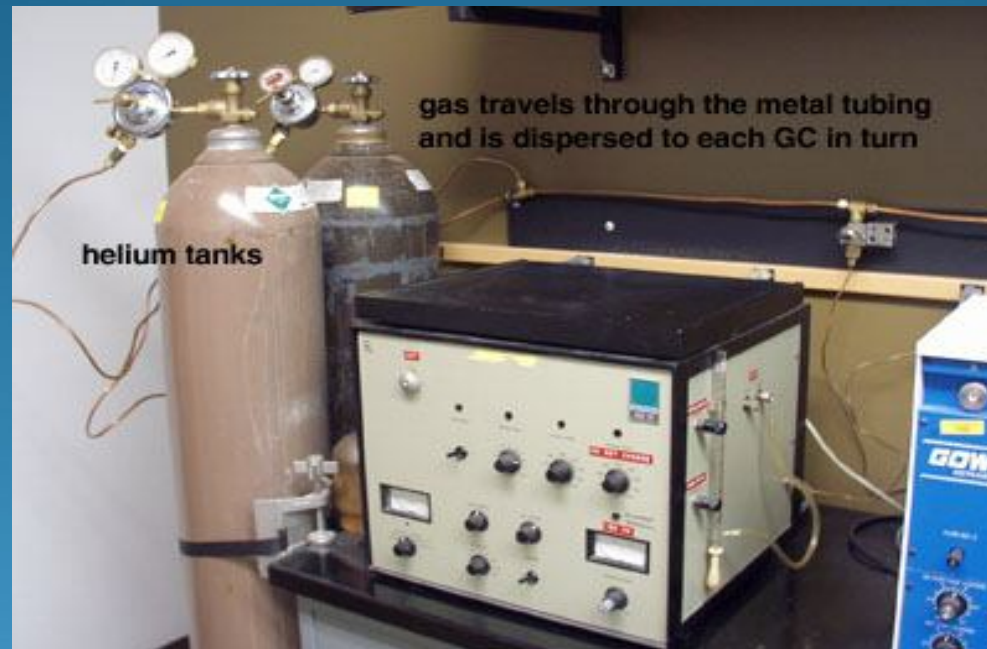


KROMATOGRAFI



Oleh:

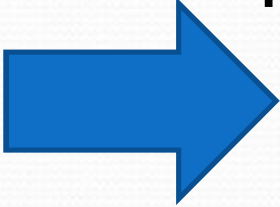
Susila Kristianingrum, M.Si
susila.k@uny.ac.id

Kompetensi Dasar:

Mahasiswa dapat mendeskripsikan berbagai jenis kromatografi dan aplikasinya

KIMIA ANALITIK

Dapat dibedakan menjadi dua kategori aktivitas:

- Pemisahan campuran
- Identifikasi komponen (Elusidasi struktur)  dg teknik spektroskopi (MK. kimia analisis instrumen)

KROMATOGRAFI

- Tswett, kromatografi, kolom 1900-t
- Martin & Synge, krom.penukar ion, 1940-t
- James & Martin, GC, 1950-t
- Lovelock, SFC, 1958-t
- Snyder, Huber mfl, HPLC, 1970-t

Dari bahasa Yunani:

Chroma=warna & graphein=menulis

Analisis Kromatografi

- Pemisahan/Separation
- Identifikasi
- Kuantitatif



Chromatography

HPLC=High Performance Liquid Chromatography

- Fasa gerak: pelarut bertekanan tinggi
- Fasa diam: polimer mikrosfer

GC=Gas Chromatography

- Ada 2: GLC & GSC
- Fasa gerak: gas (Helium atau hidrogen)
- Fasa diam: cair atau padat



