



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SK. Menkes RI No.12/Kep/Diknakes/II/90 Tgl 3 Februari 1990

SK Kemenristekdikti No. 739/KPT/I/2019 Tgl 20 Agustus 2019

Kampus I : Jl. Masjid PA No.5 Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55112 Telp. (0274) 512667, Fax. (0274) 580043

Kampus II : Jl. Bener No.26 Tegalrejo Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55243 Telp. (0274) 587402, 587208

Website : www.stikes-notokusumo.ac.id E-mail : info@stikes-notokusumo.ac.id

SURAT KEPUTUSAN

KETUA STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

Nomor : 12.B/SK.12.04.02/III/2025

Tentang

Pengangkatan Dosen Koordinator dan Dosen Pengampu Mata Ajaran
Semester Genap Tahun Akademik 2024/2025
Program S-1 Farmasi

Ketua STIKES Notokusumo Yogyakarta

MENIMBANG

- : 1. Bahwa berdasarkan Kalender Akademik, kegiatan kuliah semester genap mahasiswa Program S-1 Farmasi Tahun Akademik 2024/2025 dimulai tanggal 3 Maret 2025.
2. Bahwa untuk pelaksanaan kegiatan perkuliahan perlu segera menunjuk dosen koordinator, dosen pengampu mata ajaran, dan dosen pembimbing semester genap Tahun Akademik 2024/2025

MENGINGAT

- : 1. Undang-undang No.12 tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
2. PP No. 4 tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
3. Statuta Yayasan Notokusumo tahun 2020;
4. SK Yayasan Nomor : 018/SK.01.04/YN/XI/2022 tanggal 14 November 2022 tentang Pengangkatan Ketua STIKES Notokusumo Yogyakarta periode 2022-2026.

MEMPERHATIKAN

- : Hasil rapat akademik tanggal tanggal 25 Februari 2025

MEMUTUSKAN

MENETAPKAN :

- Pertama : Mengangkat Saudara yang nama, jabatan dan tugasnya seperti tersebut dalam lampiran Surat Keputusan ini sebagai dosen koordinator, dosen pengampu mata ajaran, dan dosen pembimbing pada STIKES Notokusumo Yogyakarta untuk semester genap Tahun Akademik 2024/2025 Program S1 Farmasi
- Kedua : Surat Keputusan ini berlaku selama 1 (satu) semester, terhitung mulai tanggal 3 Maret 2025 s.d. 31 Juli 2025.
- Ketiga : Kepada dosen luar biasa diberikan honorarium mengajar berdasarkan jumlah sks yang diampunya, sesuai peraturan yang berlaku dilingkungan STIKES Notokusumo Yogyakarta.
- Keempat : Surat Keputusan ini disampaikan kepada yang bersangkutan untuk diketahui dan dilaksanakan sebagaimana mestinya.
- Kelima : Apabila di kemudian hari terdapat kesalahan dalam keputusan ini, akan dibetulkan sebagaimana mestinya.



Ditetapkan di : Yogyakarta
Pada tanggal : 3 Maret 2025

Ketua,
Taukhit, M. Kep.
NIK. 1000.094.011

Disampaikan kepada :
Yth. Dosen ybs

Tembusan kepada :
1. Yth. Wakil Ketua I dan II

Lampiran I Surat Keputusan Ketua STIKES
Nomor : 12.B/SK.12.04.02/III/2025
Tanggal : 3 Maret 2025

JOB DISCRIPTION KOORDINATOR MATA AJARAN

Kegiatan Manajerial koordinator Mata Kuliah (MK) mencakup 3 (tiga) fungsi manajemen yaitu :
Perencanaan, Pelaksanaan dan penilaian.

Perencanaan :

- a. Menyusun RPS dan pembagian tugas mengajar serta mengusulkan dosen pengampu setelah ada kesanggupan dari yang bersangkutan.
- b. Menyiapkan proses administrasi akademiknya (pengiriman format kesediaan mengajar dilampiri format waktu yang disediakan dan RPS, format RP).

Pelaksanaan :

- a. Memantau kehadiran dosen mata kuliah yang bersangkutan sesuai dengan wewenang koordinator MK
- b. Meminta jam pengganti untuk kuliah yang ditinggalkannya.
- c. Memantau materi pengajaran yang telah disampaikan.

