

KROMATOGRAFI

PENDAHULUAN

- Analisis komponen penyusun bahan pangan **penting**, tidak hanya mencakup makronutrien
- Analisis konvensional: lama, tenaga besar, sering tidak akurat, tidak dapat mendeteksi pada kadar rendah seperti ppm
- Teknik kromatografi: terus berkembang dengan akurasi tinggi

SEJARAH

- **Pertama kali digunakan untuk memisahkan zat warna (chroma) tanaman**

DEFINISI

- Teknik pemisahan yang dilakukan dengan memanipulasi sifat fisik dari zat-zat penyusun suatu campuran
- Tidak ada dua zat yang mempunyai sifat fisik yang sama sehingga pemisahan untuk zat yang serupa masih mungkin untuk dilakukan

SIFAT FISIK YANG DIMANIPULASI

- **Kecenderungan zat untuk larut dalam suatu cairan**
- **Kecenderungan zat untuk teradsorpsi pada butir zat padat yang halus dengan permukaan luas (adsorben)**
- **Kecenderungan zat untuk menguap**

ISTILAH PENTING

- 1. Polaritas**
- 2. Partisi**
- 3. Adsorpsi**
- 4. Jenis fase: fase stasioner dan fase mobil**

1. POLARITAS

- Penting untuk kromatografi
- Menunjukkan adanya pemisahan kutub muatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuk konfigurasi tertentu dari atom-atom penyusunnya
- Molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul lain yang mempunyai polaritas
- Tingkat pemisahan dari molekul-molekul tersebut menentukan polaritas dan daya tariknya

dalam kromatografi

Polaritas digunakan sebagai petunjuk sifat:

- Pelarut/solven
- Adsorben
- Zat yang dipisahkan/solut

PRINSIP **LIKE DISSOLVES LIKE**

- Pelarut polar cenderung melarutkan solut polar
- Adsorben polar cenderung mengadsorbsi solut polar

POLARITAS RELATIF BERBAGAI JENIS PELARUT

KONSTANTA DIELEKTRIK	JENIS PELARUT
1,89	Petroleum ringan (petroleum eter, heksana, heptana)
2,023	Sikloheksana
2,238	Karbon tetraklorida, trikloroetilen, toluena
2,284	Benzena, diklorometana
4,34	Etil eter
4,806	Kloroform
6,02	Etil asetat
20,70	Aseton, n-propanol
24,30	Etanol
33,62	Metanol
80,37	Air

Polaritas pelarut

- Sebanding dengan konstanta dielektrik zat pelarut

2/3. PARTISI DAN ADSORBSI

- Pemisahan dengan proses partisi dan adsorpsi dipengaruhi oleh perbedaan polaritas solut yang dipisahkan
- Polaritas merupakan faktor yang menentukan daya larut (kemampuan partisi) dan adsorpsi solut

PARTISI

- Proses partisi tergantung dari daya larut solut dalam dua macam cairan
- Peka terhadap perbedaan BM solut
- Zat yang terdiri dari satu seri deret homolog paling baik dipisahkan dengan kromatografi partisi
- Misal: pemisahan berbagai jenis asam amino, asam lemak, gula

ADSORBSI

- Peka terhadap bentuk stereometri dari solut yang dipisahkan
- Banyaknya solut yang dapat diadsorbsi pada permukaan adsorben tergantung dari konfigurasi solut
- Kemampuan untuk diadsorbsi menentukan kemudahan solut untuk dipisahkan dengan kromatografi adsorbsi
- Cocok untuk memisahkan campuran solut yang serupa tetapi mempunyai perbedaan bentuk stereometrik

JENIS-JENIS KROMATOLOGRAFI

- **Berdasarkan prinsip kerja: partisi dan adsorpsi**

JENIS

- **Kromatografi lapis tipis (TLC)**
- **Kromatografi kolom: HPLC, GLC, penukar ion, gel filtrasi**

