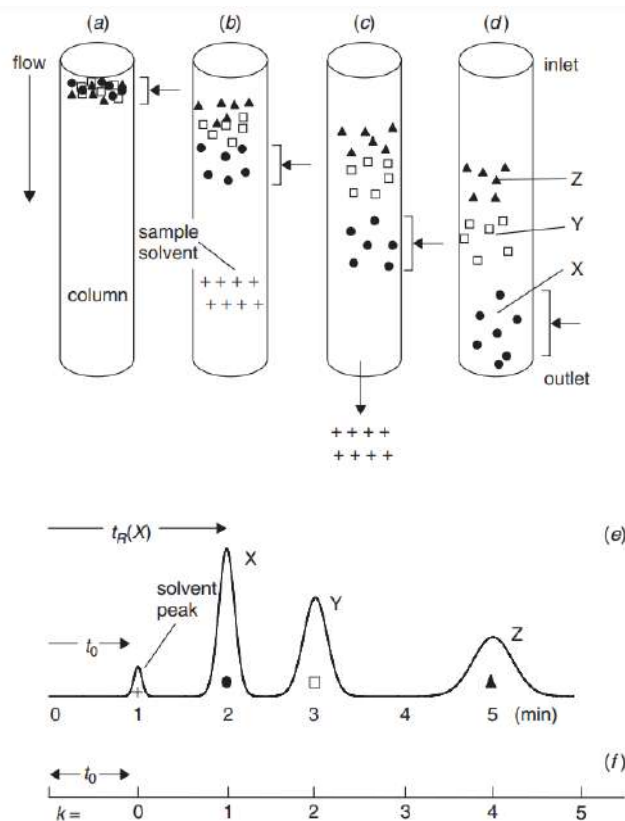
1. Sebagai teknologi utama dalam menganalisis dalam produksi bahan kimia bernilai tambah khususnya obat-obatan
2. Memantau kemungkinan perubahan lingkungan dan menciptakan alat yang efisien seperti mengontrol emisi polutan
3. Mampu menganalisis biofluida kompleks dari organisme makhluk hidup serta membantu memahami fungsi sistem diagnosa medis

## **Pemisahan dan Analisis Kromatografi Cair (Kualitatif dan Kuantitatif)**

Skema sistem KCKT dengan penekanan pada aliran jalur pelarut (panah padat) saat bergerak dari reservoir pelarut ke detektor (pelarut biasanya disebut sebagai fase gerak atau eluen). Setelah

injeksi sampel, pemisahan terjadi di dalam kolom, dan dipisahkan komponen sampel meninggalkan (dielusi atau dicuci) kolom dengan deteksi dalam banyak kasus baik dengan penyerapan ultraviolet (UV) atau spektrometri massa (MS).

Dasar sifat atau "mode" pemisahan ditentukan terutama oleh pilihan kolom. Untuk analisis sampel, mode KCKT yang dominan digunakan hari ini adalah kromatografi fase terbalik (RPC), yang menampilkan kolom nonpolar dalam kombinasi dengan campuran (polar) air ditambah pelarut organik sebagai mobile fase.



**Gambar 3.5.** Kromatogram

Perhatikan ilustrasi diatas, terdapat tiga senyawa terlarut pada sampel. Tanda positif (+) menunjukkan sampel pelarut. Sampel yang digunakan dibawa melalui fase gerak yang mengalir secara bertahap dan akhirnya sampel meninggalkan kolom untuk memberikan plot respon detektor terhadap waktu (rekam pemisahan). Saat pemisahan molekul X,Y, dan Z menunjukkan dua perilaku yaitu migrasi diferensial dan molekuler menyebar. Pada ilustrasi d, masing-masing zat terlarut terpisah satu sama lain di dalam kolom.

Sistem KCKT mampu menunjukkan data berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif berfungsi untuk menganalisis analit yang terdapat dalam campuran kimia tersebut. Tidak hanya itu, dari data tersebut juga dapat menentukan seberapa banyak dari setiap analit yang ada. Terdapat tiga faktor utama mempengaruhi kualitas hasil yaitu:

Pertama, perangkat keras KCKT harus beroperasi dengan cara yang dapat diprediksi dan dapat diulang, sehingga: untuk menghasilkan data yang cukup tepat dan akurat untuk aplikasi yang



ada. Kedua, sistem data dan perangkat lunak terkait harus mampu mengubah sinyal keluaran detektor KCKT menjadi informasi kualitatif dan kuantitatif yang berarti. Ketiga, hasil dari penerapan rutin suatu metode juga bergantung pada kualitas

## **4.2 Analisis Kualitatif**

---

Penggunaan KCKT sebagai alat analisis kualitatif atau kuantitatif mengharuskan sistem beroperasi dengan benar dan sistem data diatur untuk menentukan secara akurat waktu retensi puncak dan area puncak atau ketinggian. Pertimbangan harus diambil relative untuk persyaratan resolusi untuk puncak minat, termasuk pengaruh relative ukuran dan bentuk puncak. Terdapat tiga pendekatan umum untuk analisis kualitatif dengan KCKT:

### **3.1.1. waktu retensi**

Teknik yang paling umum untuk analisis kualitatif dengan KCKT adalah membandingkan waktu retensi  $t_R$  analit dengan standar referensi. Retensi analit adalah pengukuran utama yang digunakan untuk identifikasi kualitatif suatu senyawa. Retensi paling sering diukur sebagai waktu retensi,  $t_R$ , biasanya dalam menit desimal (mis., 6,54 menit) tetapi terkadang sebagai detik untuk pemisahan cepat (mis., 36,4 detik). Kadang-kadang retensi diukur dalam unit volume (misalnya, 4,35 mL). Retensi adalah laporan relatif terhadap waktu retensi dari puncak referensi (misalnya, rasio retensi kali dari dua puncak). Metode retensi pelaporan ini agak mengkompensasi untuk perubahan dalam waktu retensi absolut, terutama ketika suatu metode ditransfer dari satu sistem KCKT ke yang lain.(Snyder, 2010).

### **3.1.2. analisis kualitatif on-line**

- UV Detection

Detektor UV dioda-array dan lebih jarang detektor UV dengan panjang gelombang variabel dalam mode pemindaian aliran-berhenti, dapat menghasilkan spektrum UV puncak kromatografi saat melewati detektor sel aliran. Spektrum UV saja, baik yang diperoleh secara on-line ataupun off-line, jarang memiliki cukup konten informasi untuk menetapkan struktur analit. Spektrumnya mungkin cukup untuk membantu mengkonfirmasi keberadaan senyawa yang diduga ada dalam sampel, tetapi kesamaan spektral dari senyawa yang serupa secara struktural biasanya mencegah kesimpulan tentang struktur. Misalnya, spektrum UV mungkin cukup untuk mengkonfirmasi puncak mana yang merupakan bahan aktif dalam sampel disolusi obat, tetapi tidak memuaskan untuk membuktikan adanya penyalahgunaan obat dalam situasi forensik.

- LC-MS

Detektor spektral massa, terutama dalam mode MS-MS, dapat menyediakan sebuah informasi spektral yang cukup untuk mengkonfirmasi identitas puncak. Kuadropol LC-MS dalam mode MS-MS menghasilkan data tentang transisi ion prekursor-ke-produk yang dapat digunakan untuk

membantu menjelaskan struktur yang tidak diketahui, terutama ketika beberapa transisi yang berbeda dapat diperoleh dari analit yang sama. Perangkat ion LC-MS memiliki kemampuan untuk menghasilkan informasi struktural tambahan di MSn mode, di mana ion produk dapat secara berurutan terfragmentasi menjadi produk yang lebih kecil ion.

- LC-FTIR

LC-FTIR dapat menentukan puncak kromatografi dalam sebuah struktur kimia.

- LC-NMR

Detektor LC nuklir-magnetik-resonansi dalam aliran-melalui atau mode aliran berhenti dapat memberikan informasi struktural yang berharga tentang puncak Untuk <sup>1</sup>H NMR, pelarut terdeuterasi diperlukan untuk fase gerak, atau fase gerak harus diuapkan.

- Detektor Hamburan Cahaya Laser (LLSD)

LLSD dapat menetapkan perkiraan berat molekul untuk sebuah analit makromolekul, tanpa memerlukan standar referensi analit. Kemampuan ini cukup untuk membedakan antara monomer dan dimer bentuk analit. Namun, keakuratan LLSD untuk menentukan berat molekul analit jauh di bawah LC-MS.

### **3.1.3. Analisis off-line**

Jika fraksi dikumpulkan dari aliran limbah KCKT di semipreparatif atau mode preparative, jumlah analit murni yang cukup mungkin dikumpulkan untuk memungkinkan analisis off-line untuk penentuan struktural. Karena lebih besar jumlah sampel yang tersedia dan batasan kerangka waktu analisis on-line dihilangkan, analisis struktural off-line seringkali dapat memberikan struktur yang konklusif identitas puncak yang terperangkap. FTIR tradisional, NMR, dan analisis spektral massa dapat dipertunjukkan; dengan sampel yang cukup, uji kimia basah, kristalografi sinar-X, atau teknik analisis lainnya juga dapat diterapkan.

## **4.3 Analisis Kuantitatif**

---

Kromatografi cair menunjukkan aset terkuatnya dengan analisis kuantitatif. KCKT dapat digunakan untuk analisis jejak polutan di sungai air, obat-obatan dan metabolitnya dalam sistem biologis, atau pengotor dalam reagen. Hal ini juga berguna untuk menentukan keseragaman kandungan produk farmasi dengan: presisi dan akurasi tinggi.

### **3.1.4. Kalibrasi**

Kalibrasi adalah proses dimana respon detektor per satuan konsentrasi (atau massa) analit ditentukan. Beberapa detektor merespons konsentrasi analit (misalnya, UV), sedangkan yang lain menanggapi massa analit (misalnya, penguapan hamburan cahaya). Dua teknik kalibrasi yang paling umum adalah standarisasi eksternal dan standarisasi internal. Normalisasi area sering

digunakan untuk analisis kemurnian dan aplikasi lain di mana konsentrasi relatif adalah lebih penting daripada konsentrasi absolute atau di mana standar untuk kalibrasi tidak ada.

Analisis kuantitatif bergantung pada pemilihan yang tepat standar acuan dan kalibrasi yang tepat sehingga hasilnya berkualitas tinggi dan dapat bertahan dari pengawasan tinjauan oleh badan pengatur.

Kemiringan plot kalibrasi( $S'$ ) digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang tidak diketahui.

$$\frac{ng}{mL \text{ Analit}} = \text{area} \frac{\text{analit}}{S'}$$

#### 4.4 Aplikasi

**Tabel 3.1.** Penelitian menggunakan kromatografi cair

No.	Judul Artikel Jurnal	Hasil Penelitian
1.	Perbandingan Peningkatan fluiditas kromatografi cair yang dengan kromatografi cair untuk enansioseparasi turunan -lamda	setelah diuji di NPLC, POSC, RPLC dan mengenai hasil parsial diperoleh, OD-H berbasis selulosa terakhir digunakan dalam SFC dengan etanol 20% atau metanol yang mengandung fase gerak berbasis CO <sub>2</sub> , pada 4ml/menit. Pada kolom OD-H Kiralcel, di bawah subkritik kondisi kal, enantioselektivitas tertinggi dan waktu elusi terpendek dicapai dengan empat rasemat yang dipisahkan garis dasar (senyawa 1, 3, 5 dan 6) dari total delapan. (Dascalu <i>et al.</i> , 2022)
2.	Kandungan Vitamin D dari Tanaman Pangan Asli Australia dan Rumput Laut yang Dapat Dimakan di Australia	Berdasarkan tiga belas sampel yang diuji hanya terdapat tiga sampel yang mengandung metabolit vitamin D2 yaitu pada sampel daun lemon myrtle kering, daun kering dan buah berry Tasmania. Pada lemon myrtle kering mengandung 0,24 gram dari 100 gram, daun kering mengandung 0,67 gram dari 100 gram serta buah berry Tasmania mengandung

		0,05 gram dari 100 gram (Hughes <i>et al.</i> , 2018).
3.	Ekstraksi dan analisis asam amino bebas dan 5'-nukleotida, kuncinya kontributor rasa umami pada rumput laut	Hasil penelitian diperoleh, dimana ekstraksi optimal dari ekstraksi asam amino bebas dan nukleotida ditemukan setelah mengaduk rumput laut dalam Milli-Q selama 15 menit, diikuti dengan perlakuan langkah asam dan filtrasi 10 kDa. Dalam pembersihan asam amino, pemulihan tertinggi dicapai dengan menggunakan perlakuan DOWEX batch yang diikuti dengan penguapan pada 35°C di bawah selimut nitrogen. Metodologi ini berhasil diterapkan untuk menentukan nilai EUC dari tujuh spesies rumput laut asli Belanda. (Moerdijk-Poortvliet <i>et al.</i> , 2022)
4.	Studi metabolisme senyawa capsaicinoid dalam sampel urin dengan mikroekstraksi cair-cair dispersif dan kromatografi cair kinerja ultra-tinggi dengan spektrometri massa quadrupole time-of-flight	Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara matriks urin yang berbeda mengenai kalibrasi membuat matriks tersebut cocok metode yang akan diusulkan untuk tujuan kuantifikasi. Deteksi oleh HRMS menggunakan hibridisasi Q-TOF memungkinkan identifikasi tegas dari analit serta penyelidikan kemungkinan metabolit capsaicinoid yang muncul (Consolación Rodríguez-Palazón <i>et al.</i> , 2022)

5.	Kajian sifat sistem dalam kromatografi cair fase terbalik untuk komposisi fase gerak pelarut biner dan terner menggunakan model parameter solvasi	Peta sistem untuk konstanta sistem individual dari parameter solvasi .Model eter memberikan wawasan tentang kontribusi kohesi dan dispersi, asam dan basa ikatan hidrogen, tipe dipol, dan elektron tunggal interaksi pasangan dengan mekanisme retensi untuk pemisahan fase terbalik. Peran dominan air menghasilkan kohesi dan dispersi dan keasaman ikatan hidrogen menjadi sifat sistem yang paling penting untuk sistem pelarut biner pada rentang komposisi 20–70% (v/v) pelarut organik.(Poole and Atapattu, 2022)
----	---	---

#### 4.5 Instrumen Kromatografi Cair

Berikut ini adalah instrumen dari teknik kromatografi cair:

- 1) Tempat injeksi : Sampel (campuran) di sini tidak memiliki mobilitas sehingga memerlukan fase gerak untuk membawanya. Tempat injeksi adalah tempat sampel (campuran) dimasukkan ke dalam kolom. Fase gerak membawa campuran sampel ke depan melalui kolom.
- 2) Kolom kemas: Kolom biasanya terbuat dari baja tahan karat tetapi kaca tebal, polimer seperti poli-eter-etel-keton, kombinasi baja tahan karat dan kaca, atau campuran baja tahan karat dan polimer. Kolom analisis LC berkisar antara 3 hingga 25 cm dengan diameter 1 hingga 5 mm. Kolom biasanya lurus tidak seperti kolom Kromatografi Gas. Partikel yang digunakan untuk kolom pengepakan memiliki kisaran diameter karakteristik 5 hingga 10 m. Kolom kromatografi cair menunjukkan peningkatan efisiensi ketika diameter partikel yang digunakan untuk pengepakan di dalam kolom berkurang.
- 3) Detektor : Mendeteksi konstituen campuran yang elusi dari kolom kromatografi. Pada tahun 1942, Tiselius dan Claesson melaporkan detektor inline liquid chromatography (LC) efektif pertama yang merupakan detektor indeks bias. Detektor konduktivitas dijelaskan oleh Martin dan Randall pada tahun 1951. Detektor lain yang digunakan adalah detektor UV, detektor fluoresensi, spektrometer massa, dan detektor elektrokimia.

- 4) Waktu Retensi: Total waktu yang dibutuhkan oleh senyawa tertentu untuk melakukan perjalanan ke detektor, melalui kolom disebut waktu retensi. Waktu ini dimulai pada saat sampel disuntikkan sampai titik di mana tampilan menunjukkan ketinggian puncak maksimum untuk senyawa yang dijalankan. Senyawa yang berbeda menunjukkan waktu retensi yang beragam. Untuk senyawa tertentu, waktu retensi akan bervariasi tergantung pada faktor-faktor berikut: Tekanan diterapkan (ini mempengaruhi laju aliran pelarut), sifat fase diam (menyiratkan ukuran partikel serta bahan penyusun fase diam), komposisi pelarut, suhu kolom, waktu retensi sebagai metode untuk mengidentifikasi senyawa.

#### 4.6 Parameter Yang Digunakan Kromatografi Cair

---

Tujuan utama dari kromatografi adalah untuk memisahkan komponen sampel menjadi terpisah saat mereka bermigrasi melalui kolom. Puncak ini ditentukan oleh beberapa parameter termasuk waktu retensi, lebar, dan tinggi. Volume dari fase gerak yang diperlukan untuk mengelusi suatu senyawa dari kolom LC atau volume retensi, (VR). Waktu terkait yaitu waktu retensi ( $t_R$ ). Pergeseran dalam waktu retensi dan perubahan lebar puncak sangat mempengaruhi resolusi kromatografinya.

Perbedaan dimensi kolom, suhu, lajunya fase gerak, volume mati sistem, dan geometri detektor dapat menyebabkan perbedaan waktu retensi. Dengan mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk fase gerak atau zat terlarut tidak tertahan ( $t_m$  atau  $t_0$ ) melalui kolom ke detektor,  $t_R$  (volume). Waktu retensi yang disesuaikan mengecek perbedaan dalam volume itu mungkin dianggap sebagai waktu sampel teradsorpsi pada fase diam. Resolusi dua puncak dari satu sama lain berhubungan dengan faktor pemisahan, . Nilai tergantung pada suhu, stasioner fase, dan fase gerak yang digunakan. Resolusi ditentukan sebagai berikut:

$$R_s = \frac{2\Delta t}{w_2 + w_1}$$

di mana:

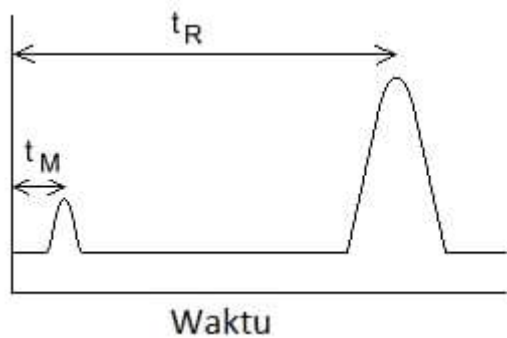
RS = resolusi

t = perbedaan antara waktu retensi puncak 1 dan 2

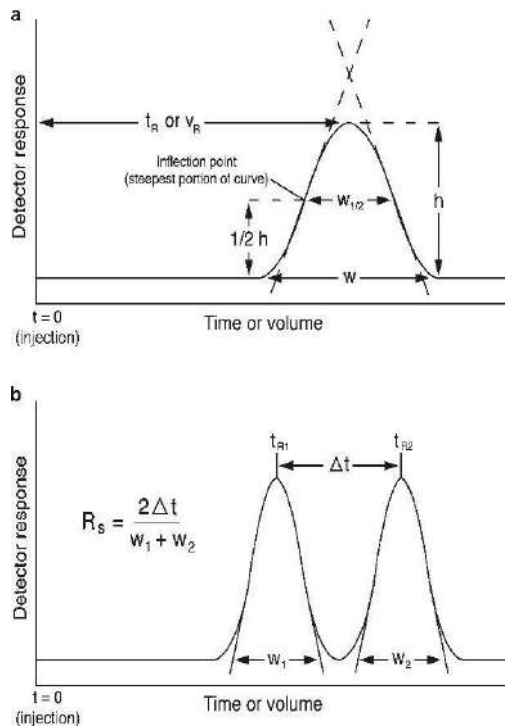
w<sub>2</sub> = lebar puncak 2

w<sub>1</sub> = lebar puncak 1

Retensi dan puncak atau lebar harus dinyatakan dalam satuan yang sama, yaitu waktu atau volume.



Gambar 2. 1 Retensi Waktu



Gambar 3.6. Respon Detektor

Resolusi kromatografi merupakan fungsi dari efisiensi kolom, selektivitas, dan faktor kapasitas. Secara matematis, hubungan ini dinyatakan sebagai berikut:

$$R_s = 1/4\sqrt{N} \left\{ \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right\} \left\{ \frac{k^1}{k^1 + 1} \right\}$$

di mana:

a = suku efisiensi kolom ( $1/4\sqrt{N}$ )

b = suku selektivitas kolom ( $\frac{\alpha-1}{\alpha}$ )

c = istilah kapasitas ( $\frac{k^1}{k^1+1}$ )

Efisiensi Kolom Jika dihadapkan dengan masalah peningkatan resolusi, seorang kromatografer harus memeriksa efisiensi kolom. Kolom yang efisien mencegah penyebaran dan memberikan puncak yang sempit. Efisiensi kolom bisa menjadi dihitung oleh :  $N(\frac{t_R}{\sigma})^2 = 16(\frac{t_R}{\omega})^2 = 5.5(\frac{t_R}{\omega_{1/2}})^2$

$N$  = jumlah pelat teoritis

$t_R$  = waktu retensi

$\sigma$  = simpangan baku untuk puncak Gaussian

$w$  = lebar puncak pada baseline ( $w = 4\sigma$ )

$w_{1/2}$  = lebar puncak pada setengah tinggi

Jumlah pelat teoritis sebanding dengan panjang kolom, karena berguna untuk memiliki ukuran efisiensi kolom yang tidak bergantung pada kolom panjangnya. Hal ini dapat diungkapkan sebagai berikut:

$$HETP = \frac{L}{N}$$

HETP = tinggi yang setara dengan pelat teoretis

$L$  = panjang kolom

$N$  = jumlah pelat teoritis

Yang disebut HETP lebih sederhana sebagai tinggi pelat ( $H$ ). Jika sebuah kolom terdiri dari segmen diskrit, HETP akan menjadi tinggi. Jika nilai tinggi pelat kecil menunjukkan efisiensi pemisahan yang baik. Sebaliknya, pengurangan jumlah pelat menghasilkan pemisahan yang buruk karena waktu kesetimbangan yang diperpanjang dalam kolom yang memburuk. Teori pelat digunakan untuk menyederhanakan konsep kesetimbangan. Pergerakan zat terlarut melalui kolom kromatografi memperhitungkan laju terbatas di mana zat terlarut dapat menyeimbangkan antara stasioner dan fase gerak. Jadi, bentuk tergantung pada kecepatan elusi dan dipengaruhi oleh difusi zat terlarut. Setiap mekanisme yang menyebabkan zat terlarut melebar akan meningkatkan HETP dan menurunkan efisiensi kolom. Berbagai faktor yang berkontribusi terhadap tinggi pelat adalah dinyatakan oleh persamaan Van Deemter:  $HETP = A + \frac{B}{u} + Cu$

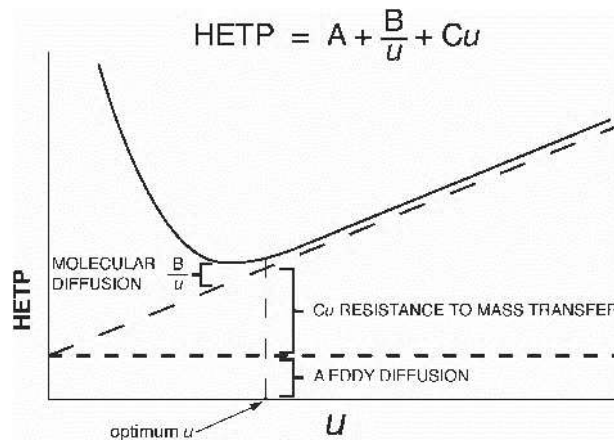
HETP = tinggi yang setara dengan pelat teoretis

$A, B, C$  = konstanta

$u$  = laju fase gerak

Seperti yang diungkapkan oleh persamaan Van Deemter, laju aliran fase gerak ( $u$ ) berkontribusi pada tinggi pelat dengan cara yang berlawanan dalam meningkatkan laju aliran. Titik ekuilibriasi ( $Au^{1/3}$  dan  $Cu$ ), tetapi menurun difusi longitudinal partikel terlarut ( $B/u$ ). Laju aliran di atas optimal dapat digunakan untuk mengurangi waktu analisis jika resolusi yang memadai masih diperoleh. Pada laju aliran yang sangat tinggi, akan ada sedikit waktu untuk mendekati keseimbangan, yang akan menyebabkan untuk pelebaran. Selain laju aliran, suhu dapat mempengaruhi difusi longitudinal dan perpindahan massa. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan gerakan zat terlarut antara fase gerak dan fase diam.





**Gambar 3.7.** Resolusi Kromatografi

Resolusi kromatografi tergantung pada selektivitas kolom serta efisiensi. Selektivitas kolom mengacu pada jarak, atau pemisahan relatif, antara dua puncak dan diberikan oleh

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_o}{t_{R1} - t_o} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{K_2}{K_1}$$

di mana:

$\alpha$  = faktor pemisahan

$t_o$  atau  $t_m$  = waktu retensi yang tidak tertahan

$t_{R1}$  dan  $t_{R2}$  = waktu retensi komponen 1 dan 2

$K_1$  dan  $K_2$  = koefisien distribusi masing-masing komponen

Waktu dapat diukur dengan kromatografi zat terlarut yang tidak tertahan di bawah kondisi pemisahan. Ketika parameter ini dinyatakan dalam satuan volume,  $V_o$  atau  $V_m$ , ini dikenal sebagai volume yang mati dari sistem. Selektivitas adalah fungsi dari fase diam dan/atau fase gerak. Misalnya, selektivitas dalam kromatografi penukar ion dipengaruhi oleh sifat dan jumlah gugus ion pada matriks tetapi juga dapat dimanipulasi melalui pH dan kekuatan ion fase gerak.

Sedangkan hubungan antara faktor kapasitas dan retensi kromatografi (yang dapat dinyatakan dalam satuan volume atau waktu) ditunjukkan di bawah ini:

$$k' = \frac{KV_s}{V_m} = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_o}{t_o}$$

$k'$  = faktor kapasitas

$K$  = koefisien distribusi zat terlarut

$V_s$  = volume fase diam dalam kolom

$V_m$  = volume fase gerak

$V_R$  = volume retensi zat terlarut

$t_R$  = waktu retensi zat terlarut

$t_o$  = waktu retensi komponen yang tidak tertahan (depan pelarut)

## 4.7 Evaluasi

---

1. Sebutkan Jenis-Jenis KCKT!
2. Urutkan Skala Polaritas dengan benar!
3. Apa yang dimaksud dengan metode kromatografi cair?
4. Apa saja parameter yang digunakan dalam kromatografi cair?
5. Sebutkan instrument yang digunakan dalam kromatografi cair
6. Sebutkan sampel apa saja yang digunakan berdasarkan artikel?
7. Berikanlah contoh lain dari pemanfaatan kromatografi cair!
8. Pada kromatografi cair, Reservoir fase gerak dan system treatment pelarut, pompa, injektor, kolom, dan detektor termasuk ke dalam bagian?
9. Jelaskan pemisahan kromatografi cair dari penelitian tersebut!
10. Keterbatasan yang dihasilkan dari adanya gugus silanol bebas pada permukaan fase diam, yang dapat menyebabkan bentuk dan tailing puncak non-Gaussian, waktu analisis yang lebih lama, dan efisiensi deteksi yang lebih rendah. Merupakan pengertian dari?
11. Tuliskan dan Jelaskan Instrumen pada kromatografi cair!
12. Jelaskan bagaimana aplikasi kromatografi cair pada sampel maritim?

# BAB 4

## METODA KROMATOGRAFI ADSORPSI

---

Kromatografi adsorpsi merupakan salah satu jenis teknik kromatografi tertua. Itu menggunakan fase gerak yang baik dalam bentuk cair atau gas. Fase gerak diadsorpsi ke permukaan fase padat diam. Metode ini diberi nama sesuai dengan mekanisme yang terlibat, dengan menggunakan peralatan pemisahan di LSC yang didasarkan pada konstituen sampel campuran untuk situs aktif pada fase diam padat seperti silika gel.