Penilaian :

- a. Mengkaji usulan soal ujian
- b. Mengolah data hasil ujian dan menyerahkan hasilnya ke Sub Bagian Administrasi Akademik.

Yogyakarta, 3 Maret 2025
Ketua,

Taukhit, M.Kep. h
NIK. 1000.094.011

Lampiran II Surat Keputusan Ketua STIKES
Nomor : 12.B/SK.12.04.02/III/2025
Tanggal : 3 Maret 2025

JOB DISCRPTION KOORDINATOR PRAKTIKUM

Kegiatan Manajerial koordinator yang dijalankan oleh koordinator Praktikum dapat dibagi menjadi 3 unsur yaitu : perencanaan, pelaksanaan dan penilaian

Perencanaan :

- a. Menyusun acuan, jadwal dan alokasi waktu praktikum.
- b. Menyusun Modul Praktikum dan Ruprik Penilaian.

Pelaksanaan :

- a. Menyampaikan pembekalan asistensi praktiku
- b. Menyelenggarakan ujian praktek laboratorium di institusi
- c. Menyiapkan segi administratif dan protokoler

Penilaian :

- a. Menyelenggarakan ujian
- b. Mengolah data (nilai) hasil ujian.

Yogyakarta, 3 Maret 2025
Ketua,

Taukhit, M. Kep. A.
NIK. 1000.094.011



DAFTAR NAMA DOSEN KOORDINATOR DAN PENGAMPU MATA ABAHAN
SEMESTER GENAP (II, IV, VI dan VIII) PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
TA. 2024/2025