TUJUAN KROMATOGRAFI

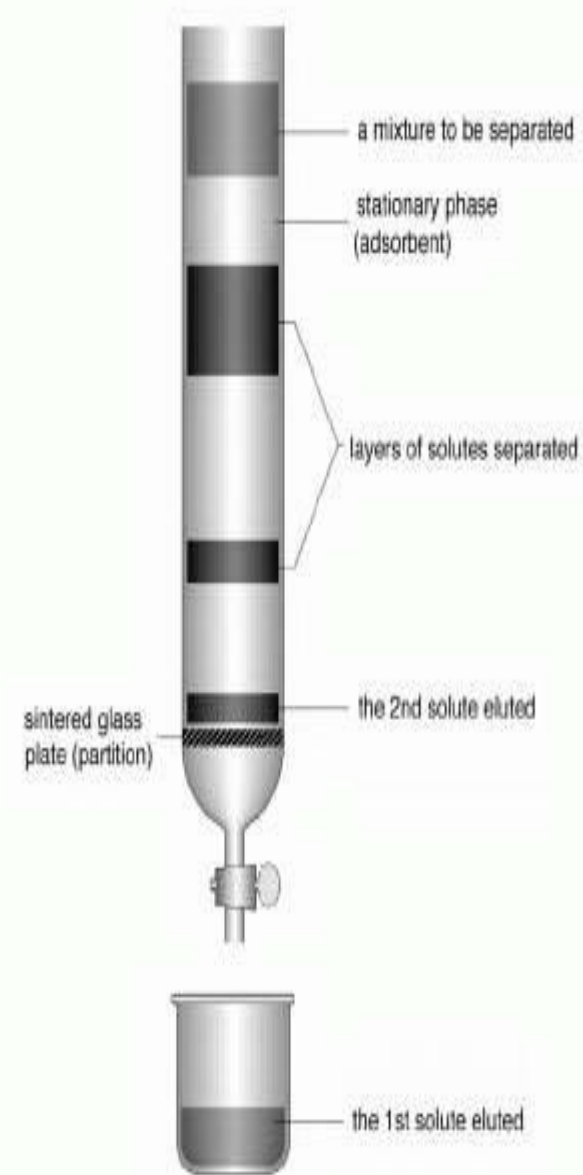
- ANALITIK; menentukan komposisi kimia dari sampel
- PREPARATIF: memurnikan dan mengisolasi salah satu komponen dari sampel

Keuntungan kromatografi

1. memisahkan sampel/konstituen yang sangat kecil (semi mikro & mikro)
2. memisahkan molekul-molekul besar seperti polimer
3. memisahkan senyawa-senyawa organik multikomponen/kompleks
4. Waktu lebih singkat, relatif murah, sederhana
5. Dapat memisahkan senyawa-senyawa yang tidak stabil

Pendahuluan

- Michael Tswet (1906) ahli botani dari Rusia.
- Menemukan pigmen warna dalam ekstraks tumbuhan dengan menggunakan serbuk kalsium karbonat yang diisikan ke dalam kolom, dan petroleum eter sebagai pelarut
- Melibatkan 2 fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak.