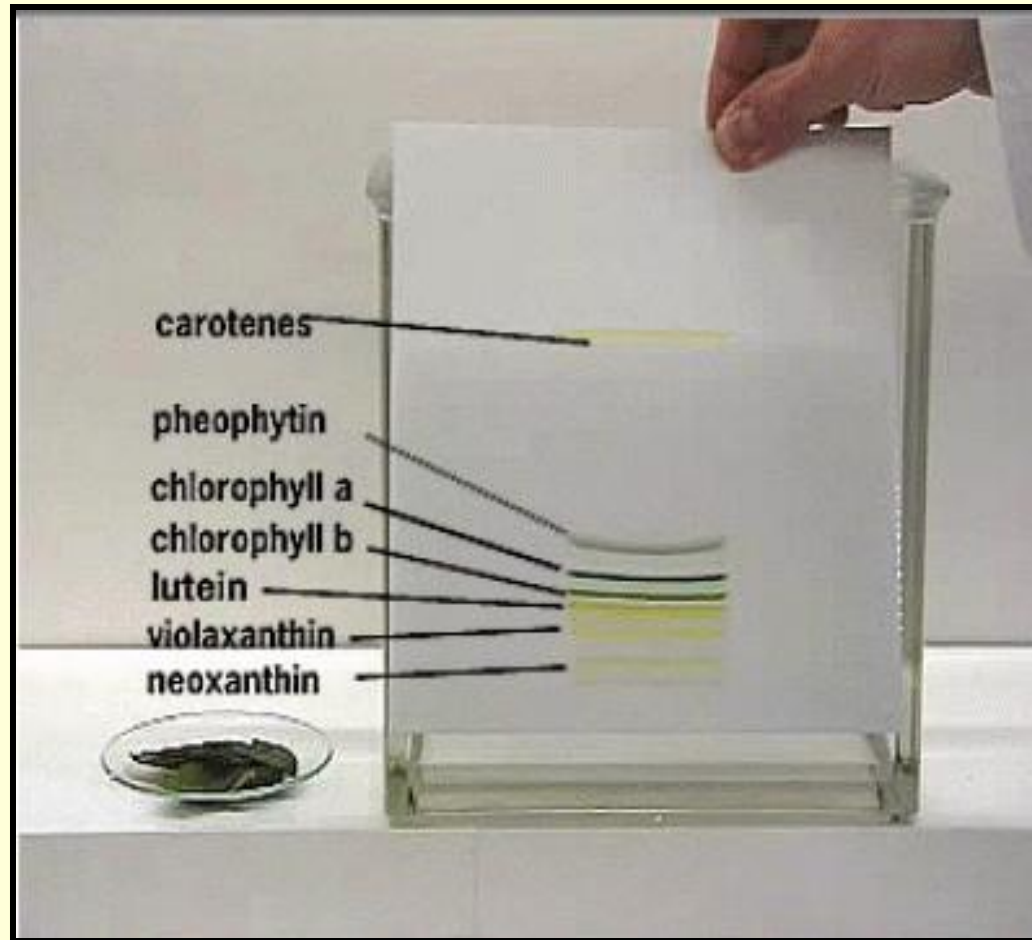
PEMILIHAN JENIS KROMATOGRAFI

- Kemudahan pelaksanaan
- Tujuan pemisahan: preparatif atau analitik
- Bentuk senyawa yang dipisahkan:
volatilitas, bentuk stereometri, derivatisasi,
dll

I. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

- **Merupakan kromatografi adsorpsi**
- **Fase stasioner: adsorben**
- **Fase mobil: pelarut**
- **Biasanya untuk analisis kualitatif**