Lampiran SK Nomor : 12.B/SK.12.04.02/III/2025
Tanggal : 3 Maret 2025

NO.	NAMA DOSEN	INSTITUSI	MA	KODE MK	SKS/2 KLS.	JML SKS	TOTAL SKS	TOTAL JML PERTEMU.	PESERTA/ KELAS	KETERANGAN	JML. SKS MA
1	apt. Amanda Marcelin, M.Sc.	STIKES Notokusumo	Tugas belajar (Studi lanjut S3)							Semester II : MA-Kewirausahaan (2 SKS) MA-Pendidikan Budaya Anti Korupsi (2 SKS) MA-Bahasa Inggris II (2 SKS) MA-Compounding dan Dispensing (2 SKS) MA-Kimia Analisis (2 SKS) MA-Kimia Organik (2 SKS) MA-Anatomi Fisiologi Manusia dan Terminologi Medis (2 SKS) MA-Farmasi Fisika (2 SKS) MA-Praktikum Farmasi Fisika (1 SKS) MA-Praktikum Kimia Analisis (1 SKS) MA-Praktikum Compounding dan Dispensing (1 SKS)	
2	apt. Fajar Agung Dwi Hartono, MSc.	STIKES Notokusumo	Farmasi Fisika Praktikum Farmasi Fisika Manajemen Farmasi Farmasi Industri Pemasangan Bahan Baku Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR6240824 FAR6241024 FAR6702 FAR6519 FAR6321 FAR6706 FAR6707	1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 4 Kls 0,5 SKS X 2 Kls 0,5 SKS X 1 Kls 0,5 SKS X 1 Kls 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8 0,5 SKS X 10	2 4 1 0,5 0,5 2 4 5	19	14 56 79 78 4 21 8 10	Farmasi Fisika (KOORD.) Praktikum Farmasi Fisika (KOORD.) Manajemen Farmasi (KOORD.) Farmasi Industri (KOORD.) Pemasangan Bahan Baku (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing) Skripsi (Ketua Penguji)		
3	apt. Dan Purwita Sari, M.Biotech.	STIKES Notokusumo	Kimia Organik Analisis Obat Praktikum Analisis Obat Eiusdasi Struktur Analisis Makanan dan Kosmetika Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR6250224 FAR6507 FAR6531 FAR6518 FAR6517 FAR6706 FAR6707	0,5 SKS X 2 Kls 1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 4 Kls 0,5 SKS X 1 Kls 0,5 SKS X 1 Kls 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8 0,5 SKS X 10	1 2 4 0,5 0,5 2 4 5	19	6 14 56 4 4 1 8 10	Kimia Organik (KOORD.) Analisis Obat (KOORD.) Praktikum Analisis Obat (KOORD.) Eiusdasi Struktur (KOORD.) Analisis Makanan dan Kosmetika (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing) Skripsi (Ketua Penguji)	Semester IV : MA-Statistika Kesehatan (2 SKS) MA-Manajemen Farmasi (2 SKS) MA-Marketing Farmasi (2 SKS) MA-Kewirausahaan (2 SKS) MA-Farmakognosi II (2 SKS) MA-Analisis Obat (2 SKS) MA-Farmasi dan Teknologi Sediaan solid (2 SKS) MA-Farmakologi dan Toksikologi (2 SKS) MA-Praktikum Analisis Obat (1 SKS) MA-Praktikum FTS solid (1 SKS) MA-Praktikum Farmakologi dan Toksikologi (1 SKS)	
4	apt. Fajar Ira Iwatha, M.Farm.	STIKES Notokusumo	Tugas belajar (Studi lanjut S3)								
5	apt. Chotiljatan Nasiriyah, M.Farm.	STIKES Notokusumo	Farmakokinetika Dasar Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar Farmakoterapi II Praktikum Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR6509 FAR6607 FAR6611 FAR6619 FAR6706 FAR6707	1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 1 Kls 2 SKS X 1 Kls 1 SKS X 3 Kls 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8 0,5 SKS X 10	2 1 2 3 2 4 5	19	14 7 14 42 74 1 10	Farmakokinetika Dasar (KOORD.) Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar (KOORD.) Farmakoterapi II (KOORD.) Praktikum Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing) Skripsi (Ketua Penguji)	Semester VI (Minat FSBA) : MA-Metodologi Penelitian (2 SKS) MA-Analisis Makanan dan Kosmetika (2 SKS) MA-Eiusdasi Struktur (2 SKS) MA-Farmasi Industri (2 SKS) MA-FTS Kosmetika (2 SKS) MA-Pemasangan Bahan Baku (2 SKS) MA-Pengembangan Produk (2 SKS) MA-Pharmacovigilance (2 SKS) MA-Validasi (1 SKS) MA-Praktikum Validasi (1 SKS)	
6	apt. Trifonia Rosa Kurniasih, M.Biotech	STIKES Notokusumo	Formulasi dan Teknologi Sediaan Solid Praktikum FTS Solid Formulasi dan Teknologi Sediaan Kosmetika Pengembangan Produk Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR6508 FAR6532 FAR6520 FAR6522 FAR6706 FAR6707	1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 4 Kls 1 SKS X 1 Kls 1 SKS X 1 Kls 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8 0,5 SKS X 11	2 4 1 1 2 4 5,5	19,5	14 56 7 7 21 8 11	Formulasi dan Teknologi Sediaan Solid (KOORD.) Praktikum FTS Solid (KOORD.) Formulasi dan Teknologi Sediaan Kosmetika (KOORD.) Pengembangan Produk (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing) Skripsi (Ketua Penguji)	Semester VI (minat FKM): MA-Metodologi Penelitian (2 SKS) MA-Fitoterapi (2 SKS) MA-Evidence Based Medicine (2 SKS) MA-KIE (2 SKS) MA-Farmasi Rumah Sakit dan Apotek (2 SKS) MA-Farmakoterapi Populasi Khusus (2 SKS) MA-Farmakoeptimologi (2 SKS) MA-Farmakoterapi II (2 SKS) MA-Pharmacovigilance (2 SKS) MA-Praktikum KIE (1 SKS) MA-Praktikum Farmakoterapi II (1 SKS)	
7	apt. Astri Rachmawati, M.Sc.	STIKES Notokusumo	Anatomi Fisiologi Manusia dan Terminologi Medis Kewirausahaan Fitoterapi Pharmacovigilance Evidence Based Medicine Farmasi Rumah Sakit dan Apotek Farmakoterapi Populasi Khusus Skripsi	FAR6240924 FAR6701 FAR6609 FAR6622 FAR6606 FAR6604 FAR6604 FAR6707	1 SKS X 2 Kls 0,5 SKS X 2 Kls 1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 2 Kls 2 SKS X 1 Kls 1 SKS X 1 Kls 0,5 SKS X 10 0,5 SKS X 11	2 1 1 2 1 2 5 5,5	21,5	14 8 14 95 74 14 7 10 11	Anatomi Fisiologi Manusia dan Terminologi Medis Kewirausahaan (KOORD.) Fitoterapi (KOORD.) Pharmacovigilance (KOORD.) Evidence Based Medicine (KOORD.) Farmasi Rumah Sakit dan Apotek (KOORD.) Farmakoterapi Populasi Khusus (KOORD.) Skripsi (Pembimbing) Skripsi (Ketua Penguji)		
8	apt. Catherine Apriyani, M.Farm	STIKES Notokusumo	Compounding dan Dispensing Praktikum Compounding dan Dispensing Farmakognosi II Fitoterapi Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR6240724 FAR6241224 FAR6506 FAR6609 FAR6706 FAR6707	1 SKS X 2 Kls 1 SKS X 4 Kls 1 SKS X 2 Kls 0,5 SKS X 2 Kls 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8	2 4 2 2 2 4	20,5	14 56 79 14 6 8	Compounding dan Dispensing (KOORD.) Praktikum Compounding dan Dispensing (KOORD.) Farmakognosi II (KOORD.) Fitoterapi (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing)	Semester VIII : MA-Kuliah Kerja Nyata/KKN (4 SKS) MA-Skripsi (4 SKS)	