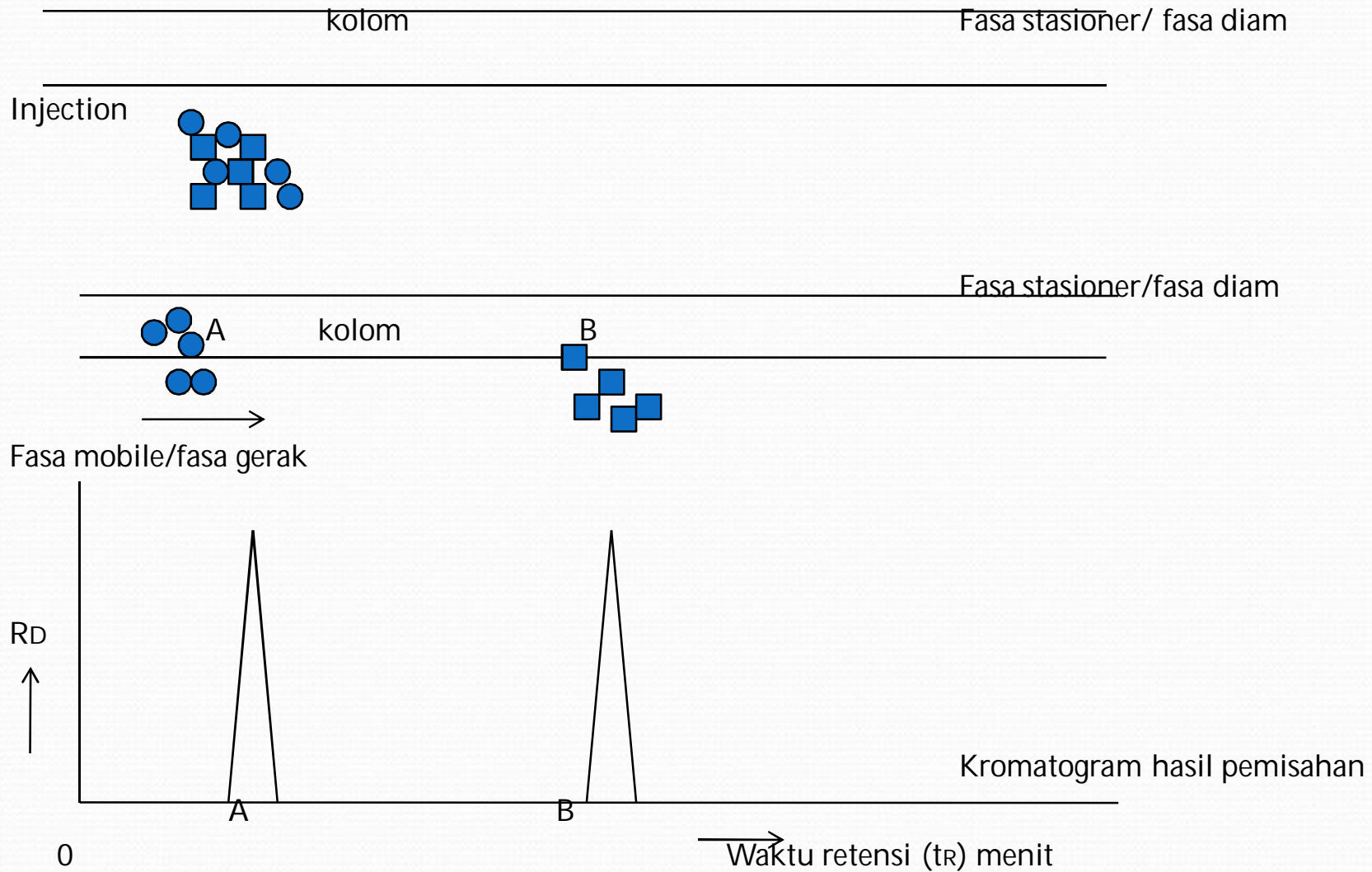




Prinsip Dasar

- Metode pemisahan suatu senyawa yang didasarkan atas migrasi differensial komponen zat diantara 2 fasa yaitu fasa diam (fasa stasioner) dan fasa gerak (fasa mobile)
- Fasa diam dapat berupa cair atau padat
- Fasa gerak dapat berupa gas atau cair

Proses yang terjadi



Kecenderungan molekul-molekul pada proses kromatografi

- melarut dalam cairan
- melekat pada permukaan padatan halus (adsorben)
- Bereaksi secara kimia (penukar ion)
- **Persamaan** pada proses ekstraksi Craig: menggunakan 2 fasa (fs gerak & diam), kstbg tjd diantara 2 fasa
- **Perbedaannya**: pada proses Craig terbatas pada 2 pelarut yang tidak bercampur, salah satu fasa bergerak terhadap fasa lainnya secara bertahap. Sedangkan pada kromatografi digunakan pelarut yang saling bercampur dan fasa bergerak bergerak secara terus menerus/kontinyu.

Klasifikasi kromatografi berdasar jenis fasa

Fasa gerak	Fasa diam	Jenis kromatografi
Gas	Padat	Krom. gas-padat
Gas	Cair	Krom. gas-cair
Cair	Padat	Krom. cair-padat
Cair	Cair	Krom. cair-cair



Jenis kromatografi berdasarkan pasangan fasa gerak dan fasa diam

- Kromatografi gas-padat
- Kromatografi gas-cair
- Kromatografi cair-padat
- Kromatografi cair-cair