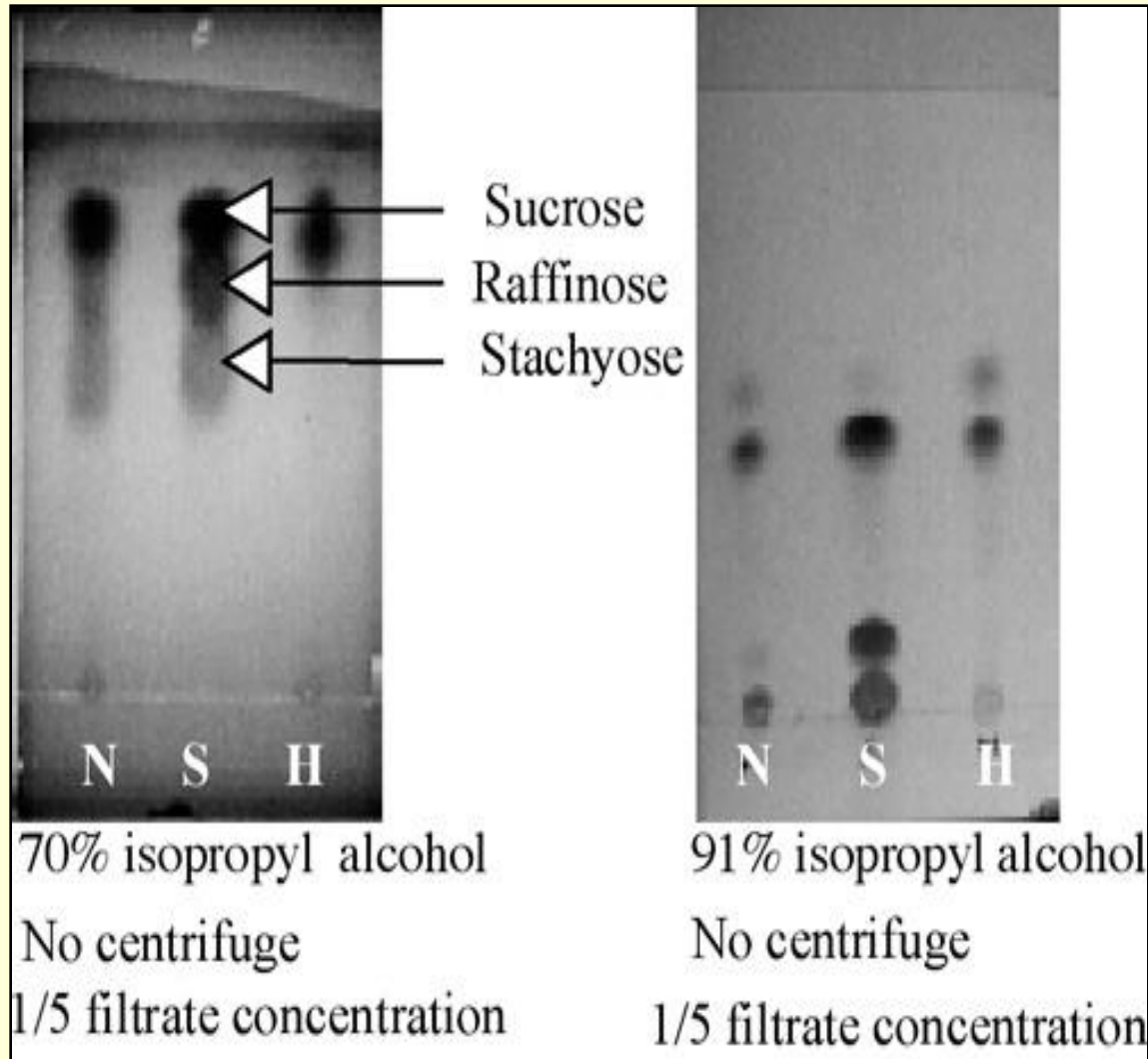
PLAT TLC



PENGEMBANGAN



VISUALISASI DENGAN CHARING



IDENTIFIKASI

- **Membandingkan dengan standar**

KUANTIFIKASI

- **Dengan mengukur kepekatan warna spot**
- **Alat yang digunakan TLC Scanner**

II. KROMATOGRAFI GAS



- **Prinsip pemisahan: partisi**
- **Fase stasioner: cairan yang dilapiskan pada zat penyangga padatan**
- **Fase mobil: gas seperti He, N₂, H₂**

KOMPONEN GC

- **Tabung gas**
- **Pengatur aliran gas**
- **Oven + kolom**
- **Detektor**
- **Rekorder**