NO.	NAMA DOSEN	INSTITUSI	MA	KODE MK	SKS/2 MS.	JML. SKS	TOTAL SKS	TOTAL JML PERTEMU.	PESERTA/ KELAS	KETERANGAN	JML. SKS MA
			Skripsi	FARF707	0,5 SKS X 11	5,5			11	Skripsi (Ketua Bengkel)	
9	apt. Bayu Bakti Angga S, M.Pharm.Sci	Sikes Notokusumo	Kimia Analisis Praktikum Kimia Analisis Fitoterapi Validasi Praktikum Validasi Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR650124 FAR650324 FARF609 FARF323 FARF366 FARF706 FARF707	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 4 Hs 0,5 SKS X 1 Hs 1 SKS X 1 Hs 1 SKS X 1 Hs 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8	2 4 1 1 1 2 5,5	20,5	14 56 8 14 21 14 11	79 79 95 21 21 1 8	Kimia Analisis (KOORD.) Praktikum Kimia Analisis (KOORD.) Fitoterapi Validasi (KOORD.) Praktikum Validasi (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing)	
10	apt. Dasi Novita Revianawati, M.Farm	Sikes Notokusumo	Anatom Fisiologi Manusia dan Terminologi Medis Statistika Kesehatan Metodologi Penelitian Praktikum Farmakoterapi II Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FAR640924 FARF411 FARF704 FARF620 FARF706 FARF707	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 3 Hs 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8	2 2 2 3 2 4	20,5	14 14 14 42 74 11	79 78 95 74 74 8	Anatom Fisiologi Manusia dan Terminologi Medis (KOORD.) Statistika Kesehatan (KOORD.) Metodologi Penelitian (KOORD.) Praktikum Farmakoterapi II (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing)	
11	apt. Karmelia Intan Doko, M.Pharm	Sikes Notokusumo	Marketing Farmasi Farmakologi dan Toksikologi Praktikum Farmakologi dan Toksikologi Farmakosepidemiologi Kuliah Kerja Nyata Skripsi	FARF703 FARF510 FARF533 FARF610 FARF706 FARF707	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 4 Hs 1 SKS X 1 Hs 2 SKS X 1 0,5 SKS X 8	2 2 4 2 2 4	20,5	14 14 56 7 74 11	78 78 78 74 1 8	Marketing Farmasi (KOORD.) Farmakologi dan Toksikologi (KOORD.) Praktikum Farmakologi dan Toksikologi (KOORD.) Farmakosepidemiologi (KOORD.) Kuliah Kerja Nyata (Pembimbing) Skripsi (Pembimbing)	
12	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si	Sikes Notokusumo	Kimia Analisis Kimia Organik	FAR6250124 FAR6250224	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs	2 2	4	14 14	79 79	Kimia Analisis Kimia Organik	
13	Yusuf Andriyung, Ph.D	Sikes Notokusumo	Farmakognosi II Metodologi Penelitian	FARF506 FARF704	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs	2 2	4	14 14	78 95	Farmakognosi II Metodologi Penelitian	
	DOSEN TIDAK TERDAFTAR										
1	Tisna Sukmayadi Spd, M.Pd.		Kewarganegaraan Pendidikan Budaya Anti Korupsi	FAR6210324 FAR6220224	2 SKS X 2 Hs 2 SKS X 2 Hs	4 4	8	28 28	79 79	Kewarganegaraan (KOORD.) Pendidikan Budaya Anti Korupsi (KOORD.)	
2	Hb. Agus Wibowo, M.Hum		Bahasa Inggris II	FAR6230224	1 SKS X 2 Hs	2	2	14	79	Bahasa Inggris II (KOORD.)	
3	Sekar Pramudita, S.Pd., M.Hum		Bahasa Inggris II	FAR6230224	1 SKS X 2 Hs	2	2	14	79	Bahasa Inggris II	
4	apt. Endan Sri Lestari, M.Farm		Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar Pengembangan Produk	FARF607 FARF522	1 SKS X 1 Hs 1 SKS X 1 Hs	1 1	1	7 7	74 21	Komunikasi, Informasi dan Edukasi Dasar Pengembangan Produk	
5	apt. Indrawati Kurnia Setyan, M.Pharm.Sci		Manajemen Farmasi	FARF702	1,5 SKS X 2 Hs	3	3	20	78	Manajemen Farmasi	
6	apt. Ineko Kurniasari S., M.Si.		Kewirausahaan	FARF701	1,5 SKS X 2 Hs	3	3	20	78	Kewirausahaan	
7	apt. Nabai Chikela Gibran, M.Farm		Compound dan Dispensing Marketing Farmasi	FAR6240724 FARF703	1 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs	2 2	4	14 14	79 78	Compound dan Dispensing Marketing Farmasi	
8	apt. S. Ch Ari Widastuti, S.Si, M.Farm		Kimia Organik Analisis Obat	FAR6250224 FARF507	0,5 SKS X 2 Hs 1 SKS X 2 Hs	1 2	4,5	8 14	79 95	Kimia Organik Analisis Obat	
9	Dasy Ayu Irma Permatazai, S.Si, M.Pharm.Sci.		Analisis Makanan dan Kosmetika	FARF517	1,5 SKS X 1 Hs	1,5		10	21	Analisis Makanan dan Kosmetika	
10	apt. Dwi Herwanto, M. Farm		Farmakokinetika Dasar	FARF509	1 SKS X 2 Hs	2	2	14	78	Farmakokinetika Dasar	
11	apt. Enggar Nugrahen Putri, S.Farm		Formulasi dan teknologi Sediaan Kosmetika	FARF520	1 SKS X 1 Hs	1	1	7	21	Formulasi dan teknologi Sediaan Kosmetika	
12	apt. Fransiscus Beddy, Rhandono, M.Farm		Evidence Based Medicine Farmakosepidemiologi	FARF606 FARF610	1 SKS X 1 Hs 1 SKS X 1 Hs	1 1	2	7 7	74 74	Evidence Based Medicine Farmakosepidemiologi	
13	apt. Husnun Khairunnisa, M.Farm		Formulasi dan teknologi Sediaan Solid	FARF508	1 SKS X 3 Hs	2	2	14	78	Formulasi dan teknologi Sediaan Solid	