Jenis kromatografi berdasarkan mekanisme pemisahan yang terjadi

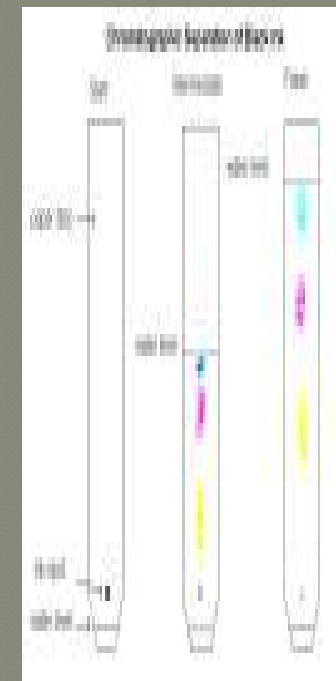
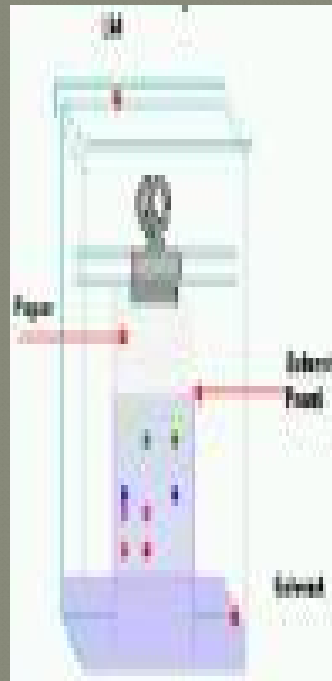
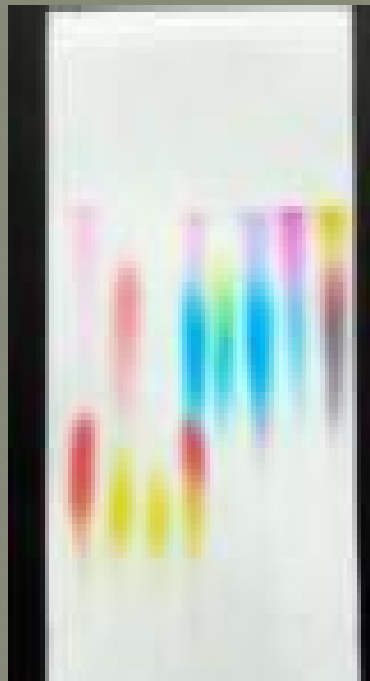
- Kromatografi adsorpsi
- Kromatografi partisi
- Kromatografi penukar ion
- Kromatografi eksklusi (Kromatografi permeasi gel atau kromatografi filtrasi gel)
- Kromatografi afinitas
- Kromatografi supercritical fluida (SFC)



DETEKTOR KROMATOGRAFI

- UV-VIS
- Refractive Index (RI)
- Mass Spectrometry (MS)
- Electrochemical (EC)
- NMR