Prinsip adsorpsi adalah kromatografi Adsorpsi melibatkan pemisahan analitik campuran kimia berdasarkan interaksi adsorbat dengan adsorben. Campuran gas atau cairan akan terpisah ketika melewati adsorben yang mengadsorpsi senyawa yang berbeda pada tingkat yang berbeda. Adsorben merupakan suatu zat yang umumnya berpori di alam dengan luas permukaan yang tinggi untuk menyerap zat pada permukaannya dengan gaya antarmolekul. Beberapa adsorben yang umum digunakan adalah Silica gel H, silika gel G, silika gel N, silika gel S, silika gel terhidrasi, mikrokristalin selulosa, alumina, silika gel termodifikasi.

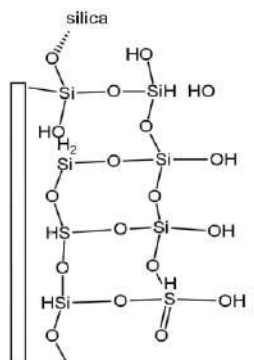
Dalam mode kromatografi ini, fase diam adalah padatan yang terbagi halus untuk memaksimalkan luas permukaan. Fase diam (adsorben) dipilih untuk memungkinkan interaksi diferensial dengan komponen-komponen sampel yang akan diselesaikan. Gaya antarmolekul dianggap terutama bertanggung jawab untuk adsorpsi kromatografi meliputi: Gaya Van der Waals, Gaya elektrostatik, Ikatan hidrogen, Interaksi hidrofobik. Situs yang tersedia untuk interaksi dengan zat tertentu bersifat heterogen. Mengikat situs dengan afinitas yang lebih besar, situs yang paling aktif cenderung diisi terlebih dahulu, sehingga zat terlarut tambahan tidak terikat kuat. Artinya adsorpsi adalah proses yang bergantung pada konsentrasi, dan koefisien adsorpsi tidak konstan (berlawanan dengan koefisien partisi). Kromatografi adsorpsi klasik menggunakan silika (sedikit asam), alumina (sedikit basa), arang (nonpolar), atau beberapa bahan lain sebagai fase diam. Baik silika dan alumina memiliki permukaan gugus hidroksil, dan interaksi tipe asam Lewis untuk menentukan sifat adsorpsinya. Elusi urutan senyawa dari stasioner adsorptif ini, fase yang sering dapat diprediksi berdasarkan polaritas relatifnya. Senyawa dengan paling banyak gugus fungsi polar dipertahankan paling kuat pada adsorben polar. Zat terlarut nonpolar dielusi terlebih dahulu. Satu model untuk menjelaskan mekanisme kromatografi cair-padat adalah zat terlarut dan molekul pelarut bersaing untuk aktif pada adsorben. Jadi, sebagai adsorpsi relatif dari fase gerak meningkat, adsorpsi zat terlarut harus dikurangi. Pelarut dapat dinilai dalam urutan kekuatan adsorpsi pada adsorben tertentu.

Skala kekuatan pelarut disebut deret eluotropik. Kromatografi adsorpsi memisahkan aromatik atau senyawa nonpolar alifatik, terutama didasarkan pada jenis dan jumlah gugus fungsi yang ada. Pigmen klorofil dan karotenoid yang labil, larut dalam lemak dari tanaman telah dipelajari secara ekstensif oleh kromatografi kolom adsorpsi.

## 5.1 Kegunaan Kromatografi Adsorpsi

Kromatografi digunakan untuk memisahkan protein, asam nukleat, atau molekul kecil dalam campuran kompleks. Kromatografi cair (LC) menggunakan fase diam padat untuk memisahkan molekul dalam fase gerak cair. Kromatografi cair dapat digunakan untuk aplikasi analitik atau preparatif.

Pada kromatografi adsorpsi biasa digunakan untuk pemisahan asam amino, isolasi antibiotik, identifikasi karbohidrat, memisahkan dan mengidentifikasi lemak dan asam lemak, serta mengisolasi dan menentukan eptida dan protein. Tetapi kromatografi adsorpsi paling umum digunakan di dalam laboratorium organik. KLT (kromatografi lapis tipis) dilakukan sebagai menganalisis sampel dan mengikuti reaksi yang sedang berlangsung, dan kromatografi kolom digunakan sebagai pemisahan dan pemurnian senyawa setelah reaksi. Fasa diam di laboratorium adalah silika ( $\text{SiO}_2$ ) dan alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), dalam bentuk bubuk halus dan murni.



**Gambar 4.1.** Bentuk Silika

Pelat TLC silika sebagai bubuk silika yang didukung pada pelat aluminium foil. (Piring besar dapat dipotong menjadi piring kecil dengan gunting, biasanya 3x6 cm). Silika yang diakhiri dengan hidroksil mengadsorpsi analit (zat terlarut) ke berbagai derajat, dan pelarut organik sebagai fase gerak. Untuk pelat TLC, pelarut meresap melalui padatan dengan aksi kapiler dari bagian bawah, sedangkan pada kolom silika, pelarut ditambahkan ke atas dan meresap di bawah gravitasi, atau di bawah tekanan.

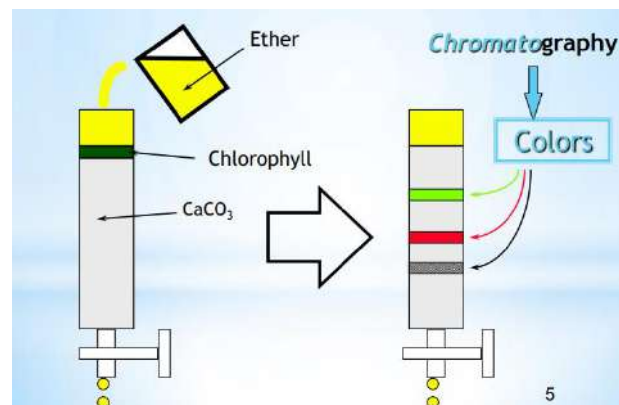
Secara umum, semakin polar pelarut, semakin efisien ia akan bersaing dengan zat terlarut untuk situs hidroksil pada silika, dan semakin cepat zat terlarut akan bergerak ke bawah kolom, atau ke atas pelat KLT. Seringkali campuran pelarut digunakan di laboratorium sebagai eluen,

termasuk heksana dan etil asetat (untuk senyawa dengan polaritas sedang), diklorometana dan metanol (untuk senyawa dengan polaritas tinggi).

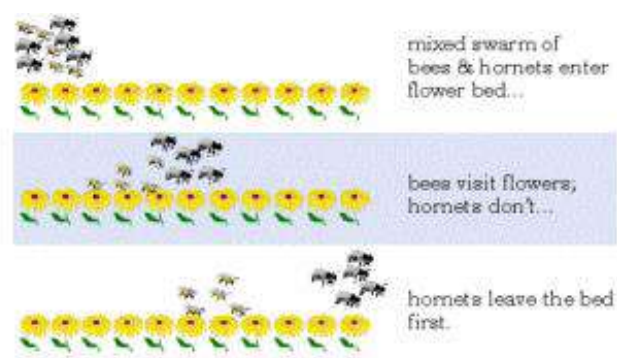
Kromatografi adsorpsi juga telah digunakan untuk analisis vitamin yang larut dalam lemak. Seringkali, ini digunakan sebagai batch prosedur untuk menghilangkan kotoran dari sampel sebelum analisis lainnya. Misalnya, kartrid ekstraksi fase padat sekali pakai yang mengandung silika telah digunakan untuk analisis makanan, seperti lipid dalam minyak kedelai, karotenoid dalam buah jeruk, dan vitamin E dalam biji-bijian.

## 5.2 Pemisahan dan Analisis Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan fisik di mana komponen yang akan dipisahkan didistribusikan antara dua fase, salah satunya diam sementara yang lain bergerak ke arah yang pasti. Setiap sistem kromatografi terdiri dari tiga komponen yaitu fase diam, fase seluler, dan campuran untuk dipisahkan.



**Gambar 4.2.** Pemisahan Kromatografi



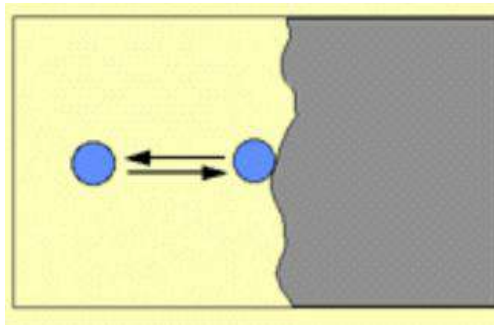
**Gambar 4.3.** Contoh Proses Pemisahan Kromatografi

Proses pemisahan terjadi karena komponen campuran memiliki afinitas yang berbeda untuk dua fase dan oleh karena itu bergerak melalui sistem dengan kecepatan yang berbeda. Komponen dengan afinitas tinggi untuk fase gerak bergerak cepat dalam sistem kromatografi, sedangkan komponen dengan afinitas tinggi untuk fase padat bergerak lambat.

### 5.3 Pemisahan Adsorpsi Melalui Kromatografi Kolom

---

Ini adalah metode tertua. Pemisahan terjadi karena adanya perbedaan daya serap komponen-komponen campuran. Fasa diam adalah padatan dengan sifat adsorptif. Silika gel dan alumina adalah fase diam yang paling umum dalam kromatografi adsorpsi.



**Gambar 4.4.** Kromatografi Kolom

Ketika kolom fase diam teknik yang digunakan disebut sebagai kromatografi kolom atau adsorpsi. Prinsip untuk melakukan pemisahan pada kromatografi adsorpsi ada beberapa langkah, yakni :

1. Teknik ini didasarkan pada prinsip adsorpsi diferensial di mana molekul yang berbeda dalam campuran memiliki afinitas yang berbeda dengan adsorben yang ada dalam fase diam.
2. Molekul-molekul yang memiliki afinitas lebih tinggi tetap teradsorpsi untuk waktu yang lebih lama sehingga menurunkan kecepatan gerakan melalui kolom. Namun, molekul dengan afinitas lebih rendah bergerak dengan gerakan yang lebih cepat, sehingga memungkinkan molekul yang akan dipisahkan melalui fraksi yang berbeda.
3. Fase diam dalam kromatografi kolom disebut juga adsorben adalah padatan (kebanyakan silika) dan fase gerak adalah cairan yang memungkinkan molekul bergerak melalui kolom. Jenis interaksi antara fase diam (adsorben) & zat terlarut bersifat reversibel.

Laju Pergerakan komponen dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$R = \frac{\text{Laju pergerakan komponen}}{\text{Laju Fase gerak}}$$

dapat disederhanakan sebagai :  $R = \frac{\text{jarak tempuh zat terlarut}}{\text{jarak tentu pelarut}}$

Ketika fase gerak cair, persamaan yang digunakan yaitu :

$$R = \frac{A_m}{A_m + \alpha A_s}$$

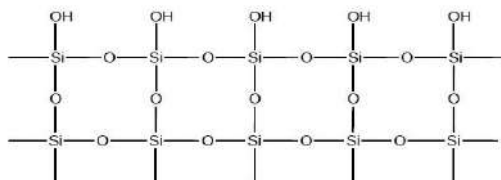
$A_m$  = Penampang rata rata fase gerak,  $A_s$  = penampang fase diam

Dimana koefisien partisi :  $\frac{\text{Konsentrasi fase diam}}{\text{konsentrasi fase gerak}}$

### 5.4 Pemisahan Adsorpsi Melalui Kromatografi Lapis Tipis

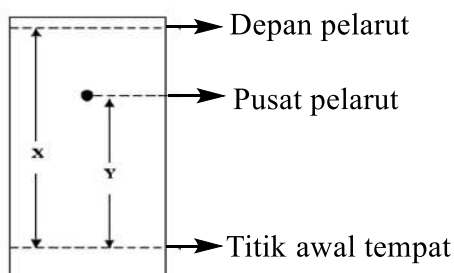
---

Kromatografi Lapis Tipis dapat diartikan sebagai metode pemisahan suatu campuran komponen menjadi individu dengan menggunakan adsorben halus yang dilapisi atau disebarkan. Pelarut fase gerak mengalir disebabkan oleh aksi kapiler (melawan gaya gravitasi). Komponen bergerak sesuai dengan afinitasnya menuju penyerap. Jadi komponennya dipisahkan pada pelat kromatografi lapis tipis berdasarkan afinitas komponen terhadap fase diam.



**Gambar 4.5.** Struktur Silika yang di Perpanjang

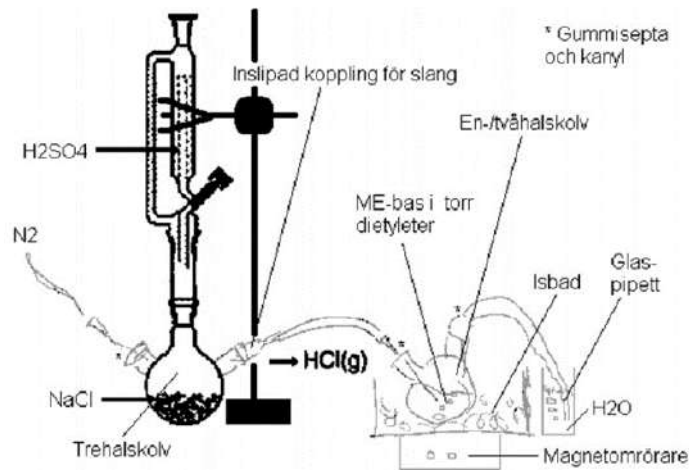
Silika ( $\text{SiO}_2$ ) adalah padatan dari atom silika tetrahedral yang dijembatani oleh atom oksigen bengkok. Pada permukaan partikel silika, padatan berakhir di silanol . yang sangat polar ( $\text{Si-O-H}$ ). Silika adalah fase diam karena tetap menempel pada pelat kaca dan tidak bergerak selama proses kromatografi.



**Gambar 4.6.** Plat TLC yang di Kembangkan

## 5.5 Analisis Kromatografi Adsorpsi

Asal mula pemilihan metode dan prosedur adalah jenis masalah adsorpsi yang dihadapi dengan ketersediaan dan harga zat terlarut serta bahan kimia. Jalur yang berbeda mungkin yang paling menguntungkan, tergantung pada kimia permukaan kolom (seperti fase terbalik, fase normal).



**Gambar 4.7.** Analisis Kromatografi Adsorpsi

Pada umumnya dalam studi adsorpsi bentuk yang tersedia secara komersial digunakan seperti gambar di atas. Ini berpotensi menyebabkan perbedaan pH yang besar antara larutan yang disuntikkan dan fase gerak, terutama bila konsentrasi analitnya tinggi, maka perbedaan pH ini akan menurun secara terus menerus ketika pita diencerkan oleh fase gerak saat bergerak melalui kolom, yang akan kemungkinan besar mengganggu mekanisme adsorpsi.

Analisis yang digunakan berupa :

- Kualitatif

Faktor retardasi adalah fraksi analit pada fase gerak di kromatografi. Nilai faktor retardasi ( $R_f$ ) dihitung untuk mengidentifikasi titik-titik dalam analisis kualitatif. Nilai  $R_f$  merupakan perbandingan jarak yang ditempuh oleh zat terlarut dengan jarak yang ditempuh oleh bagian depan pelarut.

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh zat terlarut}}{\text{jarak tentu pelarut}}$$

Nilai berkisar dari 0-1. Nilai idealnya 0,3 hingga 0,8. Stationer dan fase gerak nilai konstan untuk setiap senyawa dalam kombinasi tertentu. Ketika nilai  $R_f$  dari sampel dan senyawa referensi sama, maka senyawa identifikasi standar. Ketika nilai berbeda, senyawa tersebut mungkin berbeda dengan nilai standar. Nilai adalah perbandingan jarak yang ditempuh sampel dengan jarak yang ditempuh. Nilai  $R_x$  selalu mendekati 1. Nilai digunakan untuk mengetahui apakah senyawa tersebut termasuk dalam deret yang homolog. Jika memiliki deret homolog, nilai  $R_m$  adalah konstan. Nilai  $R_m$  ditentukan dengan menggunakan rumus :



$$Rm = \log \left( \frac{1}{f} - 1 \right)$$

- Kuantitatif
- Metode tidak langsung : Analisis kuantitatif dapat dilakukan setelah mengelusi titik individu dengan pelarut dan menyaring fase diam. Hal ini dapat terkonsentrasi dan tepat jumlah senyawa yang ditentukan dengan metode seperti spektrofotometri UV-Visible, metode fluoresensi, metode fotometrik nyala, metode analisis elektrokimia.
- Metode langsung: Dapat dilakukan setelah mengelusi titik individu dengan pelarut dan penyaringan keluar dari fase diam. Ini dapat berupa konsentrasi dan jumlah yang tepat dari senyawa ditentukan dengan berbagai metode seperti spektrofotometri UV-tampak, metode fotometrik api.

## 5.6 Aplikasi

**Tabel 4.1.** Aplikasi penggunaan kromatografi adsorpsi pada sampel maritim

No.	Judul Artikel	Hasil Penelitian
1.	Karakteristik Adsorpsi Resin Berpori Makro untuk Penghilangan Minyak dari Air Limbah Desulfurisasi di Kapal	Artikel menunjukkan bahwa resin berpori makro merupakan adsorben yang efektif untuk menghilangkan minyak dari air limbah desulfurisasi. Kapasitas adsorpsi resin makropori adalah 12,35 mg/g dan waktu adsorpsi kesetimbangan sekitar 3 jam. Hasil percobaan adsorpsi dinamis menunjukkan bahwa bertambahnya laju alir, waktu adsorpsi berkurang dan waktu penetrasi dipersingkat. Model isoterm menunjukkan bahwa model isoterm Langmuir sangat cocok dengan data kesetimbangan untuk sistem adsorpsi resin berpori makro. Kesimpulannya, resin berpori makro efektif untuk adsorpsi minyak karena karakteristik adsorpsi khusus. Hasil ini berguna untuk perancangan proses pengolahan penghilangan minyak pada air limbah desulfurisasi.

2.	Tinjauan Prosedur yang Melibatkan Pemisahan dan Fase Padat Ekstraksi untuk Penentuan Kadmium Menggunakan Teknik Spektrometri	Ion kadmium beracun dan karsinogenik dalam berbagai sampel metode prakonsentrasi digunakan dengan pemisahan teknik seperti ekstraksi cair cair, fase padat ekstraksi, deposisi. Namun, setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing dan karena itu harus dipilih sesuai dengan sampel jenisnya. Sebagian besar metode yang diusulkan dilakukan dengan menggunakan ekstraksi fase padat.
3.	Mikroekstraksi Karbaril Fase Padat Dispersi Berbasis Kerangka Organik dari Makanan dan Air Sebelum Deteksi dengan Kromatografi Cair Kinerja Ultra-Spektrometri Massa Tandem	Efisiensi efektif penerapan kerangka kerja logam organik untuk ekstraksi mikro, akan membuka ruang untuk penelitian dan penyelidikan lebih lanjut untuk ekstraksi mikro berbagai kategori polutan lingkungan lainnya. Penelitian akan fokus pada peningkatan struktur MOFs menuju aplikasi adsorpsi dan prakonsentrasi, yang mungkin mencakup fungsionalisasi dengan ligan yang sesuai dan variasi inti logam di seluruh struktur MOF. Variasi gugus fungsi dan sifat MOFs diharapkan dapat meningkatkan proses adsorpsi/desorpsi berbagai spesies untuk aplikasi ekstraksi mikro, baik untuk polutan lingkungan dan/atau analisis biomolekul.

### **Kegunaan Kromatografi Cair adsorpsi**

- Pemisahan asam amino, isolasi antibiotik, identifikasi karbohidrat
- Memisahkan dan mengidentifikasi lemak dan asam lemak
- Serta mengisolasi dan menentukan peptida dan protein.
- Kromatografi adsorpsi juga telah digunakan untuk analisis vitamin yang larut dalam lemak.
- Sebagai batch prosedur untuk menghilangkan kotoran dari sampel sebelum analisis lainnya. Misalnya, kartrid ekstraksi fase padat sekali pakai yang mengandung silika telah digunakan untuk analisis makanan, seperti lipid dalam minyak kedelai, karotenoid dalam buah jeruk, dan vitamin E dalam biji-bijian.

## **5.7 Evaluasi**

1. Bagaimanakah cara kerja kromatografi adsorpsi?

2. Apakah nilai faktor retardasi( $R_f$ ) bisa lebih besar dari 1?
3. Apa yang dimaksud Kromatografi Adsorpsi?
4. Bagaimana prinsip dasar dari Kromatografi Adsorpsi ?
5. Sebutkan analisa kualitatif dan kuantitatif dari Kromatografi Adsorpsi!
6. Proses pemisahan bagaimanakah yang terjadi pada Kromatografi Adsorpsi?
7. Apa saja kegunaan dari Kromatografi Adsorpsi ?

# BAB 5

## METODA KROMTOGRAFI PENUKAR ION

---

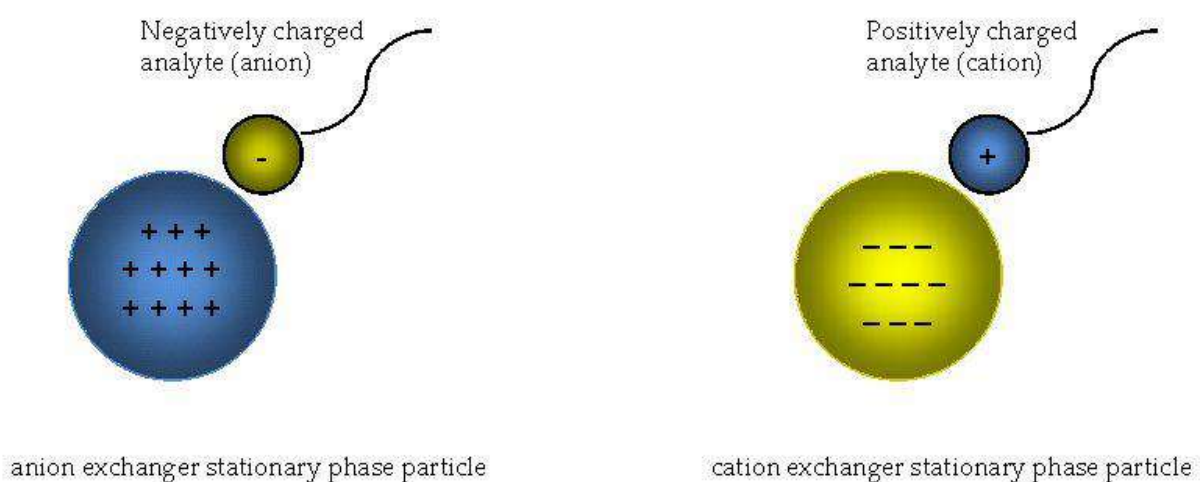
Kromatografi penukar ion (IEC) adalah bagian dari kromatografi ion yang merupakan teknik analisis penting untuk pemisahan dan penentuan senyawa ionik, bersama dengan kromatografi partisi/interaksi ion dan kromatografi eksklusi ion (Haddad, dkk., 1990). Pemisahan kromatografi ion didasarkan pada interaksi ionik (atau elektrostatik) antara analit ionik dan polar, ion yang ada dalam eluen dan gugus fungsi ionik yang terikat pada pendukung kromatografi. Dua mekanisme yang berbeda sebagai berikut; pertukaran ion karena pengikatan ion yang kompetitif (tarikan) dan eksklusi ion karena tolakan antara ion analit yang bermuatan sama dan ion yang terfiksasi pada pendukung kromatografi, berperan dalam pemisahan dalam kromatografi ion. Pertukaran ion telah menjadi bentuk utama dari kromatografi ion sampai saat ini (Bhattacharyya, dkk., 2012). Kromatografi ini merupakan salah satu teknik adsorpsi yang paling penting digunakan dalam pemisahan peptida, protein, asam nukleat dan biopolimer terkait yang bermuatan molekul dalam ukuran molekul yang berbeda dan sifat molekul (Okada, dkk., 1998; Levison, dkk., 2003; Ishihara, dkk., 2007; Bruch, dkk., 2009). Pemisahan didasarkan pada pembentukan ikatan ionik antara gugus bermuatan biomolekul dan gel/pendukung penukar ion yang membawa muatan berlawanan (Stanton, dkk., 2007). Biomolekul menampilkan derajat interaksi yang berbeda dengan media kromatografi bermuatan karena sifat muatannya yang bervariasi (Grodzki, dkk., 2010).

Laporan paling awal dari kromatografi penukar ion tanggal kembali ke tahun 1850, Thompson mempelajari adsorpsi ion amonium ke tanah (Wisel, dkk., 2003; Fritz, dkk., 2009; Cummins, dkk., 2011; Fritz, dkk., 2004). Spedding dan Powell menerbitkan serangkaian makalah yang menjelaskan metode praktis untuk pemisahan preparatif unsur tanah jarang dengan kromatografi penukar ion perpindahan pada tahun 1947. Mulai tahun 1950-an, Kraus dan Nelson melaporkan banyak metode analisis yang digunakan untuk ion logam berdasarkan pemisahan ion logamnya. klorida, fluorida, nitrat atau kompleks sulfat dengan kromatografi anion (Fritz, dkk., 2004). Untuk memisahkan protein metode kromatografi pertukaran ion dilaporkan oleh Peterson dan Sober pada tahun 1956. Dalam bentuk modern kromatografi pertukaran ion diperkenalkan oleh Small, Stevens dan Bauman pada tahun 1975 (Okada, dkk., 1998). Gjerde dkk. menerbitkan metode untuk kromatografi anion pada tahun 1979 dan ini diikuti oleh metode yang sama untuk kromatografi kation pada tahun 1980 (Fritz, dkk., 2004). Kromatografi penukar ion telah digunakan selama bertahun-tahun untuk memisahkan berbagai senyawa ionik; kation dan anion dan masih terus

digunakan. Popularitas kromatografi penukar ion telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir karena teknik ini memungkinkan analisis berbagai molekul dalam industri farmasi, bioteknologi, lingkungan, pertanian dan lainnya (Bhattacharyya, dkk., 2012).

### 5.1 Mekanisme Pertukaran Ion

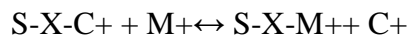
Kromatografi penukar ion yang dirancang khusus untuk pemisahan senyawa yang bermuatan berbeda atau yang dapat terionisasi terdiri dari fase gerak dan fase diam yang serupa dengan bentuk lain dari teknik kromatografi cair berbasis kolom (Wisel, dkk., 2003; Fritz, dkk., 2009; Cummins, dkk., 2011; Fritz, dkk., 2004). Fase mobil terdiri dari sistem buffer berair di mana campuran akan diselesaikan. Fase diam biasanya terbuat dari matriks organik inert yang diturunkan secara kimia dengan gugus fungsi yang dapat terionisasi (ion tetap) yang membawa ion bermuatan berlawanan yang dapat dipindahkan (Cummins, dkk., 2011). Ion-ion yang berada dalam keadaan setimbang antara fase gerak dan fase diam sehingga menimbulkan dua kemungkinan format, pertukaran anion dan kation disebut sebagai counter ion (Gambar 1) (Haddad, dkk., 1990; Healthcare, 2012). Matriks counter ion yang dapat ditukar dapat mencakup proton ( $H^+$ ), gugus hidroksida ( $OH^-$ ), ion mono atom bermuatan tunggal ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ), ion mono atom bermuatan ganda ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ), dan ion anorganik poliatomik ( $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$ ) serta basa organik ( $NR_2H^+$ ) dan asam ( $COO^-$ ) (Cummins, dkk., 2011). Kation dipisahkan pada kolom resin penukar kation dan anion pada kolom resin penukar anion (Fritz, dkk., 2009). Pemisahan berdasarkan pengikatan analit pada gugus bermuatan positif atau negatif yang terfiksasi pada fase diam dan berada dalam kesetimbangan dengan ion lawan bebas dalam fase gerak sesuai dengan perbedaan muatan permukaan bersihnya (Gambar 1) (Healthcare, 2012; Kastner, 2000).



**Gambar 5.1.** Jenis penukar ion

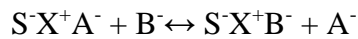
Kromatografi pertukaran ion melibatkan pemisahan analit ionik dan polar menggunakan pendukung kromatografi yang diturunkan dengan gugus fungsi ionik yang memiliki muatan berlawanan dengan ion analit. Ion analit dan ion eluen yang bermuatan sama bersaing untuk mengikat gugus fungsi ionik yang bermuatan berlawanan pada permukaan fase diam. Dengan

asumsi bahwa pertukaran ion (analit dan ion dalam fase gerak) adalah kation, kompetisi dapat dijelaskan dengan menggunakan persamaan berikut;



Pada proses ini kation  $M^+$  dari eluen diganti dengan kation analit  $C^+$  yang terikat pada anion  $X^-$  yang difiksasi pada permukaan penyangga kromatografi (S).