NO.	NAMA DOSEN	INSTITUSI	MA	KODE MK	SKS/2 KLS.	JML. SKS	TOTAL SKS	TOTAL JML. PERTEMU.	PESERTA/ KELAS	KETERANGAN	JML. SKS MA
14	Aref Kusuma Wardeni, M.Pharm.Sci		Eusdasi Struktur	FAF518	1,5 SKS X 1 Kls	1,5	1,5	10	21	Eusdasi Struktur	
15	Bonifacius van Wiranara, M.Farm		Farmasi Fisika	FAF6240824	1 SKS X 2 Kls	2	3,5	14	79	Farmasi Fisika	
			Penggunaan Bahan Baku	FAF521	1,5 SKS X 1 Kls	1,5		10	21	Penggunaan Bahan Baku	
16	Verawati Fajri, M.Ec.Dev		Statistika Kesehatan	FAF411	1 SKS X 2 Kls	2	2	10	95	Statistika Kesehatan	
17	apt. Andey Wahyudi, M.Farm		Farmakologi dan Toksikologi	FAF510	1 SKS X 2 Kls	2	5	14	78	Farmakologi dan Toksikologi	
			Pharmacovigilance	FAF622	1 SKS X 2 Kls	2		14	95	Pharmacovigilance	
			Farmakoterapi Populasi Khusus	FAF604	1 SKS X 1 Kls	1		7	74	Farmakoterapi Populasi Khusus	
18	apt. Yuda Kristama, S.Farm		Farmasi Industri	FAF519	1,5 SKS X 1 Kls	1,5	1,5	10	21	Farmasi Industri	

Yogyakarta, 3 Maret 2025
Wakil Kepala Bidang Akademik

Novi Widayanti R. M. Kep. Sp. Kep. J.
NIK.1000.097.011



RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER

MATA KULIAH : KIMIA ANALISIS

Disusun oleh :

apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci.