Beberapa contoh kromatografi



Contoh penggunaan kromatografi

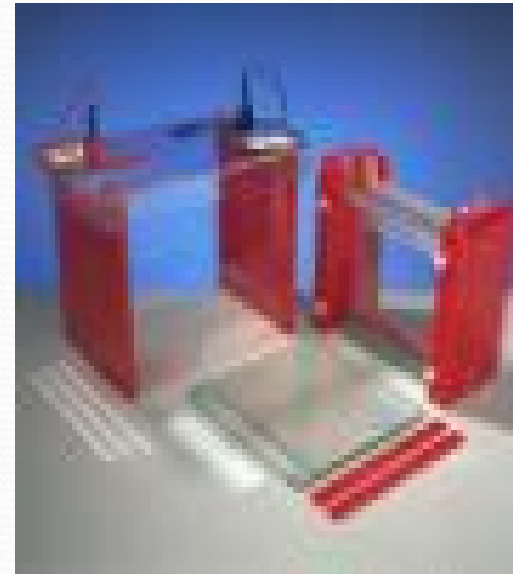




ELEKTROFORESIS

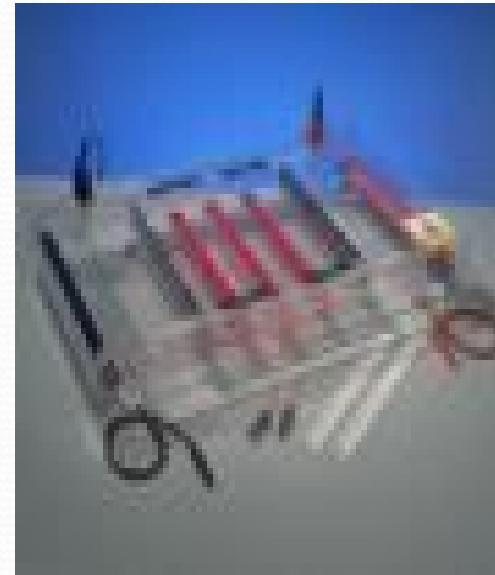
- MOVING BOUNDARY
 - ELEKTROFORESIS ZONA
 - STEADY STATE
- ISOTACOFORESIS
IMUNOFORESIS

Alat Elektroforesis



Alat elektroforesis vertical slab-cell

Berbagai Instrumentasi

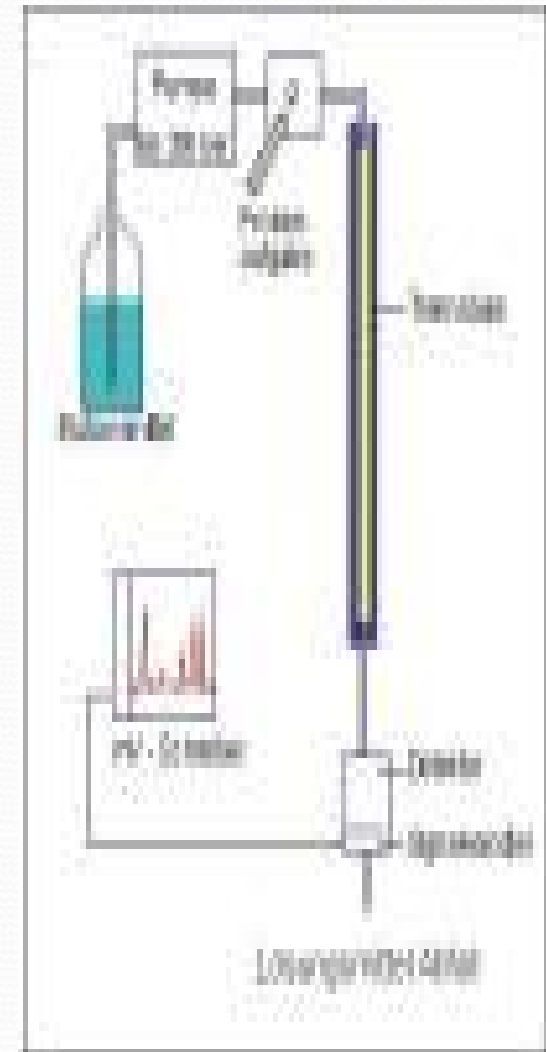


Aplikasi Elektroforesis

- Menentukan BM
- Mendeteksi terjadinya pemalsuan bahan
- Mendeteksi kerusakan bahan
- Memisahkan spesies molekul yang berbeda secara kualitatif & kuantitatif.
- Menetapkan titik isoelektrik protein

KOLOM

- Kolom analisis: Radial-Pak
- Kolom preparatif mikro
(10 mg-1,0 g sampel)
- Kolom preparatif makro
(1,0 g-1,0 Kg sampel)
- Fasa diam : silika (fasa normal)
 C_{18} (fasa balik)