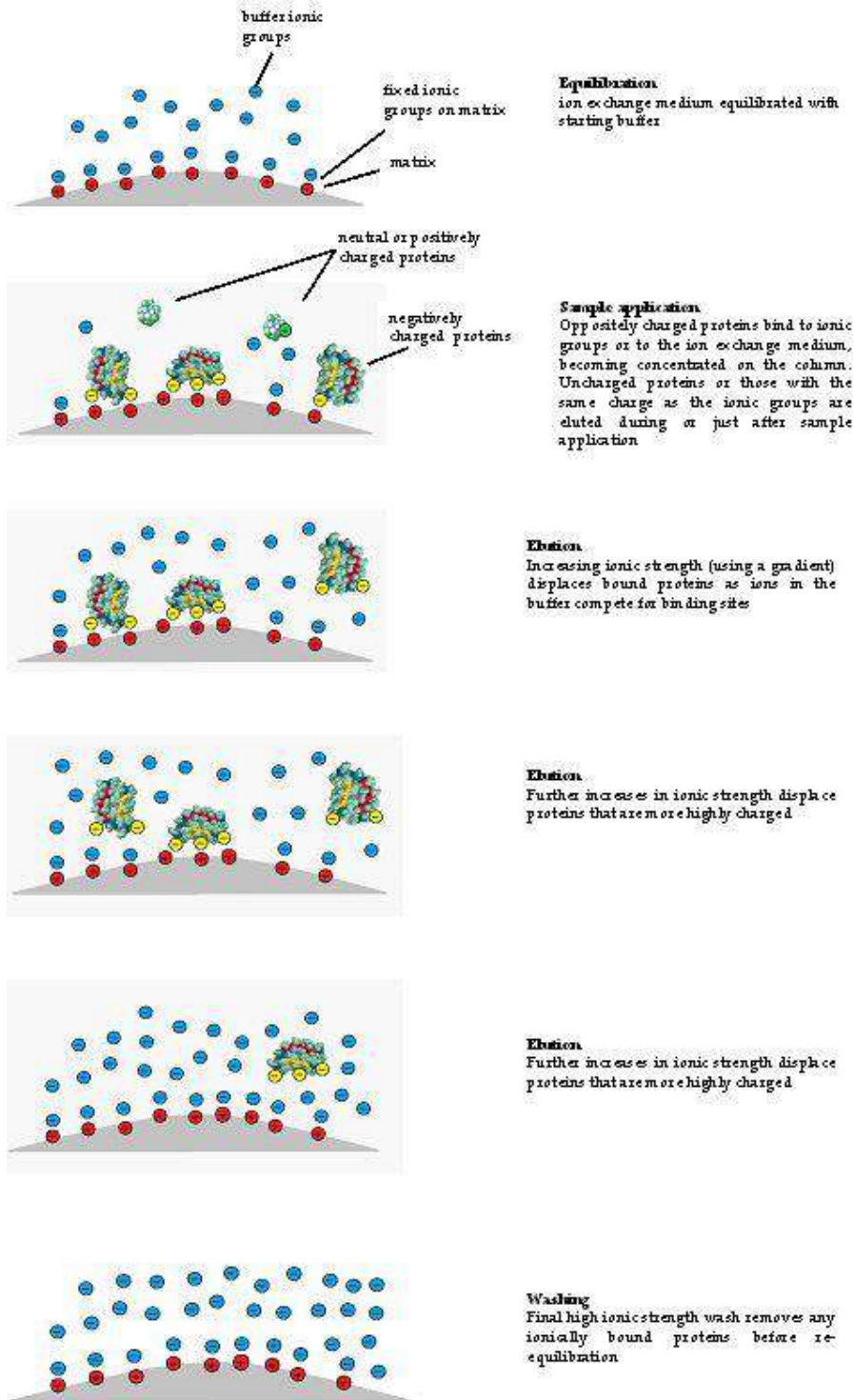
Dalam kromatografi penukar anion, ion yang bertukar adalah anion dan persamaannya direpresentasikan sebagai berikut;



Anion  $B^-$  dari eluen diganti dengan kation analit  $A^-$  yang terikat pada ion  $X^+$  yang bermuatan positif pada permukaan fase diam. Adsorpsi analit ke fase diam dan desorpsi oleh ion eluen berulang selama perjalanannya di kolom, mengakibatkan pemisahan karena pertukaran ion (Bhattacharyya, dkk., 2012).

Molekul sangat bervariasi dalam sifat muatannya dan akan menunjukkan derajat interaksi yang berbeda dengan dukungan kromatografi bermuatan sesuai dengan perbedaan muatan keseluruhan, kerapatan muatan, dan distribusi muatan permukaan. Muatan permukaan bersih semua molekul dengan gugus terionisasi sangat bergantung pada pH (Healthcare, 2012; Cummins, dkk., 2011). Oleh karena itu pH fase gerak harus dipilih sesuai dengan muatan bersih pada protein yang diinginkan dalam campuran yang berlawanan dengan gugus fungsi matriks, sehingga akan menggantikan ion lawan gugus fungsi dan mengikat matriks. Di sisi lain, protein yang bermuatan sebaliknya tidak akan dipertahankan. Analit protein teradsorpsi dapat dielusi dengan mengubah pH fase gerak yang mempengaruhi muatan bersih protein yang teradsorpsi, sehingga kapasitas pengikatan matriksnya. Selain itu, peningkatan konsentrasi spesies bermuatan serupa dalam fase gerak dapat mengakibatkan elusi protein terikat. Selama kromatografi pertukaran ion misalnya dalam pertukaran anion seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2, analit protein bermuatan negatif dapat digantikan secara kompetitif dengan penambahan ion bermuatan negatif. Afinitas interaksi antara ion garam dan gugus fungsi pada akhirnya akan melebihi interaksi yang terjadi antara muatan protein dan gugus fungsi, sehingga terjadi perpindahan dan elusi protein dengan

meningkatkan konsentrasi garam secara bertahap dalam fase gerak (Cummins, dkk., 2011).



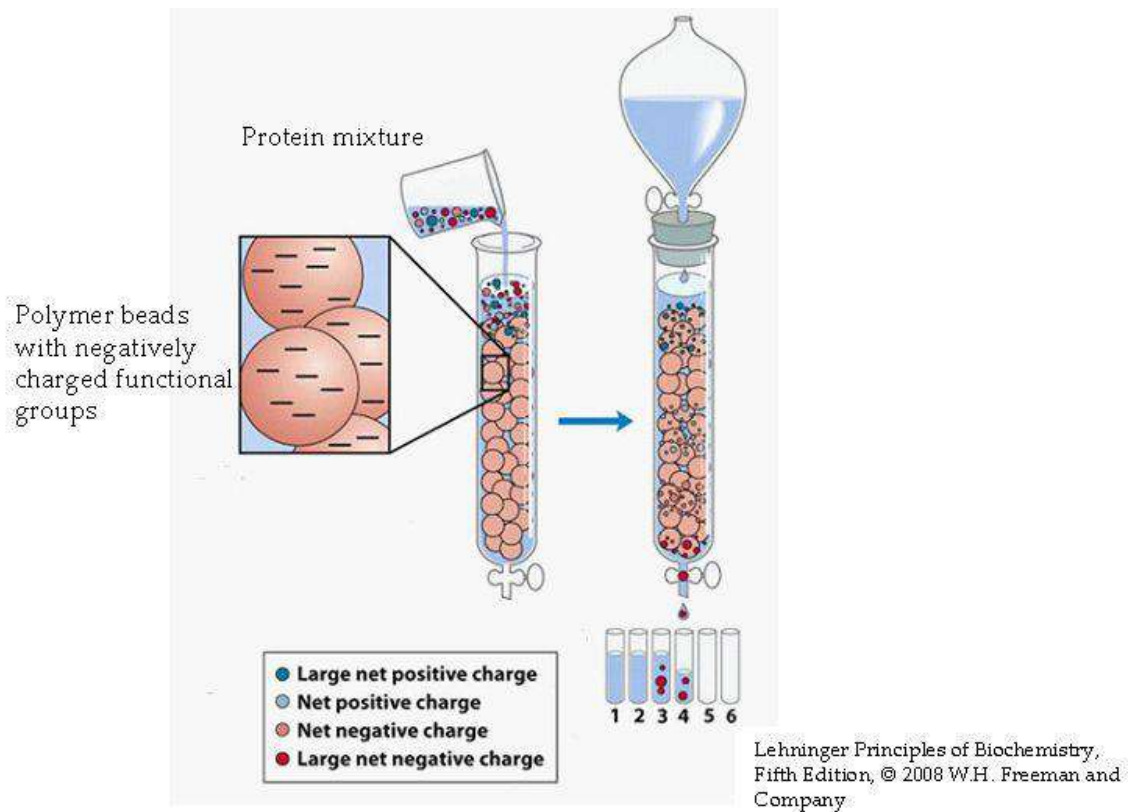
**Gambar 5.2.** Langkah-langkah pemisahan dalam kromatografi pertukaran anion (GE Healthcare, 2012).

Campuran kompleks anion atau kation biasanya dapat dipisahkan dan jumlah kuantitatif masing-masing ion diukur dalam waktu yang relatif singkat dengan kromatografi penukar ion (GE Healthcare, 2012). Dalam kromatografi pertukaran ion klasik pemisahan telah dilakukan dalam mode kolom terbuka. Kolom yang dikemas secara longgar dengan fase diam sebagai partikel kecil

yang terbuat dari kaca berdiameter 1-2 cm. Fase gerak atau eluen mengandung ion yang bersaing dan dilewatkan terus menerus ke dalam kolom dan meresap melaluinya di bawah gravitasi. Campuran sampel diterapkan ke bagian atas kolom dan dibiarkan masuk ke dalam lapisan bahan penukar ion. Aliran eluen kemudian dilanjutkan dan fraksi eluen dikumpulkan secara berkala dari outlet kolom. Kromatografi pertukaran ion kolom terbuka sangat lambat karena laju alir eluen yang rendah. Peningkatan laju aliran dapat mengakibatkan penurunan efisiensi pemisahan (Gambar 3). Dalam kromatografi penukar ion modern, penggunaan bahan penukar ion efisiensi tinggi yang dikombinasikan dengan deteksi aliran telah mengatasi tantangan ini. Pemisahan dilakukan pada kolom yang diisi dengan penukar ion sebagai partikel dengan ukuran yang seragam. Partikel bahan penukar ion umumnya jauh lebih kecil daripada yang digunakan untuk kromatografi pertukaran ion kolom terbuka klasik (Haddad, dkk., 1990). Namun resin penukar ion yang digunakan dalam kromatografi modern memiliki kapasitas yang lebih rendah dibandingkan resin yang lebih tua (Fritz, dkk., 2009). Eluen harus dipompa melalui kolom karena ukuran partikel fase diam yang kecil. Campuran sampel diterapkan ke dalam eluen oleh port injeksi. Akhirnya ion yang terpisah dideteksi dengan alat pendeteksi aliran (Haddad, dkk., 1990).

Teknik ini telah digunakan untuk analisis anion dan kation, termasuk ion logam, mono- dan oligosakarida, alditol dan senyawa polihidroksi lainnya, aminoglikosida (antibiotik), asam amino dan peptida, asam organik, amina, alkohol, fenol, tiol, nukleotida dan nukleosida dan molekul polar lainnya. Ini telah berhasil diterapkan untuk analisis bahan baku, bahan aktif curah, ion penghitung, pengotor, dan produk degradasi, eksipien, pengencer dan pada berbagai tahap proses produksi serta untuk analisis larutan pembersih peralatan produksi, aliran limbah, kompatibilitas wadah dan aplikasi lainnya (Bhattacharyya, dkk., 2012). Penerapan yang luas termasuk format aplikasi kinerja tinggi dan throughput tinggi, biaya rata-rata, kemampuan penyelesaian yang kuat, kapasitas penanganan sampel yang besar dan kemudahan peningkatan skala serta otomatisasi memungkinkan kromatografi pertukaran ion telah menjadi salah satu yang paling penting dan banyak digunakan dari semua teknik kromatografi cair (Cummins, dkk., 2011).





**Gambar 5.3.** Teknik kromatografi pertukaran ion

Meskipun penggunaan luas kromatografi penukar ion mekanisme pemisahan belum sepenuhnya dijelaskan. Upaya yang cukup besar telah dilakukan untuk menggambarkan proses pertukaran ion secara teoritis (Okada, dkk., 1998; Wisel, dkk., 2003). Salah satu kelemahan penting dari teknik ini adalah bahwa metode ini tidak memberikan informasi langsung tentang peristiwa yang terjadi pada permukaan fase diam, karena kesetimbangan pertukaran ion selalu ditentukan oleh keseimbangan antara interaksi zat terlarut dan interaksi eluen dengan zat aktif. situs resin (Okada, dkk., 1998). Pertukaran ion mirip dengan sorpsi, karena dalam kedua kasus tersebut, padatan mengambil sampel terlarut. Perbedaan paling penting di antara mereka adalah dalam sifat stoikiometrik pertukaran ion. Setiap ion yang dikeluarkan dari larutan diganti dengan jumlah ekuivalen dari ion lain dengan muatan yang sama, sedangkan zat terlarut biasanya diambil secara non-stoikiometri tanpa diganti dalam penyerapan (Zagorodni, 2007). Perpindahan stoikiometri berdasarkan hukum aksi massa dan menggambarkan retensi suatu ion terlarut sebagai proses pertukaran dengan ion lawan yang terikat pada permukaan (Wisel, dkk., 2003). Menurut model ini, retensi protein di bawah isokratik, kondisi linier terkait dengan konsentrasi ion lawan dan dapat diwakili oleh kesetimbangan sebagai berikut;

$$\log k = -(Z_p/Z_s) \log C_{m^+} + \log(\phi Q)$$

k adalah faktor retensi dan  $C_{m^+}$  adalah konsentrasi ion lawan dalam fase gerak.  $Z_p/Z_s (= Z)$  adalah rasio muatan karakteristik protein dengan nilai ion lawan dan menyajikan rata-rata statistik

interaksi elektrostatik protein dengan fase diam saat bermigrasi melalui kolom. Perilaku sistem kromatografi pertukaran ion dapat dijelaskan dengan model stoikiometri. Namun, mekanisme pemisahan pertukaran ion lebih kompleks dan pertimbangan stiochiometric tidak dapat diterapkan untuk mekanisme jangka panjang, seperti interaksi elektrostatik karena distribusi ion dalam larutan juga dipengaruhi oleh potensial elektrostatik (Okada, dkk., 1998; Wisel, dkk., 2003). Interaksi lain antara zat terlarut-zat terlarut, zat terlarut-pelarut dan pelarut-pelarut juga berkontribusi terhadap retensi dan selektivitas dalam pertukaran ion. Misalnya interaksi ion-dipol dan dispersi, harus dimasukkan sebagai mekanisme penting. Selain itu kontribusi entropis yang berasal dari pelarut, seperti air, struktur di sekitar tempat pertukaran ion juga harus dianggap penting (Okada, dkk., 1998). Selain itu mekanisme pemisahan utama adalah interaksi elektrostatik antara situs pertukaran ion dan counter ion dalam kromatografi pertukaran ion (Bruch, dkk. 2009).

Fitur penting yang membedakan resin penukar ion dari jenis gel lainnya adalah adanya gugus fungsi. Grup dilampirkan ke matriks. Proses pertukaran ion antara ion-ion dalam larutan berlangsung pada gugus fungsi tersebut. Pertukaran ion antara resin penukar ion dan larutan diatur oleh dua prinsip:

Prosesnya reversibel, hanya pengecualian langka yang diketahui

Reaksi pertukaran berlangsung atas dasar kesetaraan sesuai dengan prinsip netralitas elektro. Jumlah milimol ion yang diserap oleh pertukaran harus sesuai dengan jumlah milimol ion bermuatan sama yang telah dilepaskan dari pertukaran ion (Korkisch, dkk., 2000).

Kesetimbangan dibuat untuk setiap komponen sampel antara eluen dan fase diam ketika sampel dimasukkan ke dalam kromatografi penukar ion. Distribusi komponen (A) antara dua fase dinyatakan dengan koefisien distribusi, "DA".

$$DA = \frac{[A]_r}{[A]_m}$$

Nilai DA tergantung pada ukuran populasi molekul komponen A pada fase diam dan fase eluen (Haddad, dkk., 1990). Karena kesetimbangan bersifat dinamis, terjadi pertukaran molekul komponen A yang cepat dan terus-menerus antara dua fase. Fraksi waktu,  $f_m$ , yang dihabiskan rata-rata molekul A dalam fase gerak diberikan oleh:

$f_m$  = Jumlah A dalam fase gerak

$$f_m = \frac{[A]_m V_m}{[A]_m V_m + [A]_r w}$$

$$= \frac{1}{1 + DA (w / V_m)}$$

$$k' = DA (W / V_m)$$

$$f_m = \frac{1}{1 + k'}$$

w: Berat fase diam

$V_m$ : Volume fase gerak (Haddad, dkk., 1990)

Mekanisme pertukaran anion dan kation sangat mirip. Ketika analit masuk ke kolom penukar ion, pertama-tama mereka berikatan dengan situs ionik yang bermuatan berlawanan pada fase diam melalui gaya tarik Coulomb (Bhattacharyya, dkk., 2012). Sesuai dengan hukum Coulomb, interaksi antara ion dalam zat terlarut dan ligan yang bermuatan berlawanan pada matriks dalam kromatografi pertukaran ion disebabkan oleh gaya elektrostatik. Hukum Coulomb diberikan oleh persamaan sebagai berikut;

$$f = q_1q_2/\epsilon r^2$$

f: Gaya elektrostatik interaksi

$q_1q_2$ : Muatan pada ion

$\epsilon$ : Konstanta dielektrik medium

r : Jarak antar muatan

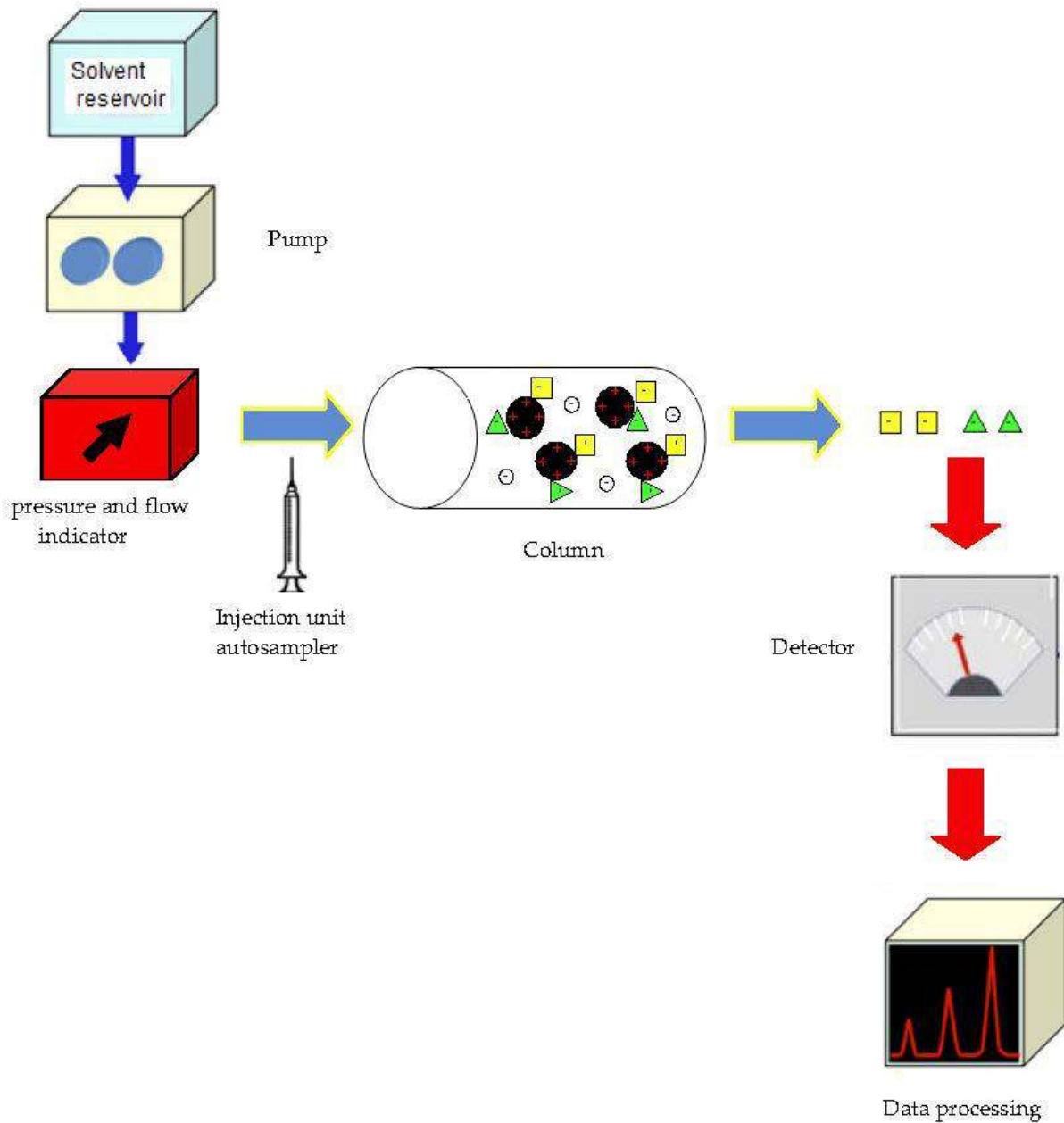
Jika muatan pada kedua ion sama (baik positif atau negatif) gaya tolak menolak, jika berbeda (satu positif dan negatif lainnya) gaya tarik-menarik. Ketika muatan ion spesies meningkat (Ion divalen harus berinteraksi lebih kuat daripada ion monovalen) dan ketika konstanta dielektrik menurun (Dua molekul bermuatan berlawanan meningkat lebih kuat dalam pelarut organik daripada dalam air), interaksi meningkat. Di sisi lain jarak antara muatan meningkatkan interaksi berkurang. Selain itu, interaksi lain, khususnya gaya van der Waals ikut serta dalam gaya Coulomb (Bhattacharyya, dkk., 2012; Westerlund, 2004).

Kromatografi pertukaran ion, yang juga dikenal sebagai kromatografi adsorpsi, adalah metode yang berguna dan populer karena;

- kapasitas tinggi,
- daya resolusi tinggi,
- kondisi pemisahan ringan,
- keserbagunaan dan penerapan yang luas,
- kecenderungan untuk memusatkan sampel
- biaya yang relatif rendah (Westerlund, 2004).

Komponen umum kromatografi penukar ion disajikan sebagai berikut (Gambar 4).

- Pompa bertekanan tinggi dengan indikator tekanan dan aliran, untuk mengalirkan eluen
- Injektor untuk memasukkan sampel ke dalam aliran eluen dan ke kolom
- Kolom, untuk memisahkan campuran sampel menjadi komponen individu
- Oven, opsional
- Detektor, untuk mengukur puncak analit sebagai eluen dari kolom
- Sistem data untuk mengumpulkan dan mengatur kromatogram dan data



**Gambar 5.4.** Sistem Kromatografi Pertukaran ion

Dalam kromatografi pertukaran ion, proses adsorpsi dan desorpsi ditentukan oleh sifat-sifat dari tiga entitas yang berinteraksi;

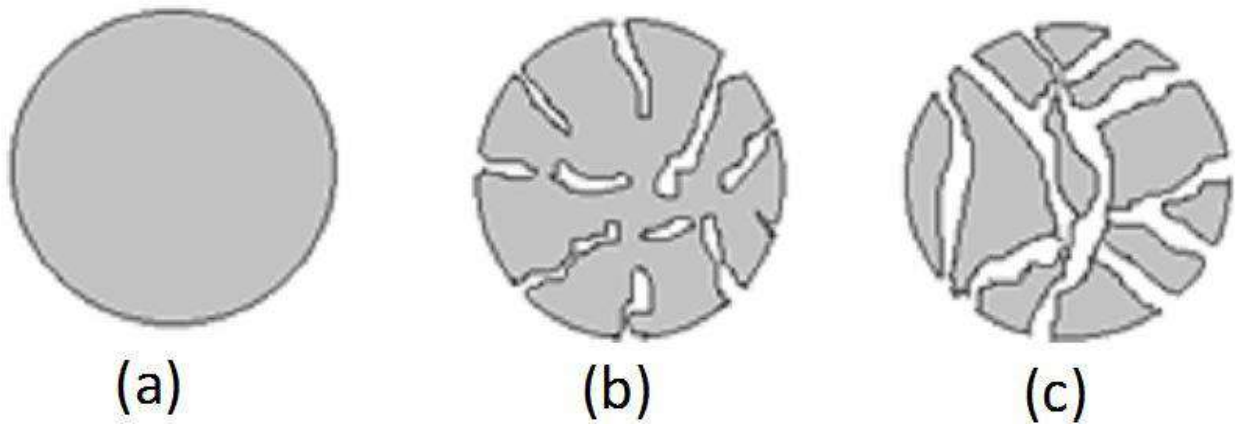
- Fase diam,
- Komponen fase gerak
- zat terlarut (Kastner, 2005).

## 5.2 Fase Diam

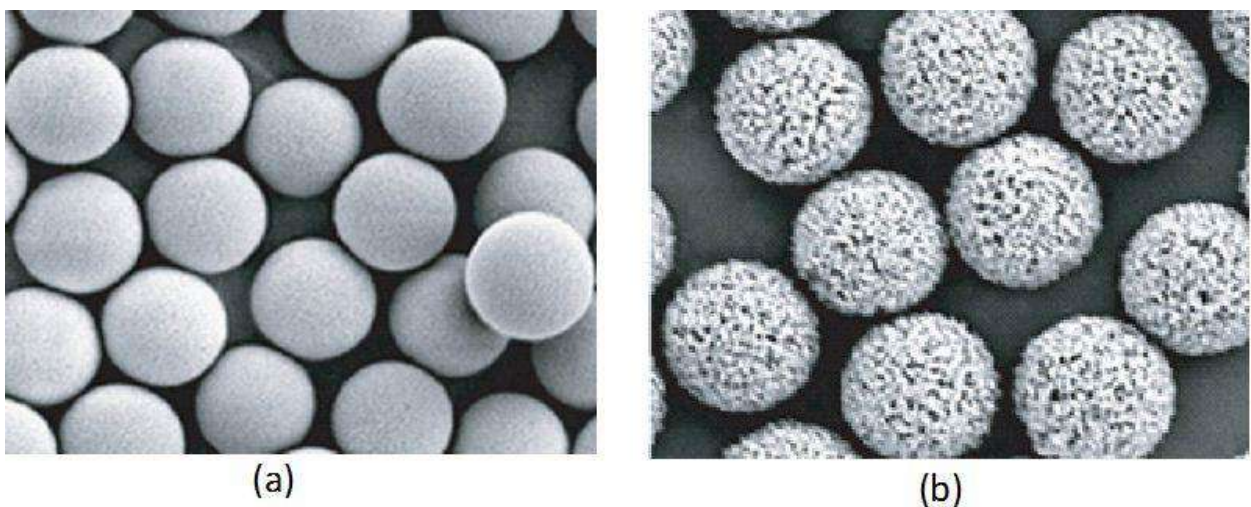
Pemilihan matriks pertukaran ion yang sesuai mungkin adalah yang paling penting dalam protokol pertukaran ion dan didasarkan pada berbagai faktor seperti; muatan/kekuatan penukar ion, laju aliran linier/volume sampel dan sifat sampel (Cummins, dkk., 2011). Dalam kromatografi pertukaran ion, banyak fase diam tersedia dari pabrikan yang berbeda, yang bervariasi secara signifikan dalam sejumlah sifat kimia dan fisik (Bruch, dkk., 2009; Kastner, dkk., 2005). Fase diam terdiri dari dua elemen struktural; kelompok bermuatan yang terlibat dalam proses pertukaran dan matriks di mana kelompok bermuatan ditetapkan (Kastner, dkk., 2005). Penukar ion dicirikan baik oleh sifat spesies ionik yang terdiri dari ion tetap dan oleh sifat matriks penukar ion yang tidak larut itu sendiri (Haddad, dkk., 1990).