OVEN KROMATOGRAFI GAS



KOLOM GC

- **2 JENIS**

Kolom isian

Kolom pipa terbuka

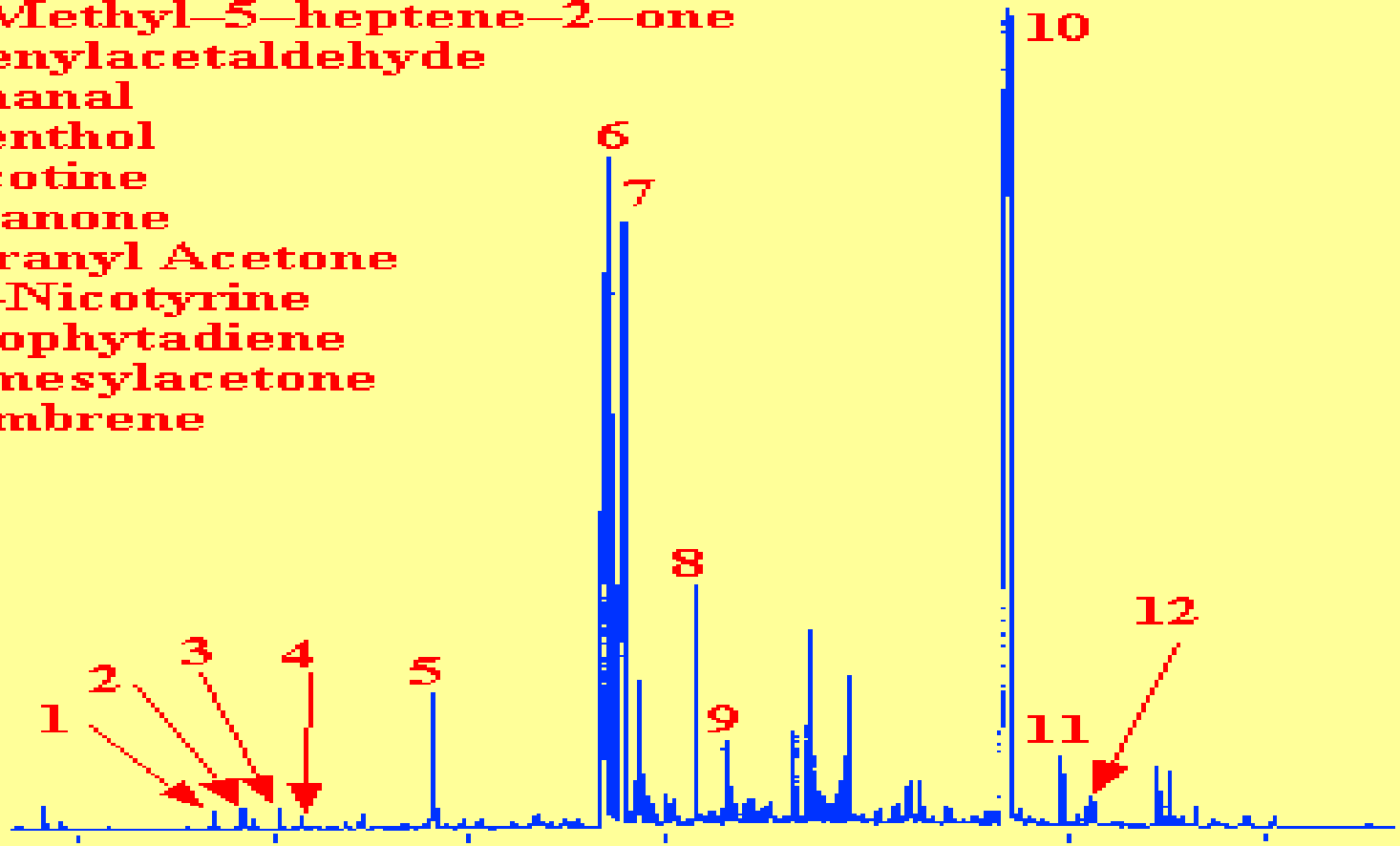
- **SUHU KOLOM DIATUR**

DETEKTOR

- Mendeteksi komponen-komponen yang ada dalam sampel
- Digambarkan dalam bentuk kromatogram

Contoh Kromatogram

1. Benzaldehyde
2. 6-Methyl-5-heptene-2-one
3. Phenylacetaldehyde
4. Ninanal
5. Menthol
6. Nicotine
7. Solanone
8. Geranyl Acetone
9. β -Nicotyrine
10. Neophytadiene
11. Famesylacetone
12. Cembrene



IDENTIFIKASI

- **Dengan membandingkan dengan senyawa standar**
- **Kondisi kromatografi harus sama dengan sampel**
- **Diidentifikasi berdasarkan waktu retensi**