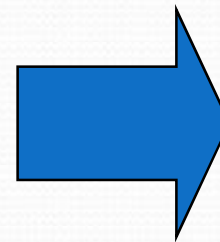


Aplikasi

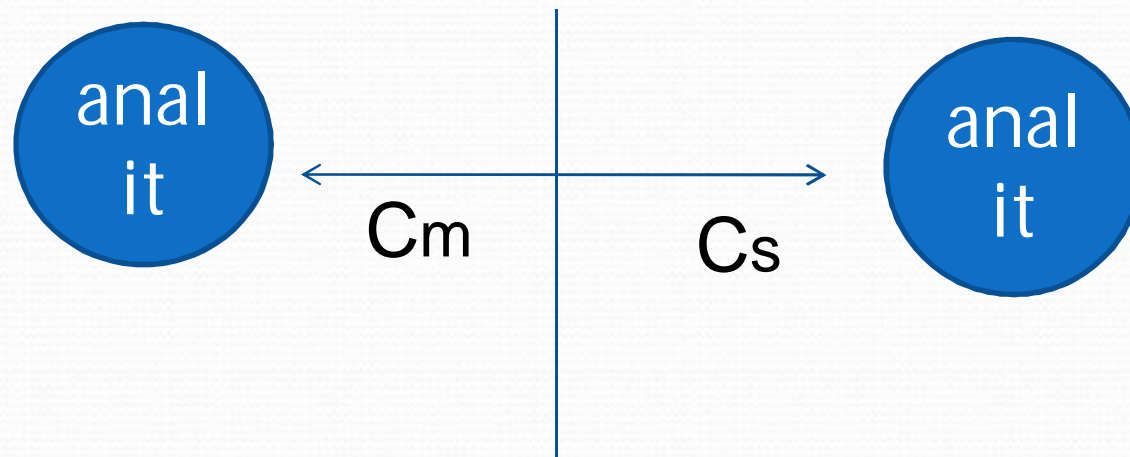
- Bidang farmasi
- Bidang kimia
- Bidang biokimia
- Bidang kedokteran



Kromatogram hasil elektroforesis



Mekanisme pemisahan



$K = C_s / C_m = m_s / V_s : m_m / V_m$, dimana $K > 0$

$K = k' V_m / V_s$, $k' = m_s / m_m$

LATIHAN SOAL

1. Jelaskan prinsip dasar yang mendasari semua proses kromatografi
2. Klasifikasikan jenis kromatografi berdasar atas fasa gerak dan fasa diam
3. Jelaskan arti besaran berikut (Lihat tabel besaran eksperimen & turunan dalam diktat)
 - a. t_M
 - b. t_{RX}
 - c. W_X
 - d. C_M
 - e. C_S
 - f. V_S
 - g. V_M
 - h. F
 - i. L
 - j. $H=HETP$
 - k. α
 - l. k'

LATIHAN SOAL

4. Dari suatu percobaan kromatografi gas dihasilkan data $t_R=65$ detik, $w=5,5$ detik dan $L=90$ cm. Hitung HETP dalam satuan cm/plat.
5. Tentukan persamaan Hminimum dan $\mu_{optimum}$ dengan jalan mendiferensiasi persamaan van Deemter, $H= A+B/\mu + C\mu$ melalui perhitungan $dH/d\mu$

LATIHAN SOAL

6. A 4.00 mL blood sample from a patient suspected of suffering from ketosis (abnormally high ketone levels) was analyzed for acetone by extracting the sample with 25.0 mL of CHCl_3 . The partitioning for acetone is such that $f_0 = 0,970$. When 5.00 μL of the CHCl_3 extract was injected in a GC column, a 70.0 mm² acetone peak was observed. When 5.00 μL of a standard, containing 61.1 μg acetone/10.0 mL was injected in the same column, there resulted a 44.0 mm² acetone peak. What is the acetone concentration of the blood sample, in units of mg acetone /100 mL blood?

Penyelesaian Soal No.6

- Selama volume yang sama dari cairan diinjeksikan ke dalam kolom GC keduanya (Standard & sampel) maka puncak aseton akan sebanding dengan konsentrasi aseton dalam kloroform.
- $61,1/C = 44,0/70,0$ sehingga $C = 97,20 \mu\text{g acetone}/10.0 \text{ mL}$
- $97,20 \mu\text{g acetone}/10.0 \text{ mL} = 0,243 \text{ mg aseton}/25 \text{ mL CHCl}_3$
- Dalam 4 mL sampel darah terkandung:
- $0,243/0,970 = 0,250 \text{ mg aseton}$
- Jadi dalam 100 mL darah mengandung $25 \times 0,250 \text{ mg aseton} = \underline{6,25 \text{ mg aseton}}$.