Penukar ion disebut penukar kation jika mereka memiliki gugus fungsi bermuatan negatif dan memiliki kation yang dapat ditukar. Penukar anion membawa anion karena muatan positif dari kelompok tetap mereka (Zagorodni, 2007). Gugus bermuatan menentukan spesifisitas dan kekuatan ikatan protein dengan polaritas dan densitasnya sedangkan matriks menentukan stabilitas fisik dan kimia dan karakteristik aliran fase diam dan mungkin bertanggung jawab atas efek pengikatan yang tidak spesifik (Kastner, dkk., 2005).

Struktur umum (bentuk berserat atau manik-manik), ukuran dan variasi partikel, struktur dan dimensi pori, kimia permukaan (hidrofilik atau hidrofobik), karakteristik pembengkakan matriks merupakan faktor penting yang mempengaruhi resolusi kromatografi (Kastner, dkk., 2005; Cummins, dkk., 2011). Porositas manik-manik penukar ion dapat dikategorikan sebagai non-porous, microporous dan macroporous. (Gambar 5 dan Gambar 6) (Kastner, dkk., 2005). Porositas tinggi menawarkan area permukaan yang besar yang ditutupi oleh kelompok bermuatan dan dengan demikian memberikan kapasitas pengikatan yang tinggi (GE Healthcare, 2012). Namun bila dibandingkan dengan penukar ion berserat matriks manik-manik berdasarkan selulosa menunjukkan resolusi kromatografi yang lebih rendah (Kastner, dkk., 2005). Di sisi lain porositas tinggi merupakan keuntungan ketika memisahkan molekul besar (GE Healthcare, 2012) dan prefraksinasi (Kastner, dkk., 2005). Matriks non-porous lebih disukai untuk pemisahan resolusi tinggi ketika efek difusi harus dihindari (GE Healthcare, 2012). Mikropori meningkatkan kapasitas pengikatan tetapi menyebabkan pelebaran pita. Kelemahan lain dari butiran mikropori adalah protein dapat mengikat permukaan butiran dekat pori-pori, sehingga penetrasi protein ke dalam pori-pori dapat mencegah atau memperlambat. Masalah ini diatasi dengan menggunakan partikel berpori makro dengan diameter pori sekitar 600-800 nm yang diperkenalkan baru-baru ini. Jenis partikel ini berperilaku berbeda dibandingkan dengan bahan mikropori sehubungan dengan karakteristik aliran mikro, istilah baru kromatografi perfusi telah dibuat (Kastner, dkk., 2005).



**Gambar 5.5.** Presentasi skematis dari berbagai jenis matriks (a) manik-manik tidak berpori (b) manik-manik mikropori (c) manik-manik berpori makro



**Gambar 5.6.** (a) Manik-manik tidak berpori (b) Manik-manik berpori

Selanjutnya jenis matriks baru yang baru-baru ini diperkenalkan didasarkan pada prinsip yang sama sekali baru dan menunjukkan fitur kromatografi yang lebih baik bila dibandingkan dengan penukar ion konvensional. Matriks ini yang dikenal sebagai unggun kontinu tidak terdiri dari manik-manik atau serat penukar ion. Matriks disintesis dalam kolom dengan polimerisasi dan dibentuk dari dukungan berpori terus menerus yang terdiri dari rantai nodul (Gambar 7). Keuntungan dari matriks itu terutama karena aliran fase gerak yang lebih homogen dan jarak difusi yang pendek untuk protein. Hal ini dijelaskan oleh bentuk non-manik-manik dan struktur pori yang unik dari penyangga (Kastner, dkk., 2005).

Ukuran, distribusi ukuran dan porositas partikel matriks merupakan faktor utama yang mempengaruhi karakteristik aliran dan resolusi kromatografi. Partikel kecil meningkatkan resolusi kromatografi. Fase diam dengan ukuran partikel yang seragam lebih unggul dari material heterogen dalam hal resolusi dan laju aliran yang dapat dicapai. Ukuran pori manik penukar ion secara langsung mempengaruhi kapasitas pengikatan untuk protein tertentu yang bergantung pada berat molekul protein karena menentukan akses protein ke bagian dalam manik-manik. Pengikatan

protein besar dapat dibatasi pada permukaan butiran saja sehingga kapasitas pengikatan total penukar ion tidak dimanfaatkan. Diameter pori 30 nm optimal untuk protein hingga berat molekul sekitar 200.000 Da (Kastner, dkk., 2005).



**Gambar 5.7.** Matriks tempat tidur terus menerus

Untuk meminimalkan interaksi non-spesifik dengan komponen sampel, matriks inert harus digunakan. Stabilitas fisik yang tinggi memberikan bahwa volume media yang dikemas tetap konstan meskipun terjadi perubahan ekstrim dalam konsentrasi garam atau pH untuk meningkatkan reprodutifitas dan menghindari kebutuhan untuk mengemas ulang kolom. Stabilitas fisik yang tinggi dan keseragaman ukuran partikel memfasilitasi laju aliran yang tinggi, terutama selama langkah pembersihan atau re-ekuilibrasasi, untuk meningkatkan throughput dan produktivitas (GE Healthcare, 2012). Ada batas pH dan tekanan untuk setiap fase diam. Misalnya nilai pH lebih tinggi dari 8 tidak boleh digunakan dalam bahan berbasis silika yang tidak dilapisi dengan bahan organik. Stabilitas matriks juga harus dipertimbangkan ketika bahan kimia seperti pelarut organik atau zat pengoksidasi harus digunakan atau ketika dipilih untuk pembersihan kolom (Kastner, dkk., 2005).

Matriks yang diperoleh dengan polimerisasi polistirena dengan jumlah divinilbenzena yang bervariasi dikenal sebagai matriks asli untuk kromatografi penukar ion. Namun matriks ini memiliki permukaan yang sangat hidrofobik dan protein rusak secara permanen karena ikatan yang kuat. Penukar ion yang didasarkan pada selulosa dengan tulang punggung hidrofilik adalah matriks yang lebih cocok untuk pemisahan protein. Matriks pertukaran ion lainnya dengan sifat hidrofilik didasarkan pada agarosa atau dekstran (Kastner, dkk., 2005).

Beberapa jenis matriks dan sifat-sifat pentingnya dapat didaftar sebagai berikut;

- bahan matriks;
- Selulosa; Permukaan hidrofilik, meningkatkan stabilitas dengan cross-linking, murah

- Dekstran; Pembengkakan yang cukup besar sebagai fungsi dari lingkungan ionik, bahan yang ditingkatkan dengan ikatan silang)
- Agarosa; Pembengkakan hampir tidak tergantung pada kekuatan ion dan pH, kapasitas pengikatan tinggi yang diperoleh dengan produksi partikel yang sangat berpori
- Poliakrilamida; Perilaku pembengkakan mirip dengan dekstran
- kopolimer-akrilat; Stabilitas pH tinggi
- Polistirena-divinilbenzena; Permukaan hidrofobik, kapasitas pengikatan rendah untuk protein
- Polistirena-divinilbenzena dilapisi; Permukaan hidrofilik
- silika; Tidak stabil pada  $\text{pH} > 8$ , partikel kaku
- Silika dilapisi; Permukaan hidrofilik (Kastner, dkk., 2005)

Selain interaksi elektrostatik antara fase diam dan protein, beberapa mekanisme lebih lanjut seperti interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen dapat berkontribusi pada pengikatan protein. Interaksi hidrofobik terutama terjadi dengan penukar ion resin sintesis seperti yang dihasilkan oleh kopolimerisasi stirena dan divinilbenzena. Bahan-bahan ini biasanya tidak digunakan untuk pemisahan protein. Namun bahan penukar ion baru yang terdiri dari manik-manik kopolimer stirena-divinilbenzena dilapisi dengan film penukar ion hidrofilik diperkenalkan. Menurut perilaku retensi beberapa protein, dianggap bahwa pelapisan manik-manik sangat efisien sehingga pengikatan tidak spesifik karena interaksi hidrofobik tidak dapat diamati. Partikel silika juga telah dilapisi dengan matriks hidrofilik. Polimer asam akrilik juga digunakan untuk pemisahan protein dalam kromatografi pertukaran ion. Polimer ini sangat cocok untuk pemurnian protein dasar (Kastner, dkk., 2005).

Gugus fungsi yang disubstitusikan ke matriks kromatografi menentukan muatan media penukar ion; penukar anion bermuatan positif atau penukar kation bermuatan negatif (GE Healthcare, 2012). Kedua penukar dapat diklasifikasikan lebih lanjut sebagai tipe kuat dan lemah seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Istilah lemah dan kuat tidak terkait dengan kekuatan pengikatan protein ke penukar ion tetapi menggambarkan derajat ionisasinya sebagai fungsi pH (Kastner, dkk., 2005). Penukar ion kuat terionisasi sempurna pada rentang pH yang lebar, sedangkan penukar ion lemah hanya terionisasi sebagian pada rentang pH yang sempit (Cummins, dkk., 2011). Oleh karena itu dengan protein penukar ion yang kuat dapat mengadsorpsi ke beberapa situs penukar. Untuk alasan ini penukar ion kuat umumnya digunakan untuk pengembangan awal dan optimalisasi protokol pemurnian. Di sisi lain penukar ion lemah lebih fleksibel dalam hal selektivitas dan merupakan pilihan yang lebih umum untuk pemisahan protein yang mempertahankan fungsinya pada kisaran pH 6-9 serta untuk protein tidak stabil yang mungkin memerlukan kondisi elusi ringan (Cummins, dkk., 2011). Gugus amino teralkilasi untuk



penukar anion dan gugus karboksi, sulfo serta fosfat untuk penukar kation adalah gugus fungsi yang paling umum digunakan pada pendukung kromatografi penukar ion (Kastner, dkk., 2005). Penukar asam sulfonat dikenal sebagai penukar kation tipe asam kuat. Gugus fungsi amina kuartar adalah penukar basa kuat sedangkan amina yang kurang tersubstitusi dikenal sebagai penukar basa lemah (Haddad, dkk., 1990). Jumlah dan jenis substituen ditentukan oleh kebiasaan gugus amino. Amina tersier dan kuarterner yang diimobilisasi terbukti berguna untuk kromatografi pertukaran ion. Gugus dietilaminoetil dan karboksimetil amobil merupakan penukar ion yang paling banyak digunakan (Cummins, dkk., 2011).

Kapasitas penukar ion dari suatu penukar ion ditentukan oleh jumlah gugus fungsi per satuan berat resin (GE Healthcare, 2012). Kapasitas ion total adalah jumlah gugus fungsi bermuatan per ml media, parameter tetap dari setiap media dan dapat diberikan sebagai mval/ml untuk ion kecil. Kepadatan dan aksesibilitas kelompok bermuatan ini baik di permukaan maupun di dalam pori-pori menentukan kapasitas pengikatan total. Media ionik dan adanya protein lain jika suatu protein tertentu dianggap juga mempengaruhi daya ikat. Namun, dalam kondisi tertentu, jumlah protein tertentu yang terikat pada penukar ion merupakan parameter yang lebih sesuai untuk menentukan dan membandingkan kapasitas kromatografi penukar ion. Albumin untuk penukar anion dan hemoglobin untuk penukar kation biasanya digunakan untuk tujuan ini. Penentuan kapasitas pengikatan sebelum percobaan umumnya dianjurkan karena kapasitas protein tertentu tergantung pada ukurannya dan juga pada komposisi sampel. Kapasitas pengikatan kolom dapat ditingkatkan untuk protein yang tertahan pada kolom pada konsentrasi garam yang tinggi. Konsentrasi garam disesuaikan dengan konsentrasi yang sesuai di mana protein yang diinginkan terikat erat pada penukar ion sementara yang lain yang memiliki afinitas lebih rendah melewati kolom tanpa menempati tempat pengikatan (Kastner, dkk., 2005).

**Tabel 5.1.** Penukar kation dan anion tipe lemah dan kuat

Jenis Pertukaran	Kelompok pertukaran ion	Ion penghitung penyangga	kisaran pH	Sampel komersial
Kation kuat	Asam sulfonat (SP)	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> , Li <sup>+</sup>	4-13	Capto <sup>®</sup> S, SP Sephacrose <sup>®</sup> , SP Sephadex <sup>®</sup> , TSKgel SP_5PW
kation lemah	Asam karboksilat	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> , Li <sup>+</sup>	6-10	CM Cellulose

anion kuat	Amina kuarter (Q)	Cl <sup>-</sup> , HCOO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2-12	Capto <sup>®</sup> Q
anion lemah	Amina primer Amina sekunder Amina tersier (DEAE)	Cl <sup>-</sup> , HCOO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2-9	Capto <sup>®</sup> DEAE

### 5.3 Fase Gerak (Eluen)

Dalam kromatografi pertukaran ion umumnya eluen yang terdiri dari larutan berair dari garam yang sesuai atau campuran garam dengan persentase kecil dari pelarut organik digunakan di mana sebagian besar senyawa ionik larut lebih baik daripada yang lain. sampel jauh lebih mudah [1,3]. Natrium klorida mungkin merupakan eluen yang paling banyak digunakan dan ringan untuk pemisahan protein karena tidak memiliki efek penting pada struktur protein. Namun NaCl tidak selalu merupakan eluen terbaik untuk pemisahan protein. Waktu retensi, lebar puncak protein yang dielusi, sehingga resolusi kromatografi dipengaruhi oleh sifat anion dan kation yang digunakan. Efek ini dapat diamati lebih jelas dengan penukar anion dibandingkan dengan penukar kation (Kastner, dkk., 2005). Campuran garam itu sendiri dapat menjadi buffer atau buffer terpisah dapat ditambahkan ke eluen jika diperlukan. Ion yang bersaing yang memiliki fungsi mengelusi komponen sampel melalui kolom dalam waktu yang wajar adalah komponen penting dari sampel yang dielusi. Sifat dan konsentrasi ion yang bersaing dan pH eluen adalah sifat yang paling penting yang mempengaruhi karakteristik elusi ion terlarut (Haddad, dkk., 1990).

pH eluen memiliki efek yang cukup besar pada gugus fungsi yang ada pada matriks pertukaran ion dan juga pada bentuk eluen dan ion terlarut. Koefisien selektivitas yang ada antara ion yang bersaing dan ion terlarut tertentu akan menentukan tingkat ion yang bersaing dapat menggantikan ion terlarut dari fase diam. Karena ion pesaing yang berbeda akan memiliki koefisien selektivitas yang berbeda, maka sifat ion yang bersaing akan menjadi faktor penting dalam menentukan apakah ion terlarut akan mudah dielusi. Konsentrasi ion yang bersaing memberikan pengaruh yang signifikan dengan mempengaruhi posisi titik kesetimbangan untuk kesetimbangan pertukaran ion. Semakin tinggi konsentrasi ion yang bersaing dalam eluen lebih efektif menggantikan ion terlarut dari fase diam, oleh karena itu zat terlarut lebih cepat dielusi dari kolom. Selain itu elusi zat terlarut dipengaruhi oleh laju alir eluen dan suhu. Laju aliran yang lebih cepat menyebabkan volume elusi yang lebih rendah karena ion terlarut memiliki lebih sedikit kesempatan untuk berinteraksi dengan ion tetap. Suhu memiliki dampak yang relatif lebih kecil, yang dapat diubah sesuai dengan jenis bahan penukar ion. Peningkatan suhu meningkatkan laju

difusi dalam matriks pertukaran ion, umumnya mengarah ke peningkatan interaksi dengan ion tetap dan volume elusi karena itu lebih besar. Pada suhu yang lebih tinggi efisiensi kromatografi biasanya ditingkatkan (Haddad, dkk., 1990).

Degassing eluen penting karena jebakan di check valve menyebabkan pompa lepas. Hilangnya hasil prima dalam aliran eluen yang tidak menentu atau tidak ada aliran sama sekali. Kadang-kadang hanya satu kepala pompa yang kehilangan puncaknya dan tekanan akan berfluktuasi sesuai dengan langkah pompa. Alasan lain untuk menghilangkan udara terlarut dari eluen adalah karena udara dapat mengakibatkan perubahan konsentrasi efektif eluen. Karbon dioksida dari udara yang dilarutkan dalam air membentuk asam karbonat. Asam karbonat dapat mengubah konsentrasi efektif eluen basa termasuk larutan natrium hidroksida, bikarbonat dan karbonat. Biasanya air yang dihilangkan gasnya digunakan untuk menyiapkan eluen dan upaya harus dilakukan untuk menjaga agar paparan eluen ke udara seminimal mungkin setelah persiapan. Degasser inline modern menjadi cukup populer (Fritz, dd., 2009).

Untuk pemisahan, eluen dipompa melalui sistem sampai kesetimbangan tercapai, yang dibuktikan dengan garis dasar yang stabil. Waktu yang diperlukan untuk kesetimbangan dapat bervariasi dari beberapa menit sampai satu jam atau lebih, tergantung pada jenis resin dan eluen yang digunakan (Fritz, dd., 2009). Sebelum sampel diinjeksikan ke kolom harus diseimbangkan dengan eluen untuk menutupi semua tempat pertukaran pada fase diam dengan ion lawan yang sama. Ketika kolom diseimbangkan dengan larutan ion yang bersaing, ion lawan yang terkait dengan ion tetap diganti sepenuhnya dengan ion yang bersaing. Pada kondisi ini ion-ion yang bersaing menjadi ion lawan baru di tempat pertukaran ion dan kolomnya berupa ion tertentu (Haddad, dkk., 1990).

Elusi isokratik atau elusi gradien dapat diterapkan untuk prosedur elusi. Buffer tunggal digunakan di seluruh pemisahan dalam elusi isokratik. Komponen sampel diadsorpsi secara longgar ke matriks kolom. Karena setiap protein akan memiliki koefisien distribusi yang berbeda, pemisahan akan dicapai dengan kecepatan relatif migrasinya di atas kolom. Oleh karena itu untuk mendapatkan resolusi komponen sampel yang optimal, diperlukan volume sampel yang kecil dan kolom penukar yang panjang. Teknik ini memakan waktu dan protein yang diinginkan selalu terelusi dalam volume besar. Namun tidak ada aparatus pembentuk gradien yang diperlukan dan regenerasi kolom tidak diperlukan. Perubahan komposisi eluen diperlukan untuk mencapai desorpsi protein yang diinginkan sepenuhnya. Untuk meningkatkan desorpsi protein yang diinginkan, variasi berkelanjutan atau bertahap dalam kekuatan ionik dan/atau pH eluen disediakan dengan elusi gradien. Gradien kontinu umumnya memberikan resolusi yang lebih baik daripada gradien bertahap (Cummins, dkk., 2011).

Aditif yang merupakan bahan pelindung yang terdapat pada fase gerak umumnya digunakan untuk mempertahankan struktur dan fungsi protein yang akan dimurnikan. Hal ini dicapai dengan merangsang perlindungan lingkungan mikro yang memadai terhadap oksidasi atau terhadap serangan enzimatik (Kastner, dkk., 2005). Setiap aditif yang digunakan dalam kromatografi penukar ion, harus diperiksa sifat muatannya pada pH kerja untuk menghindari efek yang tidak diinginkan akibat proses adsorpsi dan desorpsi selama kromatografi (Kastner, dkk., 2005; GE Healthcare, 2012). Direkomendasikan untuk memasukkan dalam buffer elusi aditif tersebut dalam konsentrasi yang sesuai yang telah digunakan untuk stabilisasi dan pelarutan sampel. Jika tidak, presipitasi dapat terjadi pada kolom selama elusi (Kastner, dkk., 2005). Sebagai contoh; aditif zwitterionik seperti betaine dapat mencegah pengendapan dan dapat digunakan pada konsentrasi tinggi tanpa mengganggu elusi gradien. Deterjen umumnya berguna untuk melarutkan protein dengan kelarutan air yang rendah. Deterjen anionik, kationik, zwitterionik dan non-ionik (netral) dapat digunakan selama kromatografi pertukaran ion. Guanidin hidroklorida atau urea, yang dikenal sebagai zat pendenaturasi dapat digunakan untuk pelarutan awal sampel dan selama pemisahan. Namun, mereka harus menggunakan jika ada persyaratan. Guanidine adalah molekul bermuatan dan oleh karena itu dapat berpartisipasi dalam proses pertukaran ion dengan cara yang sama seperti NaCl selama proses pemisahan (GE Healthcare, 2012).

Aditif eluen yang umum digunakan yang telah berhasil digunakan dalam kromatografi penukar ion dapat diberikan sebagai berikut;

- EDTA; Asam etilendiamin tetraasetat
- Polioli; Gliserol, glukosa, dan sakarosa
- Deterjen;
- Urea dan guanidinium klorida
- Lemak
- Pelarut organik
- Zwitterion
- Reagen sulfhidril
- Ligan
- Inhibitor protease (Kastner, dkk., 2005)

#### **5.4 Penyangga**

Dalam kromatografi penukar ion, nilai pH merupakan parameter penting untuk pemisahan dan dapat dikontrol dan diatur secara hati-hati dengan menggunakan zat penyangga (Cummins, dkk., 2011). Untuk mencegah variasi dalam matriks dan muatan bersih protein, pemeliharaan pH fase gerak yang konstan selama pemisahan sangat penting untuk menghindari perubahan pH yang dapat terjadi ketika protein dan ion penukar dilepaskan ke dalam fase gerak (Cummins, dkk., 2011).

Melalui zat penyangga nilai pH dapat dikontrol dan diatur. Konsentrasi  $H^+$  dan komponen penyangga mempengaruhi ikatan protein pada fase diam, resolusi kromatografi dan integritas struktural serta fungsional protein yang akan dipisahkan. Jadi kisaran pH yang sesuai, di mana stabilitas sampel terjamin, harus diidentifikasi. Menjaga fungsi sampel berkaitan dengan pelestarian struktur tiga dimensinya serta dengan aktivitas biologisnya (Kastner, dkk., 2005). Sejumlah buffer cocok untuk kromatografi pertukaran ion. Sejumlah faktor penting yang mempengaruhi pemilihan fase gerak termasuk muatan buffer, kekuatan buffer dan pH buffer (Cummins, dkk., 2011). Sifat buffer yang baik adalah kapasitas buffer yang tinggi pada pH kerja, kelarutan tinggi, kemurnian tinggi dan biaya rendah. Garam penyangga juga harus memberikan kapasitas penyangga yang tinggi tanpa memberikan kontribusi banyak terhadap konduktivitas dan tidak boleh berinteraksi dengan gugus fungsi penukar ion serta dengan media (Cummins, dkk., 2011). Komponen buffer tidak boleh berinteraksi dengan penukar ion karena jika tidak, pergeseran pH lokal dapat terjadi selama proses pertukaran yang dapat mengganggu elusi. Interaksi dengan fase diam serta dengan aditif fase gerak dan dengan prosedur selanjutnya dapat terjadi dengan komponen buffer dan kisaran pH yang dipilih. Pengendapan komponen fase gerak dapat diamati misalnya ketika buffer fosfat dan beberapa ion logam di- dan trivalen seperti  $Mg^{+2}$  dan  $Ca^{+2}$  dicampur atau ketika deterjen anionik (yaitu kolat) digunakan dalam kondisi asam atau dengan adanya dari ion logam multivalen. Pengendapan oksida logam dan hidroksida dapat terjadi dalam kondisi basa. Komponen penyangga juga dapat mempengaruhi uji enzimatik yang digunakan untuk penyaringan dan analisis fraksi kromatografi (Kastner, dkk., 2005). Konsentrasi garam penyangga biasanya berkisar antara 10 sampai 50 mM. Buffer yang umum digunakan disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3 untuk kromatografi penukar kation dan anion (Cummins, dkk., 2011).

Umumnya, aplikasi kromatografi pertukaran dilakukan dalam kondisi sedikit asam atau alkali, kisaran pH 6,0-8,5 tetapi ada juga buffer yang lebih asam dan lebih alkali. Selain itu komponen penyangga tidak boleh bertindak sebagai ion elusi dengan mengikat penukar ion. Komponen buffer anionik seperti fosfat atau MOPS dalam kromatografi pertukaran kation dan buffer kationik seperti etanolamin, Tris dan Tricine dalam kromatografi pertukaran anion direkomendasikan. Selain interaksi komponen buffer dengan fase diam, ada juga kemungkinan interaksi dengan aditif fase gerak. Untuk mencapai kapasitas buffer yang cukup, pKa komponen buffer harus sedekat mungkin dengan nilai pH yang diinginkan, perbedaan tidak lebih dari  $\pm 0,5$  unit pH. Namun ada contoh pemisahan yang berhasil di mana kapasitas buffer sangat rendah (Westerlund, 2004). Harus dipertimbangkan bahwa pKa adalah nilai yang bergantung pada suhu. Melakukan pemisahan pertukaran ion dengan buffer elusi yang sama pada suhu kamar atau di ruangan dingin dapat memiliki efek yang luar biasa pada kapasitas buffer. Untuk pengikatan ion

sampel yang optimal ke penukar ion, kekuatan ionik dan dengan demikian juga konsentrasi buffer harus rendah dalam buffer sampel dan ekuilibriasi (Westerlund, 2004).

**Table 5.2.** Buffer yang umum digunakan untuk kromatografi penukar kation

Zat	pK <sub>a</sub>	pH
Asam Sitrat	3,1	2,6-3,6
Asam Laktat	3,8	3,4-4,3
Asam Asetat	4,74	4,3-5,2
2-(N-morpholino)asam etanasulfonat	6,1	5,6-6,6
<i>N</i> -(2-acetamido)-2-asam iminodiacetic	6,6	6,1-7,1
3-(N-morpholino) asam propanesulfonat	7,2	6,7-7,7
Fosfat	7,2	6,8-7,6
<i>N</i> -(2-hidroksietil)piperazin- <i>N'</i> -(asam 2-etanesulfonat)	7,5	7,0-8,0
N,N-bis(2-hidroksietil)glisin	8,3	7,6-9,0

**Tabel 5.3.** Buffer yang umum digunakan untuk kromatografi pertukaran anion

Zat	pK <sub>a</sub>	pH
N-Metil-piperazin	4,75	4,25-5,25
Piperazin	5,68	5,2-6,2
Bis-Tris	6,5	6,0-7,0
Bis-Tris propana	6,8	6,3-7,3
<i>Triethanolamin</i>	7,8	7,25-8,25
Tris	8,1	7,6-8,6
<i>N</i> -Metil-diethanolamin	8,5	8,0-9,0
Dietanolamin	8,9	8,4-9,4
Etanolamin	9,5	9,0-10,0
1,3-Diaminopropana	10,5	10,0-11,0

## 5.5 Deteksi

Detektor konduktivitas adalah detektor yang paling umum dan berguna dalam kromatografi pertukaran ion. Namun UV dan detektor lainnya juga dapat berguna (Fritz, dd., 2009). Deteksi konduktivitas memberikan sensitivitas yang sangat baik ketika konduktansi ion terlarut yang

dielusi diukur dalam eluen dengan konduktansi latar belakang rendah. Oleh karena itu ketika deteksi konduktivitas digunakan eluen encer harus lebih disukai dan agar eluen tersebut, untuk bertindak sebagai ion bersaing yang efektif, kapasitas pertukaran ion kolom harus rendah (Haddad, dkk., 1990).

Meskipun perekam dan integrator digunakan dalam beberapa sistem yang lebih tua, umumnya dalam kromatografi pertukaran ion modern hasil disimpan di komputer. Waktu retensi dan area puncak adalah informasi yang paling berguna. Waktu retensi digunakan untuk mengkonfirmasi identitas puncak yang tidak diketahui dengan perbandingan dengan standar. Untuk menghitung luas puncak konsentrasi analit dibandingkan dengan standar yang diketahui konsentrasinya (Fritz, dd., 2009).