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA
TAHUN AKADEMIK 2024/2024**

	SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA	Kode/No.: 06/FM/PD.01/NK
		Tanggal : 2025
	RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER (RPS)	Revisi : 01
		Halaman : 1 dari 3

**PENGESAHAN
RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER
KIMIA ANALISIS**

Proses	Penanggung jawab			Tanggal
	Nama	Jabatan	Tanda tangan	
Penyusun	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci.	Koordinator mata kuliah		20 Feb 2025
Pemeriksa	apt. Fajar Agung Dwi Hartanto, M.Sc	Ka.Prodi/Gugus Mutu Prodi		
Persetujuan	Taukhit, S.Kep., Ns., M.Kep.	Ketua STIKES		
Pengendalian	Septiana Fathonah, S.Kep., Ns., M.Kep.	LPM		

1	RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER (RPS) PROGRAM STUDI : S 1 FARMASI INSTITUSI : SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTUKUSMO YOGYAKARTA TAHUN AKADEMIK : 2024/2025	
2	Nama Mata Kuliah	Kimia Analisis
3	Kode	FARF501
4	Semester	II (genap)
5	Beban kredit	2 sks
6	Dosen pengampu	1. apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci 2. Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si
7	Deskripsi mata kuliah	Mata kuliah Kimia Analisis berisi materi pendahuluan pentingnya menganalisis obat secara kualitatif, pengantar analisis obat, langkah awal dalam identifikasi obat, reaksi- reaksi pendahuluan, identifikasi terhadap zat asal, identifikasi gugus fungsi, identifikasi anion dan kation senyawa obat golongan anorganik, identifikasi unsur senyawa obat golongan organik, pengenalan timbangan dan alat-alat pengukur, analisis gravimetri dan volumetri yang meliputi: titrasi asam-basa, argentometri, kompleksometri, iodi dan iodometri, permanganometri..
8	Capaian Pembelajaran	CPL – Prodi (Capaian Pembelajaran Lulusan Program Studi) yang Dibebankan Pada Mata Kuliah 1. Mampu menunjukkan sikap budi pekerti luhur (CP.S.01) 2. Menunjukkan sikap bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (CP.S.08) 3. Mampu menunjukkan kinerja bermutu dan terukur (CP.KU.02) 4. Mampu mencari, menelusur kembali, mengevaluasi, mensintesis, menyiapkan, dan memberikan informasi pada pasien, masyarakat dan tenaga kesehatan lainnya terkait kesehatan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya dalam rangka konsultasi, pemberian informasi obat, maupun edukasi (CP.KK.04) 5. Menguasai konsep teoritis berbagai ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kefarmasian, riset, dan pengembangan diri (CP.P.09)
		CPMK (Capaian Pembelajaran Mata Kuliah) 1. Memahami dan mampu melakukan reaksi pendahuluan dan identifikasi awal senyawa obat golongan organik. 2. Memahami dan mampu melakukan penentuan kadar senyawa obat anorganik yang meliputi metode gravimetri dan volumetri. 3. Dasar-dasar keilmuan yang cukup untuk melanjutkan ke mata kuliah berikutnya yaitu Analisis Instrumental, Interpretasi Data Klinik, Analisis Obat, Analisis Makanan dan Kosmetika.
9	Bahan kajian	1. Pendahuluan kimia analisis, prosedur, teknik, metode dan Analisisnya. 2. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif 3. Titrasi 4. Pengantar Spektroskopi 5. Spektrofotometri Massa dan AAS 6. <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA) 7. Kromatografi 8. Kromatografi Cair