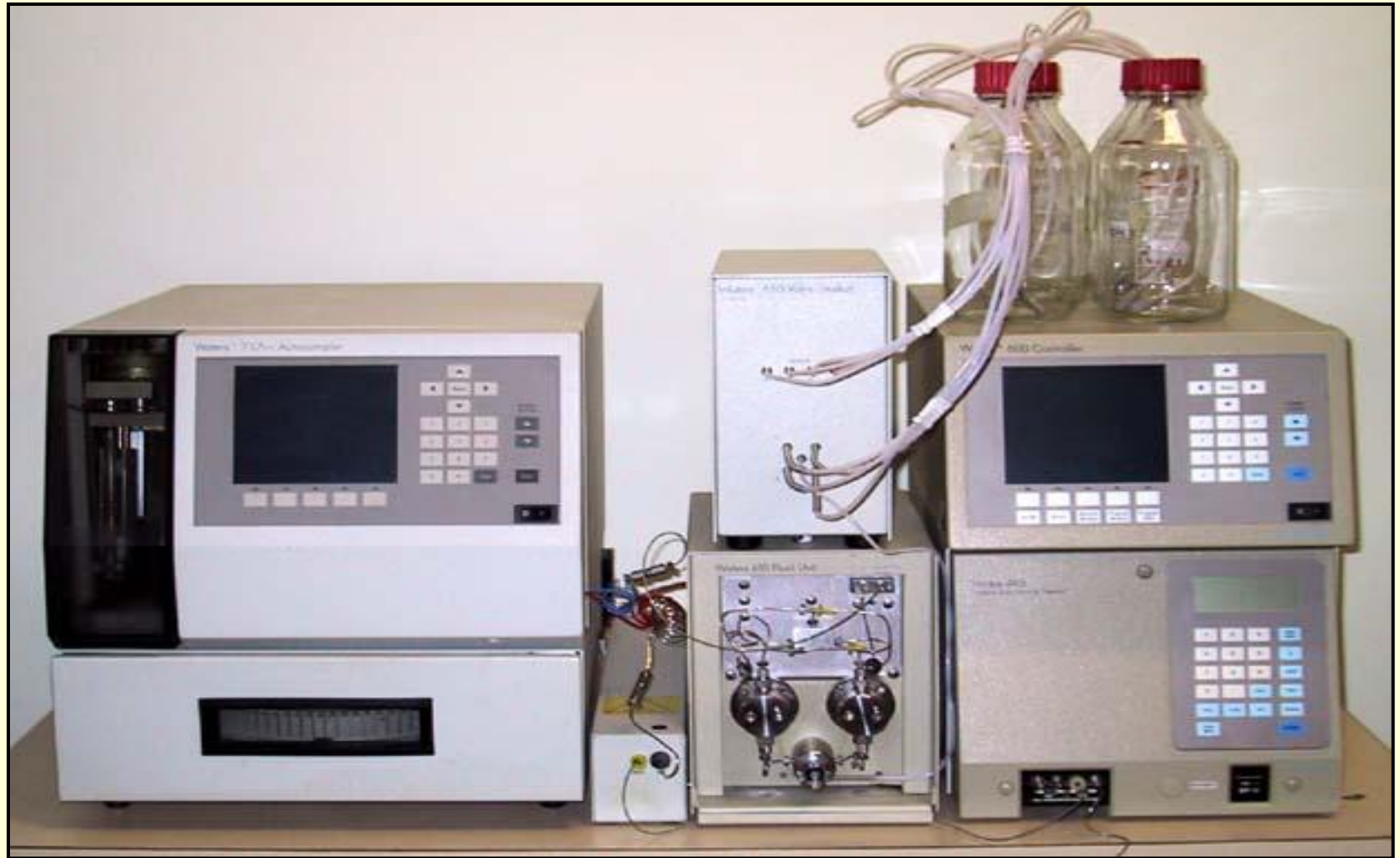
KUANTIFIKASI

- **Integrator: persentase luas area puncak sampel terhadap seluruh luas area puncak-puncak yang ada pada kromatogram**

Cara perhitungan:

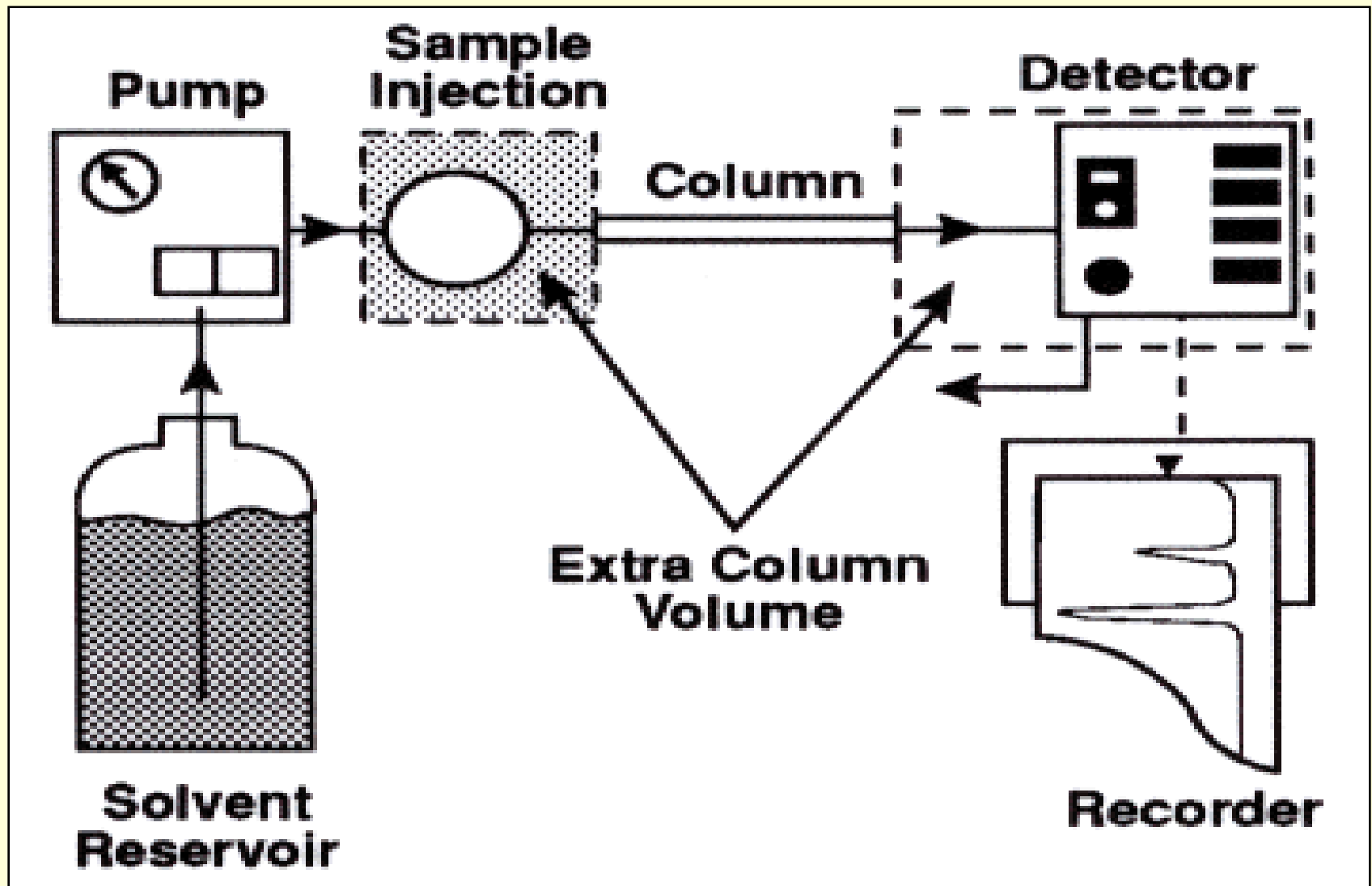
- **Standarisasi internal**
- **Standarisasi eksternal**
- **Normalisasi internal**

III. KROMATOGRAFI CAIRAN KINERJA TINGGI (HPLC)



- **Kromatografi partisi cairan-cairan**
- **Fase stasioner: cairan yang dilapiskan pada zat padat penyangga**
- **Fase mobil: pelarut/cairan**