Deteksi langsung anion dimungkinkan, asalkan tersedia detektor yang merespons beberapa sifat ion sampel. Misalnya anion yang menyerap di daerah spektral UV dapat dideteksi secara spektrofotometri. Dalam hal ini, anion eluen dipilih yang tidak menyerap UV. Eluen yang digunakan dalam kromatografi anion mengandung eluen anion, E<sup>-</sup>. Anion dengan sedikit atau tanpa absorbansi di daerah spektral UV dapat dideteksi secara spektrofotometri dengan memilih anion eluen yang menyerap kuat. Anion dengan cincin benzena akan cocok (Fritz, dd., 2009). Biasanya Na<sup>+</sup> atau H<sup>+</sup> akan menjadi kation yang berasosiasi dengan E<sup>-</sup>. Anion eluen harus kompatibel dengan metode deteksi yang digunakan. Untuk konduktivitas, deteksi E harus memiliki konduktivitas yang jauh lebih rendah daripada ion sampel atau mampu diubah menjadi bentuk non-ionik oleh sistem supresi kimia. Ketika deteksi spektrofotometri digunakan, E akan sering dipilih karena kemampuannya untuk menyerap kuat di daerah spektral UV atau terlihat. Konsentrasi E<sup>-</sup> dalam eluen akan tergantung pada sifat penukar ion yang digunakan dan pada jenis anion yang akan dipisahkan (Fritz, dd., 2009).

## **5.6 Aplikasi**

---

1. Penemuan dan inovasi pertukaran ion Hamish selama 62 tahun telah mengubah dunia analisis ion. Dari ion pertama yang berhasil kromatogram yang dihasilkan 9 November 1971 hingga puluhan ribu kromatografi ion yang digunakan di seluruh dunia saat ini, karya ilmiah Hamish dan persepsinya tentang masalah sebagai peluang mempertahankan evolusi kromatografi ion. Sementara makalah ini disorot kontribusi pertukaran ion elektrolitik dari Hamish, pekerjaan dasar dalam resin penukar ion berkapasitas rendah tetap di jantung pemisahan kromatografi ion. Ada yang signifikan dari kemajuan dalam fase diam kromatografi ion sejak penemuan IC, tetapi resin sulfonasi permukaan asli dilapisi dengan lateks pertukaran anion sama pentingnya saat ini seperti 50 tahun yang lalu (Riviello, 2021).

2. Di antara 1.434 pasien, 11 pasien ditemukan memiliki varian Hb. Insiden varian Hb adalah 0,76%. Karakteristik semua pasien dan pasien dengan varian Hb ditunjukkan pada Tabel 1. Usia rata-rata dari semua pasien adalah 63,8 tahun (kisaran, 5-96 tahun). Itu rasio perempuan-laki-laki adalah 1:1.4. Berarti FPG adalah  $162,8 \pm 60,5$  mg/dL, HbA1c adalah  $8,28 \pm 1,97\%$ , dan eAG adalah  $190,9 \pm 56,6$  mg/dL. Pada pasien dengan Hb varian, berarti FPG adalah  $149,5 \pm 39,9$  mg/dL, HbA1c adalah  $7,29 \pm 2,01\%$ , dan eAG adalah  $162,5 \pm 57,7$  mg/dL. Di antara 11 pasien dengan varian Hb, Hb J diidentifikasi pada 4 pasien, Hb G dalam 2, Hb E dalam 1, Hb owari pada 3 pasien, dan HbF tinggi pada 1 pasien (Chu et al., 2009).
3. Dalam membandingkan metode menggunakan filter sentrifugal 3 K untuk proteinpemindahan ke metode pengendapan asam yang lebih umum digunakan dalam persiapan plasma kami membandingkan sampel terpisah dengan 3 pengulangan untuk masing-masing metode. Hasilnya rasio dari dua sinyal menegaskan bahwa menggunakan filter meningkatkan kekuatan sinyal sebagian besar asam amino. Ini mungkin hasil dari peningkatan sensitivitas dengan tidak mengencerkan sampel dan menghindari kehilangan melalui presipitasi atau asam modifikasi. Sebagai catatan, filter yang diproses Triptofan jauh lebih rendah daripada asam pengendapan. Filter diuji untuk retensi triptofan dan terbukti negatif. Level yang lebih rendah kemungkinan besar merupakan hasil dari pengikatan yang dilaporkan dari triptofan menjadi albumin yang akan dilepaskan oleh pengendapan asam. Peningkatan glutamat dan alanin dalam endapan non-asam sampel menunjukkan efek asam pada molekul (Cunningham et al., 2022).
4. Selain komposisi eluen yang dibahas di atas, kualitas dan jumlah asam dan basa yang ditambahkan ke fase gerak dapat secara signifikan mempengaruhi sifat kromatografi, karena asam dan basa mempengaruhi kondisi solvasi dan ionisasi SA dan SO. Dalam kasus penukar ion yang melarutkan asam dan basa dalam fase gerak, ion lawan terbentuk di tempat, dan mereka bertindak sebagai pesaing untuk gugus fungsi ionik SA dan SO. Dalam kasus zwitterionik SO, kation dan anion dapat dianggap sebagai ion lawan. Dengan cara ini, kontra mengganggu interaksi ionik antara SO dan SA, dan retensi dapat dikontrol. Oleh karena itu, efek dari kualitas dan kuantitas counterion perlu ditelusuri (Németi et al., 2022).
5. Enzimologi berbasis IEC biasanya melibatkan termal atau kimiapendinginan reaksi katalitik yang sedang berlangsung pada titik waktu yang ditentukan dan penentuan off-line berikutnya dari konsentrasi senyawa reaksi. Namun, kami beralasan bahwa, dalam banyak kasus, tidak akan ada perlu langkah pendinginan khusus, karena reaksi enzimatik akan berhenti pada pemuatan sampel pada kolom karena imobilisasi substrat. Sebagai bukti prinsip, kami mempelajari heksokinase yang dikarakterisasi dengan baik reaksi fosfotransfer yang dikatalisis:  $\text{heksosa} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{heksosa 6fosfat} + \text{ADP}$ . Kedua nukleotida dapat dipisahkan



secarakolom pertukaran anionik, dan konsentrasinya ditentukan oleh UV pengukuran penyerapan. Di bawah kondisi seperti yang diberikan dalam Metode, 1 nM heksokinase hampir sepenuhnya mengubah 0,5 mM ATP menjadi ADP dalam waktu 20menit (Agustoni et al., 2022)

## **5.7 Evaluasi**

---

1. Apa yang kamu ketahui tentang kromatografi penukar ion? Dan termasuk kromatografi apa?
2. sebutkan sifat-sifat penting dari resin penukar ion?
3. Sebutkan prinsip utama dalam metode kromatografi pertukaran ion yang didasarkan pada interaksi !
4. Sebutkan manfaat-manfaat dari kromatografi!
5. Apa yang dimaksud dengan regenerasi resin pada kromatografi penukar ion? Dan sebutkan jenis-jenisnya?
6. Siapa yang mencetuskan metode kromatografi pertukaran ion untuk pertama kalinya?
7. sebutkan klasifikasi dari resin penukar ion dan jelaskan fungsinya?

# BAB 6

## METODA KROMATOGRAFI *SIZE EXCLUSION*

---

---

Saat ini, kromatografi adalah teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam kimia analitik. Kromatografi dapat digunakan dalam berbagai bidang seperti bidang farmasi, bidang lingkungan, bidang industri dan masih banyak lagi untuk melakukan pengujian, baik pengujian kualitatif maupun kuantitatif. Teknik kromatografi itu sendiri dikembangkan untuk memisahkan dan mengukur berbagai jenis komponen kompleks. Kromatografi dapat diklasifikasikan berdasarkan mekanisme pemisahannya, misalnya: kromatografi adsorpsi, kromatografi split/split, kromatografi pasangan ion, kromatografi pasangan ion, kromatografi penukar ion, kromatografi eksklusi ukuran, dan kromatografi pembelahan.

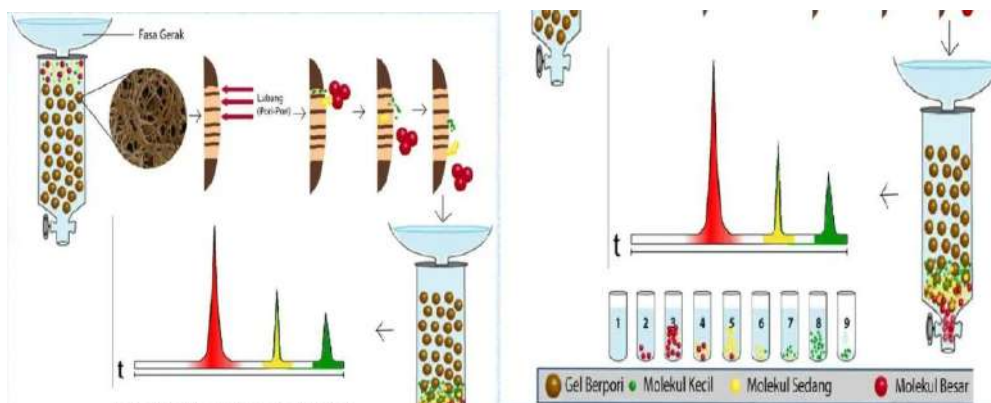
Dalam pengolahan hasil laut atau bahkan pencegahan pencemaran di laut, seperti pengolahan kitosan, produksi eksopolisakarida, dan pengolahan limbah laut. Untuk mengolah hasil laut dan mengatasi pencemaran di laut, kita dapat menggunakan pemisahan berupa pemisahan kromatografi, khususnya kromatografi eksklusi ukuran atau biasa dikenal dengan Kromatografi *size exclusion*.

### **6.1 Kromatografi Eksklusi Ukuran**

---

---

Kromatografi cair (LC) adalah teknik pemisahan di mana fase gerak adalah cairan, di mana ion atau molekul sampel dilarutkan. Itu dilakukan dalam kolom atau bidang. Sampel dengan fluida yang bergerak akan melewati kolom atau bidang, dikemas dengan fase diam yang terdiri dari partikel berbentuk tidak beraturan atau bola. Karena perbedaan pertukaran ion, adsorpsi, pemisahan atau volume, pelarut yang berbeda akan berinteraksi dengan fase diam dengan derajat yang berbeda, sehingga pemisahan senyawa dapat dicapai dan waktu transit zat terlarut melalui kolom dapat ditentukan. ditentukan dengan memanfaatkan perbedaan tersebut.



**Gambar 6.1.** Mekanisme Kromatografi Size Eksklusi

Banyak faktor fisik seperti kekuatan dan kompleksitas bahan, misalnya sintesis dan kegunaan polimer sintetik dan alam, atau protein dan biofarmasi yang sangat bergantung pada molekul. Disejumlah besar industri, ada keinginan yang jelas dan kuat untuk mengendalikan atau mengontrol sifat-sifat molekuler seperti berat molekul dan struktur, agar dapat dimanipulasi dengan lebih baik dan mengontrol sifat massal material. Oleh karena itu, diperlukan adanya teknik yang dapat diandalkan untuk membuat pengukuran tersebut.

Kromatografi eksklusi ukuran atau *Size Exclusion* ini sering disebut dengan Permeasi Gel Kromatografi atau Filtrasi Gel adalah teknik pemisahan dan bagian dari Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dimana polimer molekul dipisahkan berdasarkan volume hidrodinamiknya. Molekul sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, melewati matriks pengepakan gel dalam kolom dan berdifusi masuk keluar dari pori-pori didalam gel. Molekul yang lebih kecil berdifusi lebih banyak masuk ke pori-pori matriks pengepakan, sehingga kemajuannya melalui kolom terganggu, sedangkan molekul yang lebih besar dapat menembus pori-pori.

## 6.2 Kegunaan Kromatografi Eksklusi Ukuran

Kromatografi cair konvensional sering digunakan untuk mempersiapkan operasi pencucian standar dan untuk memisahkan elemen dari campuran. Dalam praktiknya, kromatografi cair menggunakan susunan kecil untuk menyortir potongan dan beberapa penekanan sebagai solusi untuk analisis, visualisasi, dan kuantifikasi, yang biasa disebut sebagai kinerja kromatografi cair lanjutan (HPLC). HPLC dapat memberikan resolusi yang sangat tinggi (hingga unit trillion) dan waktu pengujian yang cepat. Dan lagi, kromatografi cair dapat digunakan di seluruh dunia untuk menguji sampel air untuk kontaminasi danau dan sungai. Digunakan untuk menguji ion besi dan senyawa organik dalam larutan. Kromatografi cair menggunakan cairan yang mungkin mengandung molekul hidrofilik yang tidak larut. Kromatografi cair ini dapat digunakan sebagai alat diagnostik untuk membantu mengidentifikasi komponen obat, memungkinkan peneliti untuk mengukur komposisinya dan mendeteksi kontaminasi dalam produk.

Kromatografi Cair Eksklusi Ukuran terutama digunakan untuk karakterisasi makromolekul termasuk sintesis dan polimer alam (termasuk polisakarida) serta protein atau RNA/DNA. Karena SEC mencakup rentang aplikasi yang begitu luas, area fokus utama sedikit berbeda antar aplikasi. Untuk polimer sintesis dan alami yang utama. Tujuan dari teknik ini biasanya untuk penentuan massa molekul rata-rata dan distribusi massa molekul sampel. Untuk protein, yang utama fokus biasanya adalah penentuan keadaan monomer dan oligomer dan hitungan. Informasi lebih lanjut, seperti ukuran, struktur dan komposisi informasi, dapat diturunkan dari sistem SEC multi-detektor.

### **6.3 Pemisahan dan Analisis Kromatografi Eksklusi Ukuran**

---

Kromatografi adalah teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam kimia analitik. Dalam kimia analitik terdapat analisis kuantitatif dan kualitatif. Untuk analisis kuantitatif yang dilakukan adalah mencari seberapa banyak produk yang dihasilkan setelah dilakukannya proses pemisahan dengan kromatografi eksklusi ukuran ini, serta analisis kualitatif dilakukan dengan mencermati bahan baku apa saja yang digunakan dalam pemisahan kromatografi eksklusi ukuran ini.

Contoh pada pemisahan dan analisis jurnal *Antifungal and Antioxidant Properties of Chitosan Polymers Obtained from Nontraditional Polybius henslowii Sources* menggunakan pemisahan teknik kromatografi permeasi gel dengan menganalisis berat molekul (Mw) produk kitosan ditentukan oleh kromatografi permeasi gel (GPC) dengan beberapa variasi. Kolom tempat tidur varian PL aquagel-OH MIXED (Varian, Prancis) kolom 8- $\mu$ m digunakan. Sampel (sekitar 5 mg) dilarutkan dalam 1 mL eluent (AcOH / AcONa buffer pH 4,5, Panreac Spanyol) dan disaring melalui filter microsyringe sebelum injeksi. Laju aliran adalah 1 mL/menit. Kurva kalibrasi diperoleh dengan menggunakan standar bersertifikat polisakarida varian pullulan (Varian, Prancis) pada kondisi kromatografi yang sama.

### **6.4 Aplikasi**

---

1. *“Antifungal and Antioxidant Properties of Chitosan Polymers Obtained from Nontraditional Polybius henslowii Sources”.*

Dimana pada studi penelitian ini melakukan pengekstrasian pada produk kitosan yang berasal dari *Polybius henslowii*, kepiting reang Portugis melalui dua metode yang berbeda: (1) N-asetilasi dengan penambahan anhidrida asetat dan (2) reaksi dengan hidrogen peroksida. Struktur kimia dan berat molekul turunan kitosan, kitosan larut air (WSC) dan kitoligosakarida (COS), dikonfirmasi oleh Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) dan gel permeation chromatography (GPC).

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa turunan kitosan dari bahan baku *Polybius henslowii* berpotensi digunakan untuk melawan fitopatogen atau sebagai bahan kosmetik dan produk lain yang berhubungan dengan stres oksidatif. Oleh sebab itu, ketersediaan hayati sumber daya laut ini dapat menjadi landasan bagi masyarakat untuk menerapkan kitosan sebagai bahan pakan yang bernilai tinggi.

2. *“Characterization and applications of exopolysaccharide produced by marine Bacillus altitudinis MSH2014 from Ras Mohamed, Sinai, Egypt”*.

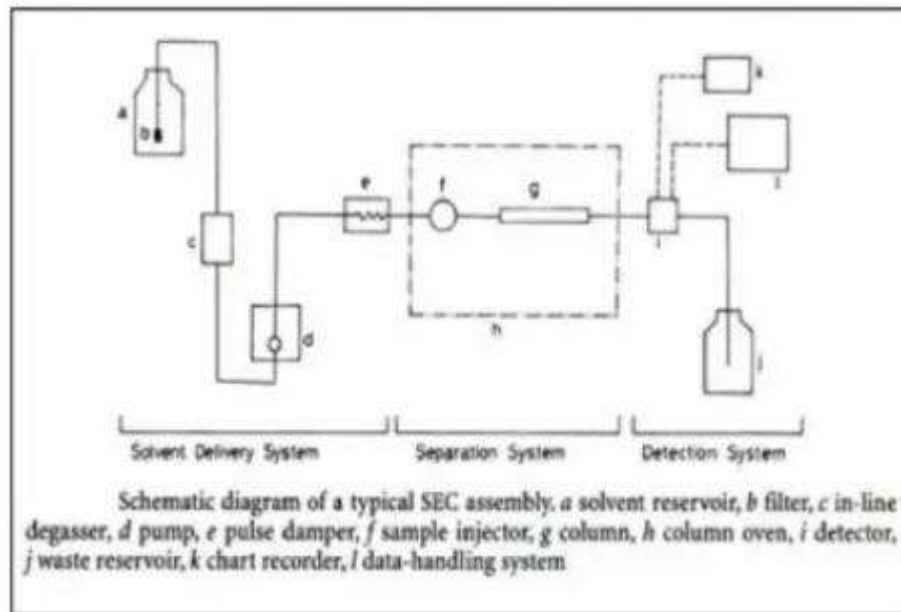
Pada jurnal kedua ini penelitian dilakukan untuk mensurvei produksi eksopolisakarida (EPS) pada 29 strain bakteri yang diisolasi dari sedimen di sekitar pohon bakau di kawasan Ras Mohamed, Pantai Laut Merah, Semenanjung Sinai, Mesir menggunakan metode gel permeation chromatography (GPC). Kromatografi permeasi gel ini digunakan untuk memperkirakan berat pada masing-masing molekul EPS yang ditemukan  $4,23 \times 10^5$  Dalton. Sehingga didapatkanlah hasil dari penelitian ini berupa EPS (eksopolisakarida) tampak signifikan dalam aktivitas antitumor in vitro terhadap dua sel kanker EACC dan kanker paru-paru A-549 serta berbagai bakteri dan jamur dihambat dengan EPS yang dimurnikan. Dalam studi penelitian ini dapat kita simpulkan bahwa produksi EPS yang berasal dari sedimen laut adalah sumber yang menjanjikan dan memiliki peluang besar dalam menciptakan senyawa bioaktif yang baru.

3. *“Evaluating the Effect of Chemical Digestion Treatments on Polystyrene Microplastics: Recommended Updates to Chemical Digestion Protocols”*.

Jurnal ini menjelaskan tentang penetapan toksisitas dan konsekuensi paparan mikroplastik (MP) pada organisme laut bergantung pada isolasi plastik yang tidak merusak dari matriks biologis yang biasanya diekstraksi pada pencernaan kimia menggunakan alkali (misalnya, kalium hidroksida (KOH) dan natrium hidroksida (NaOH)), oksidatif (misalnya, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ )) dan/atau asam (misalnya, asam nitrat ( $HNO_3$ )) reagen.

Senyawa-senyawa tersebut akan mengalami degradasi PS MP dievaluasi menggunakan FT-IR, kromatografi permeasi gel, NMR, spektroskopi photoluminescence, dan mikroskop. Hasil yang didapatkan pada studi penelitian ini mengungkapkan bahwa  $HNO_3$  menjadi yang paling merusak untuk MP PS, sedangkan reagen alkali dan oksidatif menghasilkan perubahan sifat plastik yang dapat diabaikan. Hasil ini juga dapat untuk digunakan sebagai pedoman untuk memperbaiki protokol dan tata cara pengelolaan MP.

## **Instrumen Kromatografi Eksklusi Ukuran**



**Gambar 6.2.** Skema Instrumen Kromatografi Size Ekslusi

Setiap jurnal memiliki instrumen yang berbeda-beda meskipun menggunakan metode penelitian yang sama. Instrumen Kromatografi Permeasi Gel (KPG) yang dapat digunakan adalah

- Filter/degasser
- Injector
- Pump
- Loop
- DRI detector
- Waste
- Oven (optional) containing GPC columns
- LS detector

## 6.5 Parameter Yang Digunakan

Parameter baik tidaknya suatu kromatografi didasarkan pada lima faktor, yaitu waktu retensi, faktor kapasitas, efisiensi kolom, resolusi dan faktor pelacakan.



**Gambar 6.3.** Parameter Kolom Pada Kromatografi Size Eksklusif

Parameter kolom dapat dihubungkan secara matematis dengan cara

$$V_b = V_o + V_i + V_r = V_o \cdot V_s$$

$$V_i = m \cdot S_r / P_s$$

$$V_i = V_o + K_d \cdot V_i$$

$V_i$  = volume bagian dalam gel,

$V_r$  = volume matriks

$V_s$  = volume total dari fase diam gel,

$m$  = berat dari gel,

$S_r$  = volume pelarut yang digunakan,

$P_s$  = kerapatan dari pelarut,

$K_d$  = koefisien distribusi,

$P_r$  = kerapatan dari gel,

$V_b$  = volume kasur,

$V_o$  = volume di luar gel,

## 6.6 Evaluasi

---

1. Sebutkan Apa yang di maksud dengan kromatografi Cairan ?
2. Apa yang di maksud dengan Kromatografi Eksklusi Ukuran?
3. Sebutkan Kegunaan Dari Kromatografi Cair ?
4. Sebutkan Manfaat Dari Kromatografi Eksklusif Ukuran ?

# BAB 7

## KROMATOGRAFI GAS

### (GAS-CAIR,FASE IKATAN GAS,DAN GAS PADAT)

---

Kompleksitas matriks sampel dunia nyata memperumit tugas mengidentifikasi dan mengukur keberadaan senyawa kepentingan forensik tertentu. Kromatografi gas (GC), bersama dengan teknik kromatografi lainnya, sangat penting dalam ilmu forensik untuk memisahkan zat kepentingan analitis. GC adalah teknik utama untuk analisis residu api. Dalam sebagian besar kasus, fase gerak produk minyak bumi(GC), bersama dengan teknik kromatografi lainnya, sangat penting dalam ilmu forensik untuk memisahkan zat kepentingan analitis. GC adalah teknik utama untuk analisis residu api. Dalam sebagian besar kasus, produk minyak bumi digunakan sebagai akselerator dalam kebakaran dan pola puncak dari analisis GC dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis produk (misalnya, bensin) yang digunakan dalam kebakaran. Salah satu penggunaan awal GC dalam ilmu forensik adalah dalam analisis obat. Segala macam obat 'jalanan' dapat dipisahkan dan diukur dengan GC. Darah dan cairan tubuh lainnya juga dianalisis untuk obat dan racun oleh GC setelah proses ekstraksi yang sesuai dilakukan. Penggunaan GC dalam deteksi dan kuantisasi alkohol dalam kasus mengemudi dalam keadaan mabuk tersebar luas. GC melibatkan penggunaan kolom pemisah, yang terbuat dari panjang kaca, silika leburan, atau tabung logam. Seperti bentuk kromatografi lainnya, fase gerak mengalir melalui kolom pemisah menuju detektor. Fasa gerak yang digunakan dalam GC adalah gas inert, seperti nitrogen, helium, atau hidrogen. Fase gerak biasanya disebut sebagai gas pembawa; ketika campuran zat disuntikkan di saluran masuk kolom, masing-masing komponen adalah: mengalir melalui kolom pemisahan menuju detektor. Fasa gerak yang digunakan dalam GC adalah gas inert, seperti nitrogen, helium, atau hidrogen. Fase gerak biasanya disebut sebagai gas pembawa; ketika campuran zat disuntikkan di saluran masuk kolom, masing-masing komponen adalah:dibawa menuju detektor oleh gas pembawa bergerak.

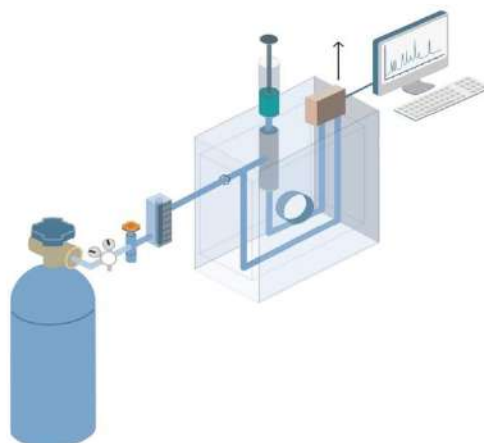
#### 7.1 Kromatografi Gas

---

Kromatografi gas ditemukan oleh ahli botani Rusia-Italia, Mikhail Semyonovich Tsvet, pada awal 1900-an. Teknik pemisahan digunakan untuk terlebih dahulu memisahkan komponen kimia suatu



campuran, kemudian menentukan ada tidaknya masing-masing komponen serta mengukur kadar setiap komponen yang terdeteksi.



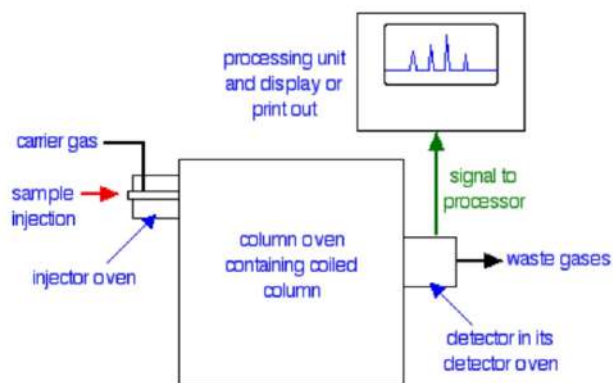
**Gambar 7.1.** *Kromatografi Gas* by :creative-

pemisahan dan analisis campuran gas alam dan sintetis yang permanen dan gas organik yang sangat mudah menguap, karena sifat adsorpsi fase padat (sorben) sementara yang pertama dapat diterapkan untuk menganalisis organik pada rentang volatilitas Kromatografi gas adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan kelompok teknik pemisahan analitik yang digunakan untuk menganalisis zat yang mudah menguap dalam fase gas. Kromatografi gas (GC) adalah teknik pemisahan menggunakan aliran gas melalui kolom kaca atau logam yang memisahkan senyawa berdasarkan volatilitas dan interaksi dengan fase diam cair. Ada dua kelas, GLC jauh lebih fleksibel daripada GSC, yang terakhir hanya dapat digunakan untuk yang luas (pelarut yang mudah menguap hingga hidrokarbon C<sub>60</sub>).

Dalam aplikasi GLC, mode kolom kapiler sebagian besar telah menggantikan mode kolom terkemas, sejak munculnya kolom tabung terbuka silika fusi (FSOT) pada tahun 1979 dan kemampuan untuk menerapkan dan menggunakan SP ( fase diam ) yang terikat secara kimia ( GBC adalah istilah yang dapat digunakan untuk menggambarkan kromatografi fase terikat gas ). Berbagai jenis kromatografi gas yaitu

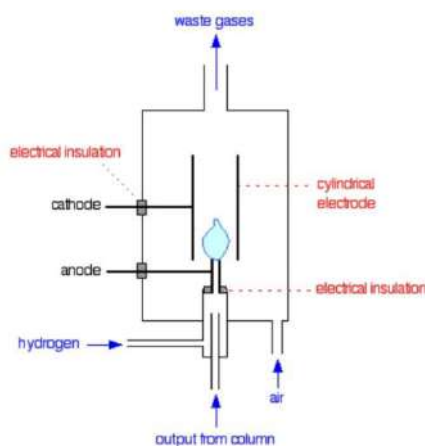
## **7.2 Kromatografi Gas-Cair (*Gas-Liquid*)**

Kromatografi jenis ini paling umum digunakan dalam penelitian untuk dapat memisahkan senyawa kimia. Untuk memisahkan senyawa dalam kromatografi gas-cair, sampel larutan yang mengandung senyawa organik yang diinginkan disuntikkan ke port sampel di mana ia akan diuapkan. Sampel menguap yang disuntikkan kemudian dibawa oleh gas inert, yang sering digunakan oleh helium atau nitrogen. Gas inert ini melewati kolom kaca yang dikemas dengan silika yang dilapisi dengan cairan. Bahan yang kurang larut dalam cairan akan meningkatkan hasil lebih cepat daripada bahan dengan kelarutan yang lebih besar.



**Gambar 7.2.** Skema aliran untuk kromatografi Gas .

Untuk kromatografi gas-cair ada dua kolom salah satunya tabung tipis panjang dalam fase diam dan kolom lainnya terdapat pada permukaan dalamnya. Suhu kolom yang dapat divariasikan berkisar 50°C hingga 250°C lebih dingin dari oven injector, sehingga beberapa komponen campuran dapat mengembun di awal kolom.



**Gambar 7.3.** Detektor kromatografi gas-cair by: Chem.libertext.org

Saat terbakar, ia akan menghasilkan sejumlah kecil ion dan elektron dalam nyala api. Ion positif akan tertarik ke katoda silinder. Ion negatif dan elektron akan tertarik menuju pancaran itu sendiri yang merupakan anoda. Ini hampir sama dengan apa yang terjadi selama elektrolisis normal. Arusnya tidak akan terlalu besar, tetapi dapat diperkuat. Semakin banyak senyawa organik yang ada dalam nyala api, semakin banyak ion yang akan dihasilkan, dan semakin tinggi arusnya. Sebagai perkiraan yang masuk akal, terutama jika berbicara tentang senyawa serupa, arus yang diukur sebanding dengan jumlah senyawa dalam nyala. Kekurangan dari detektor ionisasi nyala adalah menghancurkan semua yang keluar dari kolom saat mendeteksinya. Jika Anda ingin mengirim produk ke spektrometer massa, misalnya, untuk analisis lebih lanjut, Anda tidak dapat menggunakan detektor ionisasi nyala.

### 7.3 Kromatografi Fase Terikat Gas (*Gas Bonded Phase*)

Kromatografi fase terikat adalah metode kromatografi cair-cair di mana fase diam secara kovalen terikat pada partikel pembawa, yang mengatasi kejutan mekanis dalam kromatografi distribusi, kehilangan fase diam yang konstan, dan perubahan bertahap dari sifat fase diam.

Keuntungan Kromatografi Fasa Berikat:

1. Hilangkan titik aktif permukaan pada penyangga dan hapus beberapa aktivitas katalitik yang mungkin;
2. Stabilitas termal yang baik; suhu tinggi dapat meningkatkan laju perpindahan massa, sehingga meningkatkan efisiensi kolom, seperti aplikasi dalam obat peptida kecil;
3. Tahan terhadap pencucian pelarut, fase diam tidak akan hilang selama penggunaan (ini juga relatif berbicara, fase diam masih akan hilang setelah waktu yang lama atau di luar cakupan penggunaan);
4. Modifikasi permukaan fleksibel, mudah untuk mendapatkan produk berulang (mengontrol kualitas silika gel dan proses bonding);
5. Beban sampel besar, yaitu sekitar urutan besarnya lebih tinggi dari gel silika biasa;
6. Efek residu pelarut kecil, dan keseimbangan elusi gradien cepat.



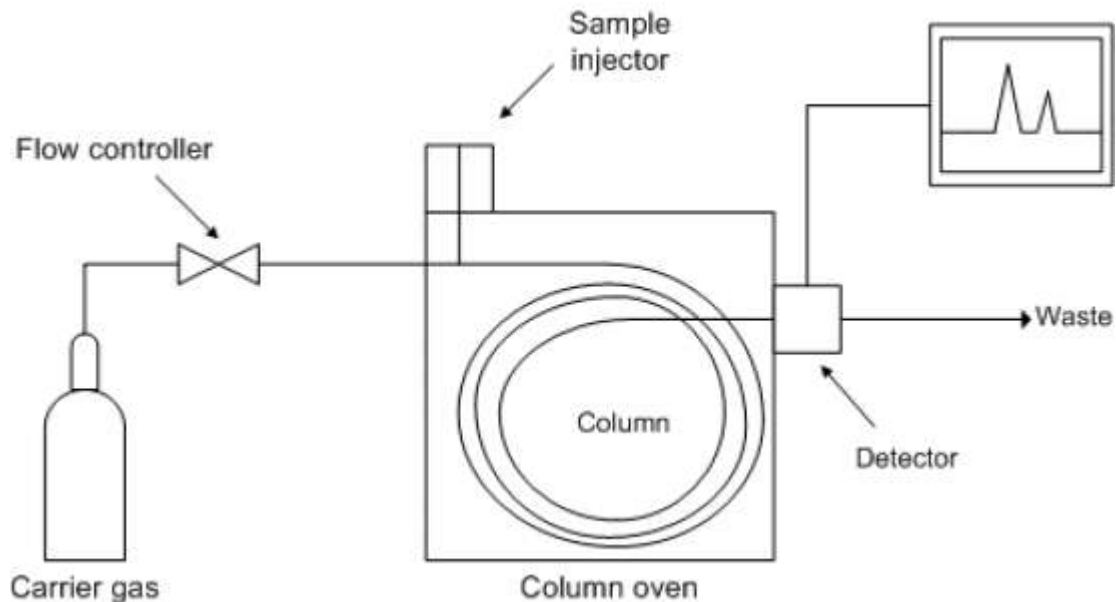
**Gambar 7.4.** Quickstart

Untuk sampel yang sangat polar, gunakan pengisi gel silika fase terikat C18, C8, amino, siano atau butil, oktil, agarosa fase terikat fenil dan pengisi dekstran, atau pengisi polimer, Pemisahan terbalik. Untuk sampel dengan polaritas sedang dan rendah, pemisahan fase normal atau pemisahan kromatografi hidrofilik menggunakan pengisi silika gel yang mengandung gugus amino, berbasis diol, dan termodifikasi permukaan. Untuk sampel dengan berat molekul tinggi, pengecualian ukuran (filtrasi gel) dilakukan dengan pengepakan agarosa dan dekstran atau gel silika. Sampel struktural spesifik, matriks pengisi opsional termasuk agarosa dan dekstran yang mengandung polimerisasi logam, kopling aktivasi, afinitas ligan kecil, afinitas antibodi, fase ikatan afinitas pigmen, dan kelompok paduan suara, mahkota Kemasan polimer fase terikat polimer, dipisahkan oleh kromatografi afinitas. Sampel yang dapat terionisasi, metode pertukaran ion, dan matriks

pengisi dipisahkan dan dimurnikan dengan agarosa dan dekstran yang mengandung fase terikat SP.Q.CM.DEAE, gel silika, dan resin epoksi polimer dengan pertukaran ion.

#### 7.4 Kromatografi Gas ( Padatan Gas)

Kromatografi gas padat adalah teknik kromatografi di mana fase diam dalam keadaan padat dan fase gerak dalam keadaan gas. Fase diam dari teknik kromatografi adalah senyawa yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran.



**Gambar 7.5.** Sketsa Alat Kromatografi Gas

Kromatografi gas padat digunakan untuk pemisahan komponen volatil dalam campuran. Dalam teknik ini, campuran dan fase gerak berada dalam keadaan gas. Fase gerak dan campuran yang akan dipisahkan dicampur satu sama lain. Kemudian campuran ini dilewatkan melalui fase diam padat. Fase diam diterapkan pada dinding bagian dalam tabung yang dikenal sebagai kolom kromatografi. Molekul-molekul fase diam dapat berinteraksi dengan molekul-molekul dalam fase gerak.

Ada keuntungan menggunakan kromatografi gas padat dibandingkan kromatografi gas cair. Kromatografi gas padat dapat digunakan pada suhu tinggi karena volatilitas rendah dan stabilitas tinggi.

Keuntungan Kromatografi GC:

- Karena efisiensinya yang tinggi, GC memungkinkan pemisahan komponen campuran kompleks dalam waktu yang wajar.
- Kuantisasi akurat (biasanya diperoleh puncak tajam yang dapat direproduksi)
- Teknik dewasa dengan banyak catatan aplikasi yang tersedia untuk pengguna.

- d. Tersedia beberapa detektor dengan sensitivitas tinggi (ppb), yang juga dapat digunakan secara seri dengan spektrometer massa karena MS adalah teknik non-destruktif.

### 7.5 Kegunaan Kromatografi Gas

Kegunaan Kromatografi Gas ini dipakai untuk analisis kimia dalam pemisahan senyawa dimana bisa menguap tetapi tidak mengalami dekomposisi dan juga berguna untuk uji kemurnian senyawa tertentu dan memisahkan komponen yang beda pada campuran.

Kromatografi gas biasanya digunakan untuk memisahkan dan mengukur molekul dan gas organik. Agar teknik berfungsi, komponen yang dianalisis harus mudah menguap, stabil secara termal, dan memiliki berat molekul di bawah 1250 Da.

Sejak penemuannya pada pergantian abad sebelumnya, kromatografi gas telah diadopsi oleh sejumlah besar industri dan sekarang digunakan untuk daftar aplikasi yang semakin berkembang

### 7.6 Pemisahan dan analisis Kromatografi Gas

Kromatografi dilakukan untuk memisahkan campuran sampel yang seringkali kompleks menjadi komponen-komponen individualnya dan untuk memperoleh informasi dalam hal:

- Analisis kualitatif :Komponen apa saja yang ada dalam sampel? Identifikasi komponen sampel individu dapat dinilai dari kromatogram. Parameter yang memberikan informasi untuk identifikasi komponen sampel adalah waktu retensi.
- Analisis kuantitatif :Berapa banyak dari setiap senyawa yang ada? Analisis kuantitatif melibatkan pengukuran jumlah - konsentrasi - komponen sampel. Konsentrasi dapat ditentukan dari luas puncak atau tinggi puncak dalam kromatogram.

Kromatografi banyak digunakan di semua jenis bidang aplikasi, seperti medis, lingkungan, analisis makanan, farmasi, toksikologi, pengujian kualitas, dan banyak lagi. Kromatografi menjadi lebih dan lebih halus dan ditingkatkan setiap hari.

### 7.7 Aplikasi

**Tabel 7.1.** Aplikasi sampel maritim

No	Judul Artikel Jurnal	Hasil Penelitiannya
1	Analisis Kromatografi Gas-Spektrometri Massa Ekstrak Metanol	Analisis mengungkapkan beberapa senyawa bioaktif: undecane; 2-desiloksiran (2,023%); Meti n-tridekanoat; asam n-heksadekanoat (74,198%); asam eikosanoat (2,262%); asam nonanoat (2,084%); asam oleat (6,609%); asam oleat (4,156%); asam pentadekanoat (2,176%);

	Rumput Laut Merah Gracilaria corticata	sepeda [3.2.1] oct-3-en-2-one,3,8-dihydroxy- 1-1methoxy-7-(7-methoxy-1, 3 benzodioxol-5-yl)-6-methyl-5 (2.901 %);N-(5-kloro-2-hidroksifenil) dodekanamida (2,048%); dan cholesta-8,24-dien-3-ol,4-methyl (1,542%).  Gracilaria corticata memiliki potensi terhadap bakteri, jamur, penangkal radikal bebas, dll dan dapat digunakan dalam bidang penemuan dan pengembangan obat.
2	Metabolomik Laut: Metode Pengukuran Metabolit yang Tidak Bertarget di Air Laut dengan Kromatografi Gas – Spektrometri Massa	Mengungkapkan serapan asam amino berturut-turut, sementara gula tidak dikonsumsi. Hasil ini menunjukkan bahwa metabolomik eksoseluler memberikan wawasan tentang penyerapan nutrisi dan konservasi energi pada mikroorganisme laut. Kami juga menerapkan SeaMet untuk menjelajahi in situ metabolisme terumbu karang dan pori-pori sedimen mangrove. Terlepas dari kenyataan bahwa ekosistem ini terjadi di perairan yang miskin nutrisi, kami menemukan konsentrasi tinggi gula dan asam lemak.
3	Analisis Gas Kromatografi-Spektrometri Massa Lamun Laut Thalassodendron ciliatum Dikumpulkan dari Laut Merah	Data yang diperoleh mengungkapkan adanya asam lemak rantai panjang jenuh dan tak jenuh; asam tetradekanoat, asam eikanoat, asam 9,12-heksadekadienoat dan asam 8,11,14-eikosatrienoat, di samping senyawa-senyawa volatil lainnya; 1-heneikosanol, 2,6-bis (1,1-dimetil) fenol dan 1-tridekanol. Senyawa-senyawa ini sebelumnya dinilai untuk bioaktivitas antibakteri, antijamur, antimikroba dan anti-inflamasinya. Jadi, aktivitas antioksidan, anti-inflamasi dan antimikroba yang dilaporkan sebelumnya dari Thalassodendron ciliatum dapat dikaitkan dengan senyawa yang diidentifikasi ini.
4	Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) dan Aktivitas Antioksidan Teripang	Holothurian atra dan Holothurian edulis mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki berbagai aktivitas biologis dan aktivitas antioksidan.

	(Holothurian atra dan Holothurian edulis) Dari Pulau Selayar	
5	Karakterisasi buckthorn laut dengan kromatografi gas-spektrometri massa	Sea buckthorn berry sangat kaya akan senyawa bioaktif lipofilik dan hidrofilik dan merupakan sumber penting bagi industri farmasi dan makanan. Minyak pulp memiliki komposisi khusus dengan kandungan asam palmitoleat yang sangat tinggi, hingga 54% dari total asam lemak, sedangkan minyak bijinya kaya akan asam linoleat dan -linolenat. Senyawa penting lainnya dari minyak buckthorn laut adalah sterol, tokoferol dan tokotrienol dan kandungannya

## 7.8 Intrumen Kromatografi Gas

Instrumen yang digunakan untuk melakukan kromatografi gas disebut kromatografi gas (atau "aerograph" atau "pemisah gas"). Senyawa dalam fase gas yang dianalisis berinteraksi dengan dinding kolom, yang dilapisi dengan fase diam. Intrumen yang digunakan seperti :

1. Gas pembawa harus memiliki sifat-sifat berikut: Sangat murni (>99,9%): inert: densitas lebih tinggi: kompatibel dengan detektor: murah dan tersedia. Tekanan gas pembawa berkisar antara 10-50 psi. → Tergantung pada dimensi kolom, laju aliran dari 1-150 mL/menit dilaporkan. Kolom analitik konvensional biasanya menggunakan laju aliran dalam kisaran 20-50 mL/menit sedangkan kolom kapiler menggunakan laju aliran dari 1-5 mL/menit. Gas yang umum digunakan termasuk nitrogen, helium, argon, dan karbon dioksida.
2. Sistem Injeksi Sampel Injektor tipe septum adalah yang paling umum. Ini terdiri dari tabung kaca di mana penguapan sampel terjadi. Sampel dimasukkan ke dalam injektor melalui septum karet silikon yang dapat menyegel sendiri. Gas pembawa mengalir melalui injektor membawa zat terlarut yang menguap. Suhu injektor harus disesuaikan sehingga terjadi penguapan kilat dari semua zat terlarut. Jika suhu injektor tidak cukup tinggi (setidaknya 50 derajat di atas komponen titik didih tertinggi), pelebaran pita akan terjadi.  
Ruang Penguapan Jarum Suntik Gas Pembawa Ke Kolom Septum
3. Pengambil Sampel Otomatis → Botol sampel terbuat dari kaca, tipe sekali pakai dengan tutup septum kedap uap. → Sampler menyiram jarum suntik dengan sampel baru untuk

menghilangkan jejak sampel sebelumnya. →Memompa sampel baru untuk membasahi jarum suntik untuk menghilangkan gelembung apa pun, mengambil sampel yang diukur dengan tepat dan memompanya ke kromatografi gas.

4. Pengambilan sampel Purge and Trap Sampel organik yang mudah menguap dapat dibersihkan dari sampel dan dijebak pada Tenax GC yang terdapat dalam tabung 11 cm. Tenax-GC adalah polimer berpori berdasarkan 2,6-difenil-p-fenelen oksida. Sampel trappe dapat dengan mudah disimpan dan dikirim ke situs lain untuk dianalisis. Desorpsi dari Tenax terjadi dengan aliran helium pada 300o C. Volatil yang terdesorbsi kemudian dikumpulkan dalam precolumn yang didinginkan oleh es kering. Per kolom kemudian dihubungkan ke kolom GC, es kering dihilangkan dan analisis dimulai pada suhu kamar.
5. Teknik Kepala Ruang. Ini melibatkan analisis komponen volatil dalam campuran kompleks dan kental yang mengandung proporsi tinggi komponen non-volatil. Untuk analisis kuantitatif, kalibrasi volatil dalam uap diperlukan. Untuk mencapai keadaan ini sampel ditempatkan dalam botol kaca dan termostat. Ketika kesetimbangan tercapai, alikuot fase gas di atas sampel dengan cepat dipindahkan ke kolom GC. Semua perangkat yang biasa digunakan untuk pengambilan sampel gas dapat diterapkan pada analisis ruang kepala, termasuk spuit kedap gas dan katup pengambilan sampel gas.

## 7.9 Parameter yang Digunakan Kromatografi Gas

Parameter yang dapat ditentukan langsung dari kromatogram adalah waktu retensi ( $t_r$ ) dan lebar alas ( $w_b$ ) atau lebar setengah tinggi ( $w_{0.5}$ ). Menggunakan Persamaan (7) jumlah pelat teoritis,  $N$ , dapat ditentukan untuk memberikan ukuran efisiensi kolom yang bergantung pada  $k'$  untuk zat terlarut yang dianalisis. Dengan memperoleh  $t_m$  untuk zat terlarut yang tidak tertahan, waktu retensi yang disesuaikan  $t'_r$  dapat ditentukan dan jumlah pelat teoritis efektif yang diperoleh dengan mengganti  $t_r$  dengan  $t'_r$  dalam Persamaan (7).

Volume retensi  $V_r$  dapat ditentukan dengan mengukur laju aliran volumetrik  $F_r$  pada pintu keluar kolom menggunakan persamaan,

$$V_r = F_r \cdot t_r$$

Volume retensi,  $V_r$ , dapat dikoreksi untuk efek kompresi gas dan dengan demikian

$$V_r^o = jF_r \cdot t_r$$

di mana  $j$  adalah faktor kompresibilitas James-Martin, lihat James dan Martin (1952).

Volume retensi spesifik  $V_g$  hanya bergantung pada densitas  $SP$ , dan suhu kolom dan telah banyak digunakan untuk mengkarakterisasi zat terlarut pada kolom dengan  $SP$  dengan polaritas yang sangat berbeda. Resolusi  $R_s$  dari dua zat terlarut A dan B (zat terlarut yang bergerak lebih lambat) didefinisikan dalam hal waktu retensi dan lebar basa sebagai berikut,



$$R_s = 2 \left( \frac{t_r - t_r}{w_b - w_b} \right)$$

dan pemisahan lengkap didefinisikan pada  $R_s = 1,5$ .  $R_s$  sebanding dengan  $N$  dan  $N$  bertambah dengan faktor 2 ketika panjang kolom digandakan. Selektivitas, adalah ukuran kapasitas kolom untuk memisahkan dua zat terlarut yang dielusi dan ditentukan oleh rasio.

$$\frac{K'_B}{K'_A} = \frac{K'_B}{K'_A} = \frac{t'_r}{t'_r}$$

Kesulitan dalam pemisahan dua zat terlarut A dan B meningkat sebagai pendekatan kesatuan.

#### 5) Pengenceran

Proses GC harus dilakukan pada sampel yang sangat encer. Sampel encer memungkinkan keseimbangan fase diam-gerak yang memadai di dalam kolom, menghasilkan puncak berbentuk Gaussian yang sempit. Jika sampel terlalu pekat, bentuk puncak akan sering melebar dan rata di atasnya (Gambar 2.87a), menunjukkan kolom (dan/atau detektor) telah kewalahan. Kelimpahan yang sesuai (sumbu y pada spektrum GC) menggunakan detektor spektrometer massa harus dalam jutaan rendah. GC tidak boleh dijalankan pada cairan yang tidak diencerkan. Sampel yang terlalu pekat tidak hanya menyebabkan puncak melebar dan mungkin tumpang tindih, tetapi juga dapat berbahaya bagi detektor. Spektrometer massa membutuhkan cairan dalam jumlah yang sangat kecil, atau seiring waktu, filamennya terdegradasi.

#### 6) Solvent Delay (Dengan Spektrometer Massa)

Sampel GC yang disiapkan dengan benar mengandung sejumlah kecil senyawa yang dilarutkan dalam pelarut, namun spektrum GC (bila dipasangkan dengan detektor spektrometer massa) sering tidak menunjukkan puncak pelarut. Alasannya adalah bahwa metode GC sering menyertakan "penundaan pelarut", di mana detektor dimatikan sampai sejumlah waktu tertentu telah berlalu setelah injeksi. Bahkan dengan pengenceran di dalam instrumen GC-MS, jumlah pelarut yang mencapai detektor akan membanjiri dan akhirnya menurunkannya. Oleh karena itu, detektor dibiarkan tidak aktif sampai pelarut melewati kolom, dan diaktifkan setelahnya. Jika Anda melihat spektrum GC-MS, waktu retensi (sumbu x) tidak pernah dimulai pada menit nol, yang menunjukkan waktu sampel disuntikkan ke kolom. Dalam spektrum GC heksana, spektrum dimulai pada 1,40 menit.

#### 7) Suhu oven

Suhu oven GC adalah variabel yang mudah disesuaikan (meskipun harus disesuaikan oleh instruktur, bukan siswa). Suhu oven memiliki efek dramatis pada waktu retensi, mirip dengan perubahan fase gerak di TLC. Untuk mendemonstrasikan, sampel yang

mengandung heptana, oktana, nonana, dan dekana dijalankan menggunakan tiga metode GC, hanya berbeda dalam suhu awalnya.

#### 8) Menggunakan Temperatur Ramp

GC dapat dijalankan pada satu suhu oven sepanjang waktu (proses "isotermal"), atau metode ini dapat mencakup pemrograman suhu. Dalam metode terprogram, suhu dapat tetap untuk jangka waktu tertentu, dan kemudian dapat mencakup "jalan", di mana suhu meningkat pada tingkat yang stabil selama proses. Pemrograman suhu berguna karena semakin lama suatu senyawa berada di kolom, semakin luas ia terelusi saat difusi memperluas sampel (analog dengan bagaimana bintik melebar selama elusi dalam KLT).

### **7.10 Evaluasi**

---

1. Apa keuntungan dari Kromatografi Gas?
2. Bagaimana fase gerak digunakan oleh Kromatografi Gas ?
3. Apa itu Kromatografi Gas?
4. Apa kegunaan Kromatografi Gas?
5. Bagaimana Pemisahan dan analisis (analisis Kualitatif dan Analisis Kuantitatif)?
6. Apa saja yang bisa dihasilkan para peneliti dengan menggunakan sampel maritime dari Kromatografi Gas ?
7. Apa instrumen yang dipakai dalam kromatografi gas?

# BAB 8

## PEMISAHAN KIMIA DALAM ASPEK KEMARITIMAN

---

---

### 8.1 Aplikasi Pada Sampel Maritim

---

1. Perbandingan Peningkatan fluiditas kromatografi cair yang dengan kromatografi cair untuk enansioseparasi turunan -laktam.

Makalah ini menjelaskan studi delapan turunan rasemat -laktam dengan tujuan membandingkan tiga mode kromatografi cair yang merupakan mode fase terbalik, mode fase normal dan kutub mode kromatografi pelarut organik dengan kromatografi cairan super/subkritis dan cairan fluiditas yang ditingkatkan kromatografi dalam kondisi ekstrim yaitu ketika persentase CO<sub>2</sub> praktis nol. Untuk penelitian ini dua CPS dipilih. Chiralcel OD-H digunakan dalam kondisi KCKT dan Chiralcel OD-H dan Lux Cellulose-2 digunakan dalam kondisi SFC. Dilaporkan dalam karya ini bahwa pengenalan substituen klorin pada polisakarida berbasis selektor berkontribusi pada peningkatan enantioselektivitas dalam kromatografi cairan superkritis (SFC) dibandingkan dengan kolom fenil karbamat tersubstitusi yang menyumbangkan elektron, memungkinkan pemisahan lengkap tujuh analit dari delapan.

Pengaruh kondisi kromatografi cair fluiditas yang ditingkatkan, digambarkan sebagai mode perantara antara KCKT dan SFC juga dieksplorasi. Dalam hal ini, komposisi fase gerak mulai dari 80% CO<sub>2</sub> diganti dengan hampir 100% etanol pada akhirnya, pengujian ini mencapai perluasan lebih lanjut dari rentang polaritas ponsel fase dalam satu putaran dan berhasil memungkinkan analisis simultan dan pemisahan ras. Dibawah fase gerak yang terdiri dari 99% etanol, nilai resolusi turunan -laktam pada Lux Cellulose-2 CSP, terdiri antara 1,91 dan 3,44. Nilai debit tinggi, mulai dari 4 mL/menit hingga 10 mL/menit juga dievaluasi untuk beberapa analit pada Lux Cellulose-2 CSP yang sangat kuat, yang mengarah ke resolusi yang sama dengan 6,24 untuk senyawa 6 dan 4,64 untuk senyawa.

2. Kandungan Vitamin D dari Tanaman Pangan Asli Australia dan Rumput Laut yang Dapat Dimakan di Australia

Dalam penelitian ini, dilakukan pengukuran kandungan vitamin D dari tanaman pangan asli Australia dan rumput laut yang dapat dimakan yang ditanam di Australia. Menggunakan

kromatografi cair dengan massa triple quadrupole spektrometri, 13 sampel (termasuk daun, buah, dan biji) dianalisis dalam rangkap dua untuk vitamin D2, vitamin D3, 25-hidroksivitamin D2, dan 25-hidroksivitamin D3. Jumlah yang terdeteksi adalah rendah; namun, ada kemungkinan paparan radiasi ultraviolet dapat meningkatkan kandungan vitamin D tanaman dan ganggang jika prekursor vitamin D ada.

5. Ekstraksi dan analisis asam amino bebas dan 5'-nukleotida, kuncinya kontributor rasa umami pada rumput laut

Menilai rasa umami rumput laut pada tingkat kimia dapat menginformasikan penggunaan dan pemilihan rumput laut di Eropa. masakan talian. Oleh karena itu, kami mengembangkan metode untuk ekstraksi simultan, pembersihan terpisah dan analisis 21 asam amino bebas dan 10 nukleotida bebas masing-masing oleh fase terbalik dan KCKT mode campuran. Dari beberapa pelarut meniru mulut, mengekstraksi di Milli-Q pada 35 C ditemukan paling cocok. Metode ini menunjukkan linearitas yang baik ( $R^2 > 0,9996$ ), resolusi ( $R_s 1,5$ ) dan batas deteksi picomole, dan berhasil diterapkan pada menentukan Equivalent Umami Concentration (EUC) dan Taste Activity Values (TAV) tujuh rumput laut Belanda jenis.

6. Studi metabolisme senyawa capsaicinoid dalam sampel urin dengan mikroekstraksi cair-cair dispersif dan kromatografi cair kinerja ultra-tinggi dengan spektrometri massa quadrupole time-of-flight

Makalah ini menyajikan metode analisis baru berdasarkan dispersif liquid-liquid microextraction (DLLME) dan kromatografi cair kinerja sangat tinggi dengan spektrometri massa resolusi tinggi (UKCKT-HRMS) digunakan untuk penentuan capsaicin (CAP), dihydrocapsaicin (DCAP) dan N-vanillylnonanamide (PCAP) pada manusia air seni. Kehadiran senyawa ini dalam urin dapat disebabkan oleh pemberian topikal berbasis capsaicin farmasi, antara lain. Untuk prakonsentrasi analit, 600 L metil isobutil keton (ekstraktan) dan 1500 L etanol (dispersan) ditambahkan ke 7,5 mL sampel. Fase organik yang diperkaya adalah diuapkan, dilarutkan dalam 150 L asetonitril dan disuntikkan ke dalam sistem kromatografi dengan menerapkan program elusi isokratik. Deteksi dilakukan dengan menggunakan ionisasi elektro spray dalam mode positif dan quad- spektrometri massa waktu terbang ruple (ESI-Q-TOF-MS). Efek matriks diamati dengan perilaku serupa untuk urin yang berbeda dipelajari, sehingga metode kalibrasi matriks-cocok diterapkan untuk tujuan kuantifikasi. Validasi metode menunjukkan batas deteksi (LODs) sebesar 8,0, 1,5 dan 0,9 g L<sup>-1</sup> untuk PCAP, CAP dan DCAP, masing-masing. Pengulangan dievaluasi menggunakan standar deviasi relatif, dengan nilai antara 5,3 dan 7,4%. Prosedur DLLME memberikan faktor pengayaan antara 60 dan 64 untuk analit. Metode yang dikembangkan diterapkan pada analisis urin yang

dikumpulkan dari orang yang diobati dengan obat topikal berbasis CAP dan tidak ada analit yang ditargetkan ditemukan dalam sampel yang dianalisis, setidaknya di atas LOD yang sesuai. Selain itu, tidak metabolit capsaicinoid terdeteksi dalam analisis non-target di bawah kondisi eksperimental yang sama.