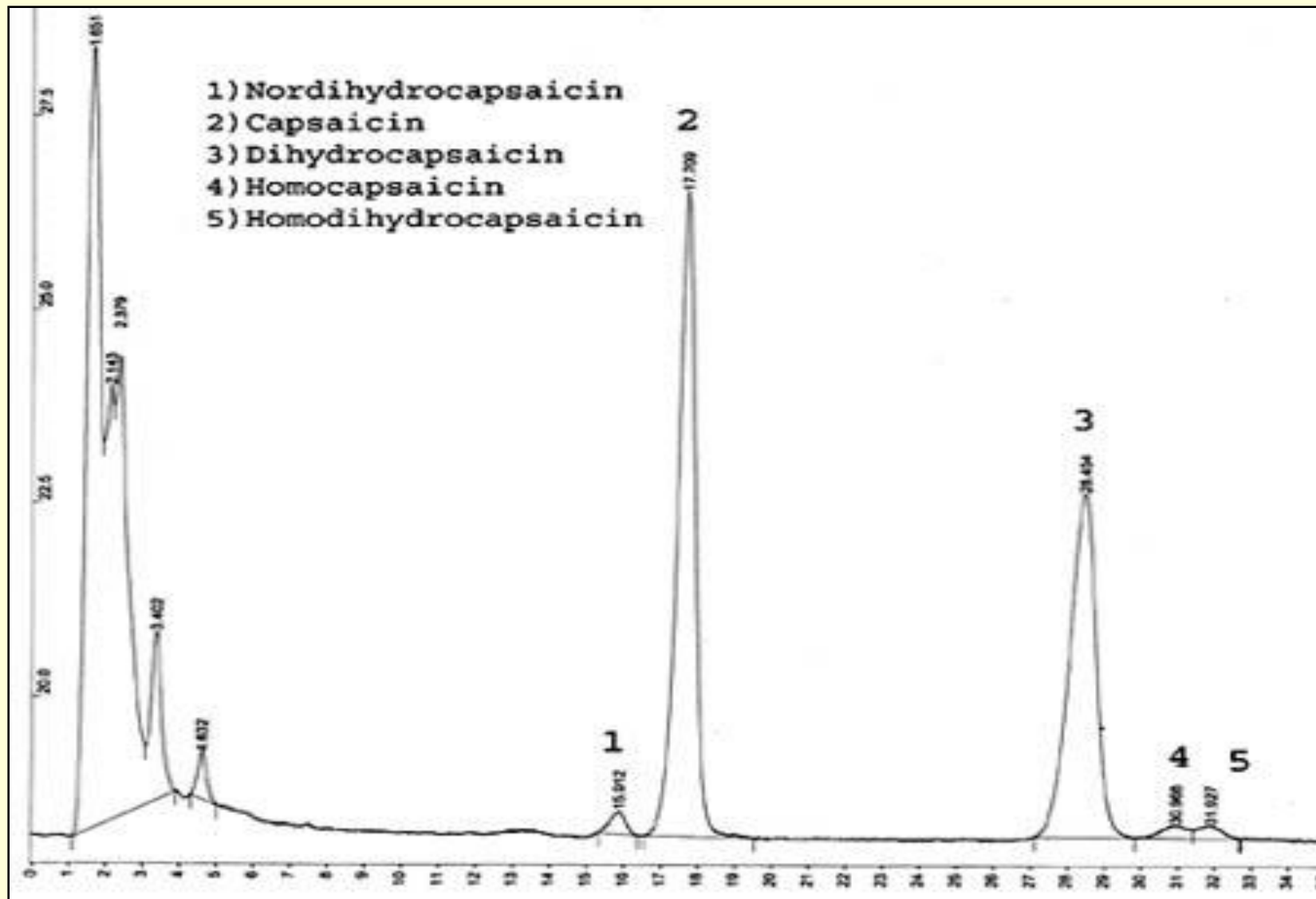
SUSUNAN ALAT



KOLOM HPLC



CONTOH KROMATOGRAM HPLC



IDENTIFIKASI dan KUANTIFIKASI

- **Identifikasi dengan membandingkan waktu retensi sampel dengan standar**
- **Kondisi HPLC sampel harus sama dengan standar**
- **Kuantifikasi: seperti GC**



Thank

You