#### 7. Kajian sifat sistem dalam kromatografi cair fase terbalik untuk komposisi fase gerak pelarut biner dan terner menggunakan model parameter solvasi

Peta sistem untuk konstanta sistem individual dari model parameter solvasi dan lima pelarut biner yang mengandung menggunakan 20–70% (v/v) asetonitril, aseton, metanol, 2-propanol, dan tetrahidrofurana pada satu oktadesilsiloksan kolom silika terikat (Luna C18) digunakan untuk memberikan wawasan tentang variasi sifat sistem dengan komposisi fase empedu dan jenis pelarut. Perbedaan selektivitas didominasi oleh variasi ukuran zat terlarut dan kebiasaan ikatan hidrogen dengan variasi yang bergantung pada pelarut dalam interaksi tipe dipol dan asam ikatan hidrogen. Di interaksi yang melibatkan elektron pasangan bebas hanya penting dalam kasus alkohol dan pada tingkat lebih rendah tetrahidrofurana. Perbedaan selektivitas juga tergantung pada kekuatan pelarut. Untuk memperluas ruang selektivitas empat sistem pelarut terner (asetonitril-metanol-air, asetonitril-2-propanol-air, metanol-tetrahidrofurana-air, dan tetrahidrofurana-2-propanol-air) 1:1:2% (v/v) mengandung 50% (v/v) total pelarut organik dibandingkan dengan sistem pelarut biner pada komposisi pelarut organik yang sama. Tidak ada model sederhana yang menghubungkan sifat sistem pelarut terner ke sistem pelarut biner, tetapi ditunjukkan bahwa sistem pelarut terner memperluas ruang selektivitas yang tersedia untuk pemisahan fase terbalik. Proposisi sol-Sifat pelarut organik curah memberikan informasi yang tidak cukup untuk memprediksi selektivitas dalam KROMATOGRAFI FASE CAIR karena kontribusi dominan air dan efek yang terkait dengan solvasi selektif fase diam dan kemungkinan perubahan struktur mikro yang bergantung pada pelarut dari fase gerak.

#### 8. Kontrol Mekanisme Retensi Pada Kolom Silika Terikat Oktadesil Menggunakan Fase Gerak Berbasis Cairan Ionik Dalam Analisis Obat Sitostatik Dengan Kromatografi Cair

Studi ini menilai potensi penggunaan cairan ionik (ILs) sebagai aditif fase gerak untuk mengontrol mekanisme retensi empat obat sitostatik: doksorubisin hidroklorida (DOX), epirubisin hidroklorida (EPI), daunorubisin hidroklorida (DAU) dan idarubisin hidroklorida (IDA). Pemisahan kromatografi dilakukan pada kolom analitik C18 (Penemuan C18 150×4,6 mm, 5 m) menggunakan enam anion IL dan empat kation IL tersubstitusi metil dengan panjang rantai alkil yang berbeda (sendiri atau dengan gugus metil tambahan pada cincin aromatik), atau dengan gugus alil yang ditambahkan sebagai substituen kationik. Dengan demikian, total 17 IL yang berbeda dinilai. Larutan asam format berair dan buffer fosfat digunakan untuk membandingkan bagaimana

komposisi fase gerak mempengaruhi perilaku agen sitostatik yang dianalisis dengan adanya ILS. Selain itu, pengaruh konsentrasi IL, konsentrasi buffer fosfat, dan pH buffer fosfat pada hasil akhir juga dipertimbangkan. Kemampuan untuk mengubah retensi analit tanpa berdampak negatif pada bentuk puncak atau efisiensi analitis juga dikendalikan melalui faktor tailing dan jumlah pelat teoritis.

#### 9. Cairan Kinerja Tinggi Fase Terbalik Pasangan Ion Kromatografi Klorofil Alga

Perilaku kromatografi klorofil alga di bawah pasangan ion fase terbalik kondisi kromatografi cair telah diuji baik pada monomer dan polimer kolom octadecylsilica. Tiga senyawa amino berkarbon lima (pentilamin, piperidin) dan piridin), berbeda dalam bentuk molekul dan sifat kimianya, telah digunakan sebagai counterion. Kolom octadecylsilica monomer tidak memungkinkan pemisahan klorofil c1 dan c2 dengan amina apapun, tetapi memisahkan klorofilida a, klorofil c3 dan Mg divinylpheoporphyrin a5 ketika pyridinium acetate digunakan sebagai agen pasangan ion. Kolom octadecylsilica polimer memisahkan klorofil c1 dan c2 dengan tiga counterion, mencapai retensi tertinggi dan pemisahan keseluruhan klorofil asam ketika pyridinium digunakan sebagai counterion.

#### 10. Pemisahan Preparatif Satu Langkah Fucoxanthin Dari Tiga Alga Coklat Yang Dapat Dimakan Dengan Elusi-Ekstrusi Kromatografi Arus Balik

Sebuah metode untuk persiapan batch fucoxanthin dari ganggang coklat didirikan, yang: memiliki keunggulan hasil tinggi dan kemurnian tinggi. Metode ekstraksi berbantuan ultrasonik digunakan untuk mendapatkan ekstrak kasar dari *Sargassum fusiforme* sebagai sampel pemisahan.

Kemudian ekstrak kasar dipisahkan dengan kromatografi elusi-ekstrusi countercurrent. yang optimal kondisi persiapan fucoxanthin ditentukan sebagai berikut: n-heksana-etanol-air (20:9:11.) sebagai sistem pelarut dua fase, laju aliran fase gerak adalah 5 mL min<sup>-1</sup>, revolusi kecepataannya adalah 800 r mnt<sup>-1</sup>, kapasitas pemuatan adalah 60 mg 10 mL<sup>-1</sup> dan suhu 25 C.

Dengan metode ini diperoleh 12,8 mg fucoxanthin dengan kemurnian 94,72% dari ekstrak kasar *Sargassum fusiforme*. Selain itu, ketika kapasitas pemuatan adalah 50 mg 10 mL<sup>-1</sup>, kemurnian fukosantin mencapai 96,01%. Dua jenis produk sampingan, klorofil dan feofitin, juga dapat diperoleh selama proses pemisahan.

Metode optimal ini selanjutnya diterapkan untuk memisahkan fucoxanthin dari *Laminaria japonica* dan *Undaria pinnatifida*, serta 6.0 mg dan 9.7 mg fucoxanthin dengan kemurnian 96,24% dan 92,62% diperoleh, masing-masing. Oleh karena itu, ditunjukkan bahwa metode preparasi fukosantin yang ditetapkan dalam penelitian ini dapat diterapkan pada alga coklat, yang meningkatkan nilai pemanfaatan bahan baku.

### 11. Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Semua jenis rumput laut terdapat sebuah variasi warna tallus yang dimana ini akan mempengaruhi oleh perbedaan jenis ataupun kandungan dari pigmen rumput laut yang terkandung didalam masing-masing jenis rumput laut. Dalam jurnal ini sebanyak lima jenis dari berbagai rumput laut dilakukan sebuah analisa dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan alat kromatografi yang mendukung dimana untuk menemukan komposisi dan kandungan pigmen fukosantin. Dengan kromatografi cair kinerja tinggi dengan fase terbalik ditemukan sebanyak 19 hingga 27 jenis pigmen itu telah memisahkan diri dari sargassum, dll secara bergantian dengan elusi gradien antara metanol hingga larutan amonium asetat. Kandungan yang ada dalam fukosantin itu ditentukan dengan berbagai jenis rumput laut yang digunakan sebagai sampel penelitian dalam jurnal ini berdasarkan dengan persamaan garis dan kurva pada kromatografi.

### 12. Karakteristik Adsorpsi Resin Berpori Makro untuk Penghilangan Minyak dari Air Limbah Desulfurisasi di Kapal

Menurut hasil sebelumnya pada sistem pembersihan gas buang berbasis magnesium (Mg-EGCS), PAH dan kandungan minyak total merupakan faktor utama yang mempengaruhi COD dalam air limbah. Dalam proses ini, tiga jenis bahan adsorpsi diselidiki dan resin berpori makro dipilih untuk menghilangkan minyak. Pengaruh dosis resin berpori, waktu adsorpsi dan laju alir, dan persamaan termodinamika digunakan untuk mengkarakterisasi proses adsorpsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa resin berpori makro adalah kandidat yang baik untuk menghilangkan minyak dari air limbah desulfurisasi di atas kapal, dan COD setelah perawatan dapat memenuhi kriteria pembuangan yang ditetapkan oleh Organisasi Kelautan Internasional (IMO).

### 13. Tinjauan Prosedur yang Melibatkan Pemisahan dan Fase Padat Ekstraksi untuk Penentuan Kadmium Menggunakan Teknik Spektrometri

Untuk analisis kadmium, toksisitas metode spektroskopi meningkat karena pengukuran tingkat rendah ini dilakukan di berbagai sampel. Ini mempelajari metode pemisahan dan pra-konsentrasi dari analisis metode spektroskopi untuk mendeteksi kadmium dalam sampel air. Mempertimbangkan jumlah jejak ion kadmium dalam analisis sampel berair, metode harus sesuai yang digunakan. Dari masa lalu, ahli kimia telah mencoba untuk menemukan fase padat untuk memulihkan analit dari matriks air. Metode eksperimen SPE adalah metode standar untuk analisis logam berat seperti ion kadmium dalam sampel air. Kadmium dikenal di seluruh dunia sebagai logam beracun. Oleh karena itu, seringkali perlu untuk menentukan elemen ini dalam sampel lingkungan, biologi, makanan dan pertanian. Namun, analisis adalah sulit karena jumlah sampel kadmium relatif kecil, kecuali untuk jumlah jejak. Pengukuran dilakukan dengan spektrometri

serapan atom api dan optik plasma yang digabungkan secara induktif spektrometri emisi. Untuk itu, beberapa metode prakonsentrasi untuk penentuan ion kadmium, termasuk ekstraksi fase padat, kopresipitasi dan ekstraksi titik awan, telah ditinjau. Sejarah singkat Penggunaan ekstraksi fase padat dalam analisis ion kadmium dalam sampel air.

14. Mikroekstraksi Karbaril Fase Padat Dispersi Berbasis Kerangka Organik dari Makanan dan Air Sebelum Deteksi dengan Kromatografi Cair Kinerja Ultra-Spektrometri Massa Tandem Kerangka organik logam (MOF berbasis A100 Al) digunakan dalam mikroekstraksi fase padat dispersif (DSPME) untuk isolasi dan prakonsentrasi karbaril dari sampel sayuran, buah, dan air. MOF berbasis A100 Al menunjukkan perilaku yang sangat baik untuk adsorpsi karbaril dari larutan air-etanol; selain itu, karbaril mudah didesorpsi dengan etil asetat untuk dideteksi dengan kromatografi cair kinerja ultra-spektrometri massa tandem (UPLC-TMS). Proses analitik DSPME bersama dengan UPLC-TMS menyediakan pemantauan yang akurat dari jejak residu karbaril. Hasil menunjukkan bahwa perolehan kembali karbaril yang optimal diperoleh pada sampel pH nyata 5, dengan penerapan 1 mL etil asetat untuk mengelusi karbaril dari MOF berbasis A100 Al. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) adalah masing-masing 0,01mg.L<sup>-1</sup> dan 0,03mg.L<sup>-1</sup>. %RSD adalah 0,8-1,9, dan faktor prakonsentrasi adalah 45. DSPME dan UPLC-TMS berhasil digunakan untuk isolasi dan deteksi karbaril dalam sampel makanan dan air.

#### **15. Air, listrik dan pertukaran ion; bagaimana hamish small mempertahankan evolusi kromatografi ion**

Sejak pengembangan resin penukar ion sintetis pada tahun 1935, sifat elektrokimia yang unik ini telah menarik minat peneliti. Pada tahun 1951, Hamish Small diperkenalkan ke resin penukar ion sintetis ketika:dia mempelajari elektromigrasi kation dalam material baru ini. Pada tahun 1955, ia mulai bekerja di pertukaran iondivisi Laboratorium Penelitian Fisika di Dow Chemical. Pada tahun 1975, Kecil dan rekan kerja menggambarkan barualat analisis, kromatografi ion, yang akan merevolusi analisis ion. Dua puluh tahun setelah iklanpengenalan kromatografi ion, Small menunjukkan bagaimana tempat resin penukar ion yang terpolarisasi secara elektrikdapat digunakan untuk menghasilkan eluen asam atau basa menggunakan air sebagai fase yang dipompa. Hari ini, penemuan Smalltetap menjadi teknologi inti dalam sistem kromatografi ion mutakhir untuk produksi eluen elektrolitik,pemurnian, dan supresi.

16. Varian hemoglobin umum di taiwan selatan dan pengaruhnya terhadap penentuan hbA1c oleh kromatograficairan kinerja tinggi (pertukaran ion)

**Latar Belakang:** Pasien dengan varian hemoglobin (Hb) dapat menghasilkan pengukuran HbA1c yang salah. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi varian Hb yang umum di Taiwan selatan dan mengevaluasi pengaruhnya terhadap penentuan HbA1c.



**Metode:** Sebanyak 1.434 sampel yang dikumpulkan untuk pengukuran HbA1c di Rumah Sakit Umum Veteran Kaohsiung di Taiwan selatan pada Maret 2008 diserahkan untuk analisis varian Hb oleh Primus CLC-385. Pengukuran HbA1c diperoleh dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi penukar ion (HPLC) (Tosoh HLC-723 G7) untuk analisis rutin. Pasiendiidentifikasi dengan varian Hb dipanggil kembali untuk analisis HPLC afinitas boronat. Nilai estimasi glukosa rata-rata (eAG) dikonversi dari HbA1c. Nilai eAG-FPG, dihitung dengan eAG dikurangi glukosa plasma puasa (FPG), dibandingkan untuk memperkirakan keakuratan pengukuran HbA1c pada pasien dengan varian Hb.

**Hasil:** Di antara 1.434 pasien, rerata  $\pm$  standar deviasi FPG adalah  $162,8 \pm 60,5$  mg/dL, HbA1c adalah  $8,28 \pm 1,97\%$ , dan eAG adalah  $190,9 \pm 56,6$  mg/dL. Lima varian Hb terdeteksi pada 11 pasien, insidennya adalah 0,76%. Hb J ditemukan pada 4 pasien, Hb G pada 2 pasien, Hb E pada 1 pasien, Hb owari pada 3 pasien, dan hemoglobin janin tinggi. (HbF) pada 1 pasien. Kromatogram HPLC abnormal terlihat di antara pasien dengan Hb J, E, G dan HbF, tetapi tidak pada pasien dengan Hb owari. Pada pasien dengan varian Hb, FPG adalah  $149,5 \pm 39,9$  mg/dL, HbA1c adalah  $7,29 \pm 2,01\%$ , dan eAG adalah  $162,5 \pm 57,7$  mg/dL. Nilai eAG-FPG yang lebih rendah mungkin terjadi pada pasien dengan Hb J dan E, dan pada mereka dengan HbF tinggi. Pada scattergram hubungan antara HbA1c dan FPG, plot Hb J, E dan HbF tinggi terletak di bawah garis regresi varian non-Hb. Nilai Hb yang tidak konsisten antara kedua metode hanya diamati di antara beberapa sampel pasien dengan varian Hb.

**Kesimpulan:** Adanya varian Hb dapat mengakibatkan pengukuran HbA1c yang salah. Kemungkinan kehadiran palsu kadar HbA1c yang rendah atau kromatogram HPLC abnormal dengan menggunakan metode pertukaran ion harus diingat.

17. Pengembangan cairan bertekanan tinggi fase terbalik 30 menit yang kuat metode kromatografi untuk mengukur asam amino menggunakan banyak peralatan dan perbandingannya dengan pertukaran ion klinis saat ini

Kami telah mengembangkan metode cepat dan akurat yang menggunakan volume kecil sampel untuk menentukan lebih dari 25 asam amino yang biasanya dilaporkan dalam plasma manusia. Sampel disiapkan dengan satu langkah menggunakan filter putaran untuk menghilangkan protein, menghindari penurunan sensitivitas dari pengenceran dalam presipitasi asam. Menggunakan fase terbalik (RP) Sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dengan O-phthaldehyde (OPA) sebagai pra-kolom reagen derivatisasi, dan deteksi UV pada 338 nm, kami melakukan perbandingan langsung dengan ion yang paling umum. metode pertukaran/ninhidrin yang digunakan di laboratorium klinis pada sampel plasma yang sama dengan persetujuan 95%, analisis larutan standar asam amino menghasilkan 99% persetujuan. Dengan waktu preparasi sampel 30 menit, memanfaatkan kurang dari 25 l sampel dan dengan proses kromatografi selama 30 menit,

metode ini dapat meningkatkan akses secara substansial untuk analisis di laboratorium klinis dan penelitian menggunakan instrumen yang lebih banyak tersedia.

18. Pemisahan kromatografi cair kinerja tinggi enantioselektif dari turunan -fenilalanin terfluorinasi menggunakan fase diam penukar ion berbasis alkaloid cinchona fase diam kiral  
Pemisahan enantioselektif dari -fenilalanin tersubstitusi fluor yang baru disintesis telah dilakukan dengan memanfaatkan fase diam kiral penukar ion berbasis alkaloid Cinchona. Eksperimen dirancang untuk mempelajari pengaruh komposisi eluen, kandungan counterion, dan suhu terhadap sifat kromatografi secara sistematis. Sistem fase gerak yang mengandung metanol atau campuran metanol dan asetonitril bersama dengan aditif asam dan basa memastikan enantioseparasi yang sangat efisien. Fase Zwitterionik [Chiralpak ZWIX ( + ) dan ZWIX(-)] ditemukan memberikan kinerja yang unggul dibandingkan dengan penukar anion (Chiralpak QN-AX dan QD-AX). Sebuah karakterisasi termodinamika rinci juga dilakukan dengan menggunakan van't Hoff analysis. Dengan menggunakan kondisi eksperimental kromatografi cair yang khas, tidak ada efek nyata dari laju aliran yang dapat diamati pada parameter termodinamika yang dihitung. Sebaliknya, kecenderungan yang jelas telah terungkap tentang pengaruh komposisi eluen pada termodinamika untuk fase zwitterionic.

#### **19. Akuisisi kurva kemajuan enzimatik secara real time dengan ion bebas pendinginan kromatografi pertukaran ion**

Metode kromatografi pertukaran ion (OIEC) 'online' bebas pendinginan untuk analisis kuantitatif reaksi enzimatik secara real-time. Kami menunjukkan bahwa pendinginan terpisah dari reaksi yang sedang berlangsung dilakukan konvensional tidak diperlukan, karena reaksi enzimatik terganggu pada immobilisasi reaksi senyawa dengan mengikat fase diam kolom penukar ion. Sampel campuran reaksi secara langsung disuntikkan ke dalam kolom, sehingga meningkatkan konsistensi data dan memungkinkan otomatisasi proses. Itu metode ini memungkinkan perolehan kurva kemajuan enzimatik yang andal dan efisien dengan memuat alikotot secara otomatis reaksi yang sedang berlangsung pada titik waktu yang telah ditentukan. Kami mendemonstrasikan penerapan metode ini untuk berbagai reaksi enzimatik.

#### **20. Mengevaluasi pengaruh perawatan pencernaan kimiawi pada mikroplastik polistirena : pembaruan yang direkomendasikan untuk protokol pencernaan kimia**

Menetapkan toksisitas dan konsekuensi paparan mikroplastik (MP) pada organisme laut bergantung pada isolasi plastik yang tidak merusak dari matriks biologis. MP biasanya diekstraksi dari matriks ini dengan pencernaan kimia menggunakan alkali (misalnya, kalium hidroksida (KOH) dan natrium hidroksida (NaOH)), oksidatif (misalnya, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) dan/atau asam (misalnya, asam nitrat (HNO<sub>3</sub>)) reagen . Meskipun kondisi pencernaan ini bisa sangat efektif untuk ekstraksi MP, mereka juga dapat bereaksi dengan plastik. Ini dapat

menghubungkan representasi yang tidak akurat dari kontaminasi plastik dengan mengubah karakteristik visual MP (ukuran, bentuk, warna), sehingga menghambat identifikasi dan berpotensi mengembalikan jumlah partikel yang tertelan yang salah. Dalam studi ini, dampak degradasi dinilai dari reagen pencernaan yang diterapkan secara rutin (i) KOH, (ii) NaOH, (iii) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dan (iv) HNO<sub>3</sub> pada MP berbasis polistirena (PS) berukuran antara 200 μm dan 5 mm. Degradasi PS MP dievaluasi menggunakan FT-IR, kromatografi permeasi gel, NMR, spektroskopi photoluminescence, dan mikroskop. Studi-studi ini mengungkapkan HNO<sub>3</sub> menjadi yang paling merusak untuk MP PS, sedangkan reagen alkali dan oksidatif menghasilkan perubahan sifat plastik yang dapat diabaikan. Hasil ini direkomendasikan untuk digunakan sebagai pedoman untuk memperbarui protokol saat ini untuk memastikan perlakuan tidak merusak anggota parlemen.

#### 21. Karakterisasi dan aplikasi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh laut *Bacillus altitudinis*

Penelitian ini bertujuan untuk mensurvei produksi eksopolisakarida (EPS) pada 29 strain bakteri yang diisolasi dari sedimen di sekitar pohon bakau di kawasan Ras Mohamed, Pantai Laut Merah, Semenanjung Sinai, Mesir. Dua dari strain mampu menghasilkan EPS. Hasil EPS yang lebih tinggi diperoleh dari isolat No. 12. Identifikasi strain menghasilkan kemiripan yang dekat dengan *Bacillus altitudinis*. EPS yang dihasilkan dicirikan sebagai heteropolisakarida yang mengandung asam mannuronat, glukosa, dan sulfat. Sebuah kromatografi permeasi gel digunakan untuk memperkirakan berat molekul EPS yang ditemukan menjadi  $4,23 \times 10^5$  Dalton. Pola khas absorbansi polisakarida didukung oleh spektrum inframerah. EPS tampak signifikan dalam aktivitas antitumor in vitro terhadap dua sel kanker EACC dan kanker paru-paru A-549. Selanjutnya, berbagai bakteri dan jamur dihambat dengan EPS yang dimurnikan.

#### 22. Sifat antijamur dan antioksidan polimer kitosan yang diperoleh dari sumber nontradisional *Polybius henslowii*

Kitin diekstraksi dari *Polybius henslowii*, kepiting renang, ditangkap dalam jumlah besar di seluruh pantai Portugis oleh kapal pukat cincin sebagai tangkapan sampingan. Setelah prosedur ekstraksi kitin standar, produk kitosan yang larut dalam air diperoleh melalui dua metode yang berbeda: (1) N-asetilasi dengan penambahan anhidrida asetat dan (2) reaksi dengan hidrogen peroksida. Struktur kimia dan berat molekul turunan kitosan, kitosan larut air (WSC) dan kitooligosakarida (COS), dikonfirmasi oleh Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) dan gel permeation chromatography (GPC). Aktivitas antioksidan dan khelasi logam dievaluasi, dan kapasitas penghambatan pertumbuhan diuji pada empat fitopatogen. Chitooligosaccharides dari pereopods (pCOS) dan shell body parts (sCOS) menghambat semua spesies jamur yang diuji, terutama *Cryphonectria parasitica* dengan 84,7% dan 85,5%, masing-masing. Pemulungan radikal dan aktivitas antijamur terbukti bergantung pada dosis. Chitooligosaccharides dengan berat molekul rendah (2,7, 7,4, dan 10,4 Kg·mol<sup>-1</sup>) menunjukkan aktivitas tertinggi di antara semua

sifat yang diuji. Hasil ini menunjukkan bahwa turunan kitosan dari bahan baku *P. henslowii* berpotensi digunakan untuk melawan fitopatogen atau sebagai bahan kosmetik dan produk lain yang berhubungan dengan stres oksidatif.

### 23. Analisis Kromatografi Gas-Spektrometri Massa Ekstrak Metanol Rumput Laut Merah *Gracilaria corticata*

**Pendahuluan:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekstrak metanol spesies alga makro merah laut *Gracilaria corticata* menggunakan Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) untuk mengungkap keberadaan berbagai metabolit sekunder dan senyawa bioaktif yang ada dalam alga dan mempelajarinya beragam properti. **Metode:** *Gracilaria corticata* dikumpulkan di sepanjang pantai Mandapam dan diidentifikasi dan diautentikasi. Ekstrak metanol alga disiapkan dan dianalisis menggunakan model GC-MS Perkin-Elmer, Clarus 680 untuk mengungkapkan berbagai bioaktif yang ada dalam alga. **Hasil:** Analisis mengungkapkan beberapa senyawa bioaktif: undecane; 2-desiloksiran (2,023%); Metil n-tridekanoat; asam n-heksadekanoat (74,198%); asam eikosanoat (2,262%); asam nonanoat (2,084%); asam oleat (6,609%); asam oleat (4,156%); asam pentadekanoat (2,176%); sepeda [3.2.1] oct-3-en-2-one,3,8-dihydroxy- 1-1-methoxy-7-(7-methoxy-1, 3 benzodioxol-5-yl)-6-methyl-5(2.901%); N-(5-kloro-2-hidroksifenil) dodekanamida (2,048%); dan cholesta-8,24-dien-3-ol,4-methyl (1,542%). Senyawa bioaktif dari ekstrak metanol alga setelah analisis GC-MS dan sifat obat esensial dipelajari dalam karya penelitian ini. **Kesimpulan:** *Gracilaria corticata* memiliki potensi terhadap bakteri, jamur, penangkal radikal bebas, dll dan dapat digunakan dalam bidang penemuan dan pengembangan obat.

### 24. Metabolomik Laut: Metode Pengukuran Metabolit yang Tidak Bertarget di Air Laut dengan Kromatografi Gas – Spektrometri Massa

Komunitas mikroba bertukar molekul dengan lingkungan mereka, yang memainkan peran utama dalam mengatur siklus biogeokimia global dan iklim. Sementara metabolit ekstraseluler biasanya diukur dalam ekosistem terestrial dan limnik, keberadaan garam di habitat laut membatasi analisis eksometabolom laut yang tidak ditargetkan menggunakan spektrometri massa (MS). Metode saat ini memerlukan penghilangan garam sebelum pengukuran sampel, yang dapat mengubah komposisi molekul metabolom dan membatasi jenis senyawa yang terdeteksi oleh MS. Untuk mengatasi keterbatasan ini, kami mengembangkan metode kromatografi gas MS (GC-MS) yang menghindari perubahan sampel selama penghilangan garam dan yang mendeteksi metabolit hingga konsentrasi nanomolar dari kurang dari 1 ml air laut. Kami menerapkan metode kami (SeaMet) untuk menjelajahi metabolisme laut *in vitro* dan *in vivo*. Pertama, kami mengukur produksi dan konsumsi metabolit selama kultur bakteri heterotrofik, *Marinobacter adhaerens*. Pendekatan kami mengungkapkan serapan asam amino berturut-turut, sementara gula tidak dikonsumsi. Hasil ini menunjukkan bahwa metabolomik eksoseluler memberikan wawasan

tentang penyerapan nutrisi dan konservasi energi pada mikroorganisme laut. Kami juga menerapkan SeaMet untuk menjelajahi in situ metabolisme terumbu karang dan pori-pori sedimen mangrove. Terlepas dari kenyataan bahwa ekosistem ini terjadi di perairan yang miskin nutrisi, kami menemukan konsentrasi tinggi gula dan asam lemak, senyawa yang diperkirakan memainkan peran kunci bagi komunitas mikroba yang melimpah dan beragam di terumbu karang dan sedimen bakau. Data kami menunjukkan bahwa SeaMet memajukan metabolomik laut dengan memungkinkan analisis metabolit laut yang tidak ditargetkan dan kuantitatif, sehingga memberikan wawasan baru tentang siklus nutrisi di lautan.

#### 25. Analisis Gas Kromatografi-Spektrometri Massa Lamun Laut *Thalassodendron ciliatum* Dikumpulkan dari Laut Merah

Organisme laut dianggap sebagai harta karun untuk penemuan metabolit bioaktif. Lamun menyediakan makanan dan habitat bagi organisme laut lainnya. Mereka tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. Lamun *Thalassodendron ciliatum* (Forsk.) dan Hartog adalah jenis lamun yang sangat umum di Laut Merah. Beberapa penelitian telah membuktikan potensi antioksidan, anti-inflamasi dan antimikrobanya. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa Analisis dilakukan untuk identifikasi fitokimia yang ada. Di sini, ini adalah studi pertama yang dilaporkan menjelaskan materi lipoidal fraksi n - heksana T. *ciliatum* menggunakan teknik GC-MS. Data yang diperoleh mengungkapkan adanya asam lemak rantai panjang jenuh dan tak jenuh; asam tetradekanoat, asam eikosanoat, asam 9,12-heksadekadienoat dan asam 8,11,14-eikosatrienoat, di samping senyawa-senyawa volatil lainnya; 1-heneikosanol, 2,6-bis (1,1-dimetil) fenol dan 1-tridekanol. Senyawa-senyawa ini sebelumnya dinilai untuk bioaktivitas antibakteri, antijamur, antimikroba dan anti-inflamasinya. Jadi, aktivitas antioksidan, anti-inflamasi dan antimikroba yang dilaporkan sebelumnya dari *Thalassodendron ciliatum* dapat dikaitkan dengan senyawa yang diidentifikasi ini.

#### 26. Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) dan Aktivitas Antioksidan Teripang.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak *Holothurian atra* dan *Holothurian edulis* menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrum (GC-MS) dan aktivitas antioksidan. Hasil analisis GC-MS memberikan puncak yang berbeda dalam menentukan keberadaan 4 senyawa fitokimia dengan aktivitas terapeutik yang berbeda. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Utamanya, 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (47.29), hexadecanoic acid, methyl ester (28.41), octadecanoic acid, methyl ester (4.47), dan [1,1'-bibicyclo[2.2.2]Octane ]-4-asam

karboksilat (92,11) dan senyawa minor juga ada. Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik *Holothurian edulis* memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dengan nilai IC<sub>50</sub> 41.6828 mg/mL dan ekstrak etanol *Holothurian* memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 33,514 mg/mL. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Holothurian atra* dan *Holothurian edulis* mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki berbagai aktivitas biologis dan aktivitas antioksidan.

#### 27. Karakterisasi buckthorn laut dengan kromatografi gas-spektrometri massa

Selain tanaman yang tumbuh secara alami, hibrida buckthorn laut (*Hippophae rhamnoides*) dari subspecies yang berbeda dibudidayakan untuk mencegah penggurunan, karena membentuk akar yang kuat dan tahan terhadap suhu ekstrem, kekeringan, dan tanah yang buruk. Ada tradisi panjang di Asia untuk menggunakan buah buckthorn laut dalam pengobatan tradisional. Telah ditunjukkan bahwa minyak yang diekstraksi dari pulp dan biji memiliki sifat regenerasi, anti-inflamasi, anti-ulserogenik, hepatoprotektif, sitoprotektif. Sea buckthorn berry sangat kaya akan senyawa bioaktif lipofilik dan hidrofilik dan merupakan sumber penting bagi industri farmasi dan makanan. Minyak pulp memiliki komposisi khusus dengan kandungan asam palmitoleat yang sangat tinggi, hingga 54% dari total asam lemak, sedangkan minyak bijinya kaya akan asam linoleat dan -linolenat. Senyawa penting lainnya dari minyak buckthorn laut adalah sterol, tokoferol dan tokotrienol dan kandungannya tergantung pada asal buah beri, kondisi pertumbuhan dan metode pemrosesan minyak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode analisis sensitif untuk penentuan asam lemak, vitamin F dan E dan sterol dalam minyak buckthorn laut, dengan kromatografi gas/spektrometri massa (GC/MS). Metode ini diterapkan untuk menguji senyawa lipofilik setelah iradiasi pada dosis kGy yang berbeda dengan elektron yang dipercepat.

# DAFTAR PUSTAKA

---

- Aditha, S. K., Kurdekar, A. D., Chunduri, L. A. A., Patnaik, S., & Kamiseti, V. (2016). Aqueous based reflux method for green synthesis of nanostructures: Application in CZTS synthesis. *MethodsX*, 3, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2015.12.003>
- Agustoni, E., Teixeira, R. D., Huber, M., Flister, S., Hiller, S., & Schirmer, T. (2022). Acquisition of enzymatic progress curves in real time by quenching-free ion exchange chromatography. *Analytical Biochemistry*, 639(December 2021), 114523. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2021.114523>
- A. H. Beckett, J. B. Stenlake, *Practical Pharmaceutical Chemistry –Part Two Fourth edition* CBS Publishers and Distributors, New Delhi (India); 2001
- Al Ubeed, H. M. S., Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Basu, A., & Vuong, Q. V. (2022). A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis. *Molecules*, 27(3). <https://doi.org/10.3390/molecules27030604>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4(March), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Aliwarga, L., Reynard, R., Yasmani, I. P., & Puspasari, M. (2020). Pengaruh pH dan Jenis Pelarut terhadap Ekstraksi Batch Asam 6-Aminopenisilat. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 18(2), 61. <https://doi.org/10.5614/jtki.2019.18.2.5>
- Consolación Rodríguez-Palazón, M. *et al.* (2022) ‘Metabolomic study of capsaicinoid compounds in urine samples by dispersive liquid–liquid microextraction and ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry’, *Microchemical Journal*, 178, p. 107373. doi:10.1016/J.MICROC.2022.107373.
- Alatas, Fikri. 2018. Pengembangan dan validasi metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk estimasi kadar simultan antiemetik piridoksin hidroklorida dan piratiazin teoklat dalam bentuk sediaan tablet. *Dalam Ilmiah Farmasi*, 6 (2), hlm. 95-100. Jawa Barat: Universitas Jenderal Achmad Yani.
- Aziz, Zuhelmi. 2020. Optimasi dan Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Menetapkan Kadar Asam Klorogenat dalam Ekstrak Etanol Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson). *Dalam Penelitian Kimia*, 16 (1), hlm. 67-76. Jakarta Selatan: Universitas Pancasila.
- Battestin V, Macedo GA. Effects of temperature, pH and additives on the activity of tannase produced by *Paecilomyces variottii*. *Electronic Journal of Biotechnology* 2007;10

<http://www.ejbiotechnology.cl/content/vol10/issue2/full/9/index.html#6> (accesses 20.09.2012).

Baugh, Peter.D.Gas Chromatography.THERMOPEDIA.  
<https://www.thermopedia.com/content/801/>.Dikunjungi 23 April 2022.

Bertsch Wolfgang. *Two-Dimensional Gas Chromatography. Concepts, Instrumentation, and Applications – Part 1: Fundamentals, Conventional Two-Dimensional Gas Chromatography, Selected Applications.* Journal Of High Resolution Chromatography.Vol.22 hal 647-665.  
[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1521-4168\(19991201\)22:12%3C647::AID-JHRC647%3E3.0.CO;2-V](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1521-4168(19991201)22:12%3C647::AID-JHRC647%3E3.0.CO;2-V)

Bhattacharyya L, Rohrer JS. *Applications of Ion Chromatography for Pharmaceutical and Biological Products.* New Jersey: John Wiley & Sons; 2012.

B. K. Sharma, *Instrumental Methods of Chemical Analysis*-Twenty Seventh Edition; 2011.

Chen, Danting dkk. 2022. Pemisahan Preparatif Satu Langkah Fucoxanthin dari Tiga Alga Coklat yang Dapat Dimakan dengan Elusi-Ekstrusi Kromatografi Arus Balik. *Obat-obatan laut.* Lisensi MDPI, Basel, Lewis.

Bruch T, Graalfs H, Jacob L, Frech C. Influence of surface modification on protein retention in ion-exchange chromatography Evaluation using different retention models. *Journal of Chromatography A* 2009;1216 919-926.

Cataldi TRI, Margiotta G, Iasi L, Di Chio B, Xiloyannis C, Bufo SA. Determination of Sugar Compounds in Olive Plant Extracts by Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection. *Analytical Chemistry* 2000;72 3902-3907.

Chen R, meng F, Liu Z, Chen R, Zhang M. Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait. *Carbohydrate Polymers* 2010;80 845-851.

Chu, C. H., Lam, H. C., Lee, J. K., Wang, M. C., Lu, C. C., Sun, C. C., & Chuang, M. J. (2009). Common Hemoglobin Variants in Southern Taiwan and Their Effect on the Determination of HbA1c by Ion-exchange High-performance Liquid Chromatography. *Journal of the Chinese Medical Association*, 72(7), 362–367. [https://doi.org/10.1016/S1726-4901\(09\)70388-0](https://doi.org/10.1016/S1726-4901(09)70388-0)

Cummins PM, Dowling O, O'Connor BF. *Ion-Exchange Chromatography: Basic Principles and Application to the Partial Purification of Soluble Mammalian Prolyl Oligopeptides.* In: Walls D, Loughran ST. (ed.) *Protein Chromatography Methods and Protocols.* New York: Springer; 2011. p215-228.



- Cunningham, G., Zhou, Y., & Summar, M. (2022). Development of a robust 30-minute reverse-phase high pressure liquid chromatography method to measure amino acids using widely available equipment and its comparison to current clinical ion-exchange chromatography measurement. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 31(April), 100868. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2022.100868>
- Dascalu, A.-E. *et al.* (2022) ‘Comparison of enhanced fluidity liquid chromatography with liquid chromatography for enantioseparation of selected  $\gamma$ -lactam derivatives’, *Journal of Chromatography Open*, 2, p. 100026. doi:10.1016/J.JCOA.2021.100026.
- Dragull K, Beck JJ. Isolation of Natural Products by Ion Exchange Methods. *Methods in Molecular Biology* 2012; 864 189-219.
- Dufresne C. Isolation by Ion Exchange Methods. In *Natural Products Isolation* Connell RJP. New Jersey: Humana Press; 1998.
- Ebula, M. N., Arisankar, H. S. H., & Handramohanakumar, N. C. (2013). *Metabolites and bioactivities of Rhizophoraceae mangroves*. 207–232. <https://doi.org/10.1007/s13659-013-0012-0>.
- Fritz JS, Gjerde DT. *Ion Chromatography (Fourth Completely Revised and Enlarged Edition)*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & KGoA Weinheim; 2009.
- Fritz JJ. Early milestones in the development of ion-exchange chromatography: a personal account. *Journal of Chromatography A* 2004;1039 3-12.
- F. Tagliaro, ... S.W. Lewis, in *Encyclopedia of Forensic Sciences (Second Edition)*; 2013 (Science direct)
- Gas Chromatography.JUST Science and Art. <https://www.just.edu.jo/FacultiesandDepartments/FacultyofScienceandArts/Pages/Gas-Chromatography.aspx>. Dikunjungi 23 April 2022.
- Gerberding SJ, Byers CH. Preparative ion-exchange chromatography of proteins from dairy whey. *Journal of Chromatography A* 1998;808 141-151.
- Ge Y, Duan Y, Fang G, Zhang Y, Wang S. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *francheti* Isolation, purification, structural features and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers* 2009;77 188-193.
- GE Healthcare. *Ion Exchange Chromatography & Chromatofocusing Principles and Methods Handbook*. [https://www.gelifesciences.com/gehcls\\_images/GELS/Related%20Content/Files/1314823637792/litdoc11000421AB\\_20110901010317.pdf](https://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/1314823637792/litdoc11000421AB_20110901010317.pdf) (accessed 20 July 2012).
- Gnanadesigan, M., Anand, M., Ravikumar, S., Maruthupandy, M., Vijayakumar, V., Selvam, S., Dhineshkumar, M., & Kumaraguru, A. K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles by

- using mangrove plant extract and their potential mosquito larvicidal property. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 799–803. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60197-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60197-1)
- Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N., & Peuchmaur, M. (2021). Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia*, 148(December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104798>
- Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Thatoi, P., & Patra, J. K. (2015). Mangroves, a potential source for green nanoparticle synthesis: a review. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 44(5), 635–645.
- Garrido, Jose L dan Manuel Zapata. 2020. Kromatografi cair kinerja tinggi pasangan ion fase terbalik dari klorofil alga. Instituto de Investigacions Mariñas, CSIC, Av. Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo, Spanyol.
- Goda.M, et al. *B:Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Marine Seagrass Thalassodendron ciliatum Collected from Red Sea*.Records Of Phamaceutical And Biomedical Science.Vol 4 hal 1-15.Juli 2020. [https://rpbs.journals.ekb.eg/article\\_98597.html](https://rpbs.journals.ekb.eg/article_98597.html).
- Grodzki AC and Berenstein E. Antibody Purification:Ion-Exchange Chromatography. Immunocytochemical Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology 2010;588 27-32.
- Haddad PR, Jackson PE. Journal of Chromatography Library-Volume 46 Ion Chromatography. Amsterdam: Elsevier Science; 1990.
- Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of Nigella sativa proteins fractionated by ion exchange chromatography. International Journal of Immunopharmacology 1999;21 283-295.
- Heras JM, Marina ML, Garcia MC. Development of a perfusion ion exchange chromatography method for the separation of soybean proteins and its application to cultivar characterization. Journal of Chromatography A 2007;1153 97-103.
- Hughes, L.J. *et al.* (2018) ‘Vitamin D Content of Australian Native Food Plants and Australian-Grown Edible Seaweed’, pp. 1–9.
- I. Finore, P. Di Donato, V. Mastascusa, B. Nicolaus, A. Poli Fermentation technologies for the optimization of marine microbial exopolysaccharides production
- Indian Pharmacopoeia, Volume 1, *The Pharmacopoeial commission* Ghaziabad 2007.
- Ishihara T, Kadoya T, Yamamoto S. Application of a chromatography model with linear gradient elution experimental data to the rapid scale-up in ion-exchange process chromatography of proteins. Journal of Chromatography A 2007;1162 34-40.

- Johnson EL, Stevenson R (1978) *Basic liquid chromatography*. Varian Associates, Palo Alto, CA
- Kastner M. Protein Liquid Chromatography. Amsterdam: Elsevier Science; 2005.
- Kastner M. Protein Liquid Chromatography. Amsterdam: Elsevier Science; 2000.
- Kato A, Kano E, Adachi I, Molyneux RJ, Watson AA, Nash RJ, Fleet GWJ, Wormald MR, Kizu H, Ikeda K, Asano N. Australine and related alkaloids: easy structural confirmation by <sup>13</sup>C NMR spectral data and biological activities. *Tetrahedron* 2003;14 325-331.
- Kemenlu. 2021. Potensi Rumput Laut Indonesia. [Online]. Diakses dari <https://kemlu.go.id/maputo/id/news/11741/potensi-rumput-laut-indonesia#:~:text=Daerah%20penghasil%20utama%20rumput%20laut,Gorontalo%2C%20Provinsi%20Maluku%20dan%20Provinsi.> 20 April 2022.
- Kislik, V. . (2012). *Solvent extraction: Classical and novel approaches* (First Edit). Elsevier Inc. <https://www.elsevier.com/books/solvent-extraction/kislik/978-0-444-53778-2>.
- Korkisch J. Handbook of Ion Exchange Resins: Their Application to Inorganic Analytical Chemistry Volume V. Florida: CRC Press; 2000.
- Levison PR. Large-scale ion exchange column chromatography of proteins Comparison of different formats. *Journal of Chromatography B* 2003;790 17-33.
- Li B, Dobruchowska JM, Gerwig GJ, Dijkhuizen L, Kamerling JP. Structural investigation of water-soluble polysaccharides extracted from the fruit bodies of *Coprinus comatus*. *Carbohydrate Polymers* 2013;91 314-321.
- Li, D. L., Li, X. M., Peng, Z. Y., & Wang, B. G. (2007). Flavanol derivatives from *Rhizophora stylosa* and their DPPH radical scavenging activity. *Molecules*, 12(5), 1163–1169. <https://doi.org/10.3390/12051163>
- Li, D. L., Li, X. M., & Wang, B. G. (2008). Pentacyclic triterpenoids from the mangrove plant *Rhizophora stylosa*. *Natural Product Research*, 22(9), 808–813. <https://doi.org/10.1080/14786410701640452>
- Lordance et al. Characterization of sea buckthorn by gas chromatography-mass spectrometry. *International Nuclear Information System*. <https://inis.iaea.org/search/searchsinglerecord.aspx?recordsFor=SingleRecord&RN=40056539>.
- Lough WJ, Wainer IW (eds) (1995) *High performance liquid chromatography: fundamental principles and practice*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Scotland
- Moerdijk-Poortvliet, T.C.W. *et al.* (2022) 'Extraction and analysis of free amino acids and 5'-nucleotides, the key contributors to the umami taste of seaweed', *Food Chemistry*, 370, p. 131352. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2021.131352.

- Moore S. Applications Of Gas Chromatography. <https://www.news-medical.net/life-sciences/Applications-of-Gas-Chromatography.aspx>. Dikunjungi 23 April 2022.
- Muflihunna.A, et al. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis and Antioxidant Activity of Sea-Cucumber (Holothurian atra and Holothurian edulis) From Selayar Island*. Journal of Physics. 01 januari 2021. [https://www.semanticscholar.org/paper/Gas-Chromatography-Mass-Spectrometry-\(GC-MS\)-and-of-Muflihunna-Mu%E2%80%99nisa/e1ae84b2e70396cddcd167d8cd3a1a68a148bed2#paper-header](https://www.semanticscholar.org/paper/Gas-Chromatography-Mass-Spectrometry-(GC-MS)-and-of-Muflihunna-Mu%E2%80%99nisa/e1ae84b2e70396cddcd167d8cd3a1a68a148bed2#paper-header)
- Németi, G., Berkecz, R., Shahmohammadi, S., Forró, E., Lindner, W., Péter, A., & Ilisz, I. (2022). Enantioselective high-performance liquid chromatographic separation of fluorinated  $\beta$ -phenylalanine derivatives utilizing Cinchona alkaloid-based ion-exchanger chiral stationary phases: Enantioselective separation of fluorinated  $\beta$ -phenylalanine derivatives. *Journal of Chromatography A*, 1670. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462974>
- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., & Issaabadi, Z. (2019). Biological Sources Used in Green Nanotechnology. In *An Introduction to Green Nanotechnology* (1st ed., Vol. 28, pp. 81–111). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813586-0.00003-1>
- Nergard CS, Diallo D, Inngjerdingen K, Michaelsen TE, Matsumoto T, Kiyohara H, Yamada H, Paulsen BS. Medicinal use of Cochlospermum tinctorium in Mali Anti-ulcer, radical scavenging and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 69 255-269.
- Nugraheni, Z. V., Rachman, T. M., & Fadlan, A. (2022). *Ekstraksi Senyawa Fenolat dalam Daun Teh Hijau ( Camellia Sinensis )*. 7(1), 69–76.
- P. C. Kamboj *Pharmaceutical Analysis – II (Instrumental methods)*. First edition, Vallabh Publications; 2010.
- Okada T. Nonaqueous ion-exchange chromatography and electrophoresis Approaches to nonaqueous solution chemistry and design of novel separation. *Journal of Chromatography A* 1998; 804 17-28.
- Omana DA, Wang J, Wu J. Co-extraction of egg white proteins using ion-exchange chromatography from ovomucin-removed egg whites. *Journal of Chromatography B* 2010; 878 1771-1776.
- Peng Q, Lv X, Xu Q, Li Y, Huang L, Du Y. Isolation and structural characterization of the polysaccharide LRGP1 from Lycium ruthenicum. *Carbohydrate Polymers* 2012;90 95-101.
- Poole, C.F. and Atapattu, S.N. (2022) ‘Study of system properties in reversed-phase liquid chromatography for binary and ternary solvent mobile phase compositions using the solvation parameter model’, *Journal of Chromatography Open*, 2, p. 100039.

doi:10.1016/J.JCOA.2022.100039.

- Ragunatan.V.,Pandurangan.J,Ramakrishan.T. *Marine Metabolomics: a Method for Nontargeted Measurement of Metabolites in Seawater by Gas Chromatography–Mass Spectrometry* .Jurnal Farmakognosi.Vol 8 hal 547-554.Mei 2019.<https://www.phcogj.com/article/892>.
- Rahim, A. A., Rocca, E., Steinmetz, J., Kassim, M. J., Adnan, R., & Sani Ibrahim, M. (2007). Mangrove tannins and their flavanoid monomers as alternative steel corrosion inhibitors in acidic medium. *Corrosion Science*, 49(2), 402–417. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2006.04.013>
- Ratanapo S, Ngamjunyaporn W, Chulavatnatol M. Sialic acid binding lectins from leaf of mulberry (*Morus alba*). *Plant Science* 1998;139 141-148.
- Riviello, J. M. (2021). Water, electricity and ion exchange; how Hamish Small sustained the evolution of ion chromatography. *Heliyon*, 7(7), e07495. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07495>
- Sakamoto S, Hatakeyama M, Ito T, Handa H. Tools and methodologies capable of isolating and identifying a target molecule for a bioactive compound. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2012; 20 1990-2001.
- Smith RM (1988) *Gas and liquid chromatography in analytical chemistry*, Wiley, Chichester, England
- Snyder LR, Kirkland JJ (eds) (1979) *Introduction to modern liquid chromatography*, 2nd edn. Wiley, New York
- Sogin.E,et al.*Metabolomik Laut: Gas Chromatography-Mass spectrometry Analysis of Methanol Extracts from Marine Red Seaweed Gracilaria corticata*.Msystem.Jurnal.asm.10 desember 2019.<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSystems.00638-19>.
- Snyder, L.R. (2010) *Introduction To Modern Liquid Chromatography*. 3rd edn. Edited by L.R. Snyder, J.J. Kirkland, and J.W. Dolan. Canada: John Wiley & Sons., Publication.
- Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J. H., Gautam, V. S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., & Kharwar, R. N. (2021). Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In *Natural Bioactive Compounds*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820655-3.00021-5>
- Stanton P. HPLC of Peptides and Proteins. *Methods in Molecular Biology*. New Jersey: Humana Press; 2004.
- Takara, K., Kuniyoshi, A., Wada, K., Kinjyo, K., & Iwasaki, H. (2008). Antioxidative Flavan-3-ol Glycosides from Stems of *Rhizophora stylosa*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72(8), 2191–2194. <https://doi.org/10.1271/bbb.80065>
- Targuma, S., Njobeh, P. B., & Ndungu, P. G. (2021). Current applications of magnetic

- nanomaterials for extraction of mycotoxins, pesticides, and pharmaceuticals in food commodities. *Molecules*, 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144284>
- Thi, P., Huong, T., Thanh, N. Van, Diep, C. N., & Cuong, N. T. (2015). *Five Lignans From The Mangrove Rhizophora Stylosa Griff.* 53(April), 42–47. <https://doi.org/10.15625/0866-7144.2015-2e-010>
- Treder, Natalia. 2021. Kontrol mekanisme retensi pada kolom silika terikat oktadesil menggunakan fase gerak berbasis cairan ionik dalam analisis obat sitostatik dengan kromatografi cair. *Dalam Kromatografi A*. Departemen Kimia Farmasi, Universitas Kedokteran Gdańsk, Hallera 107, Gdańsk 80-416, Polandia.
- Udayani, N. N. W. (2022). Analisis Minyak Atsiri Bunga Melati menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS). *Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains*, 11(1), 54–62.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>
- Wahyudi, N. T., Ilham, F. F., Kurniawan, I., & Sanjaya, A. S. (2018). Rancangan Alat Distilasi untuk Menghasilkan Kondensat dengan Metode Distilasi Satu Tingkat. *Jurnal Chemurgy*, 1(2), 30. <https://doi.org/10.30872/cmg.v1i2.1142>.
- Westerlund B. Ion-exchange Chromatography In Simpson RJ. Purifying Proteins for Proteomics. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2004.
- Wisel A, Schmidt-Traub H, Lenz J, Strube J. Modelling gradient elution of bioactive multicomponent systems in non-linear ion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A* 2003;1006 101-120.
- Willian, N., Pardi, H., Kimia, P. P., Maritim, U., Ali, R., & Riau, K. (2021). *Tinjauan Biofabrikasi Nanopartikel Perak Dan Emas Review Biofabrication of Silver and Gold Nanoparticles.* 9(1), 42–53.
- Willian, N., Syukri, S., Zulhadjri, Z., & Arief, S. (2021). Marine plant mediated green synthesis of silver nanoparticles using mangrove *Rhizophora stylosa*: Effect of variable process and their antibacterial activity. *F1000Research*, 10, 768. <https://doi.org/10.12688/f1000research.54661.1>
- Willian, N., Syukri, Zulhadjri, Labanni, A., & Arief, S. (2020). Bio-friendly synthesis of silver nanoparticles using mangrove *rhizophora stylosa* leaf aqueous extract and its antibacterial and antioxidant activity. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(3), 1478–1485. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1335760>

- Wong JH, Ip DCW, NG TB, Chan YS, Fang F, Pan WL. A defensin-like peptide from *Phaseolus vulgaris* cv. 'King Pole Bean'. *Food Chemistry* 2012;135 408-414.
- Yang XH1, Li HB, Chen H, Li P, Y. B. (2008). *Chemical constituents in the leave of Rhizophora stylosa L and their biological activities. Sep;43(9)(.), 974-8.*
- Zagrodni AA. *Ion Exchange Materials, Properties and Publications.* Amsterdam: Elsevier Science; 2007.
- Zoysa, Rangi De. 2021. Pengembangan dan penerapan metode ekstraksi air panas bertekanan untuk senyawa fenolik di lamun. Sekolah Ilmu Kehidupan dan Lingkungan Universitas Deakin, Australia.
- Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). Soxhlet extraction and new developments such as soxtec. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 2, 65–82. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>.

# GLOSSARIUM

---

Ekstraksi	Pemisahan komponen suatu zat dengan matriks
GC-MS	<i>Chromatografi Mass Spectrofotometri</i>
Laboratorium	tempat melakukan percobaan/penelitian/observasi dan demonstrasi sains secara ilmiah
Maserasi	Perendaman sampel dengan pelarut
menstruum	Pelarut tertentu
Perkolasi	perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi
Perkolator	Alat yang digunakan untuk mengekstraksi secara perkolasi
Raw Material	bahan baku
Refluks	ekstraksi dengan bantuan pemanasan
Solven	Pelarut
Sokletasi	ekstraksi dengan pelarut cair organik yang dilakukan secara berulang-ulang pada suhu tertentu dengan jumlah pelarut tertentu.



# INDEKS

---

---

## **E**

Ekstraksi, iii, 12, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46,  
48, 49, 51, 65, 79, 121, 124, 132, 137,  
139, 141

## **G**

GC-MS, 40, 115, 118, 129, 130, 137, 139,  
141

## **L**

Laboratorium, iii, 1, 39, 125, 141

## **M**

Maserasi, iii, 13, 42, 43, 51, 141

menstruum, 43, 45, 141

## **P**

Perkolasi, iii, 13, 45, 46, 141

Perkolator, 141

## **R**

Raw Material, 141

Refluks, iii, 16, 46, 141

## **S**

Sokletasi, iii, 16, 48, 141

Solven, 141

# Buku Ajar

## PEMISAHAN KIMIA

Sebuah Pengantar Pada Aspek Kemaritiman

Dalam buku ini dibahas beberapa teknik pemisahan kimia yang merupakan pengantar dibidang kemaritiman. Penekanan pemisahan kimia pada berbagai aspek yang berkaitan dengan sumber daya alam yang ada di laut, seperti lingkungan laut, pantai, lingkungan pesisir. Penjelasan terkait pemisahan kimia dan contoh sampel. Metoda pemisahan yang dibahas pada buku ini diantaranya teknik pemisahan konvensional menggunakan instrumen sederhana, dan pemisahan kimia menggunakan instrumen modern yang lebih kompleks yaitu menjelaskan tentang kaitan antara berbagai metode pemisahan kimia dan cara-cara pengukuran modern meliputi metoda ekstraksi maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, metoda kromatografi cair, metoda kromatografi penukar ion, metoda kromatografi adsorpsi, metoda kromatografi size exclusion, metoda kromatografi gas, penerapan ilmu pemisahan kimia dalam kehidupan sehari-hari. Selain itu juga dibahas lebih mendalam kaitan kimia pemisahan dengan aspek kemaritiman.

ISBN 978-623-5818-52-8



9

786235

818528