		9. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) 10. Spektrofotometri Infra Merah (IR). 11. Spektrofotometri UV-Vis 12. Analisis Elektrophoresis 13.
10	Pustaka/ Literatur	1. Jamilatur Rohmah, Chylen Setiyo Rini, 2021, Buku Ajar Kimia Analisis, UMSIDA: Sidoarjo. 2. Harpolia Cartika. 2016. Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi: Kimia Farmasi. Pusdik SDMKes, Kemenkes RI: Jakarta. 3. Harpolia Cartika. 2017. Bahan Ajar Farmasi: Kimia Farmasi II. Pusdik SDMKes, Kemenkes RI: Jakarta. 4. Farmakope Indonesia Ed VI. 2020. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. 5. Pedersen-Bjergaard, S., Gammelgaard, B., & Halvorsen, T. G. (2019). <i>Introduction to pharmaceutical analytical chemistry</i> (2nd ed.). Wiley 6. Mursyidi, A., and Rohman, A. 2008. <i>Volumetri dan Gravimetri</i> . Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. 7. E.G.C Clarke (Editor), <i>Isolation and Identification of Drugs</i> , London, The Pharmaceutical Press, 1999. 8. Sigried Ebel, <i>Obat Sintetik</i> , Gajah Mada University Press. <i>Ekstra Farmakope Indonesia</i> . 9. Vogel, <i>A Textbook of Qualitative Inorganic Analysis</i> , Longman, London, 1979. 10. Moffat, A.C., Osselton, Md & Widdop, B., 2011, <i>Clarkes Analysis of drug and Poison</i> , 4 th ed., Pharmaceutical Press, London, UK. 11. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2014. <i>Fundamentals of Analytical Chemistry</i> , Belmont CA: Brooks/Cole Cengage Learning. 12. Jeffery, G.H., Basset, J., Mendham, J., Denney, R.C., 1989. <i>Vogel's A Text Book of Quantitative Chemical Analysis</i> , 5 th Ed., New York : John Wiley and Sons. 13. Harris, D.C., 2007. <i>Quantitative Chemical Analysis</i> , 7 th Ed., New York : W. H. Freeman and Company.

Acara Pembelajaran

Kelas 1A: Kamis jam 08.00

Kelas 1B: Jumat jam 08.00

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir Yang Diharapkan	Bahan Kajian	Strategi/ Metoda Pembelajaran	Alokasi Waktu	Kriteria (Indikator Capaian)	Instrumen Penilaian	Bobot Penilaian	Dosen Pengampu
10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 Kelas A: Kamis 6 Maret 2025 Jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami pentingnya ilmu tentang analisis obat, metode analisis kuantitatif konvensional.	Pengantar Kuliah : kontrak belajar, RPS, penugasan. a. Pendahuluan Kimia Analisis b. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif c. Prosedur analisis d. Teknik analisis e. Metode analisis	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang perbedaan metode, prosedur, dan teknik analisis kimia kuantitatif konvensional melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci

Kelas B: Jumat 7 Maret 2025 jam 08.00		f. Analisis kuantitatif dan skala operasinya Tugas: mencari dan mempelajari dari Farmakope Indonesia, mengenai salah satu obat yang memiliki deskripsi analisis kimia dengan metode volumetri.						
2 Kelas A: Kamis 13 Maret 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 14 Maret 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang cara penyiapan sampel.	Pengantar Analisis Kualitatif dan Kuantitatif a. Pengambilan sampel. b. Penyimpanan sampel. c. Pra-perlakuan sampel. d. Kesalahan dalam analisis. e. Cara menyatakan kesalahan. f. Ketepatan dan ketelitian (accuracy and precision). g. Uji kebermaknaan. h. Cara penulisan angka. i. Menyatakan hasil akhir. j. Linieritas dan regresi.	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang cara penyiapan sampel melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci
3 Kelas A: Kamis 20 Maret 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 21 Maret 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan kesalahan dan pengolahan data analisis.	Titration a. Prinsip Titration b. Titration asam basa c. Titration redox	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang kesalahan dan pengolahan data analisis melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci

4 Kelas A: Kamis 10 April 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 11 April 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang sifat fisika-kimia molekul obat.	Pengantar Metode Spektroskopi a. Prinsip spektroskopi b. Absorpsi senyawa c. Gugus auktokrom, kromofor d. Fluoresensi e. Atom dan Radiasi elektromagnetik f.	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang sifat fisika-kimia molekul obat melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci
5 Kelas A: Kamis 17 April 2025 Jam 8.00 Kelas B: Jumat 18 April 2025 jam 8.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang identifikasi senyawa organik, identifikasi anion dan kation dari senyawa anorganik.	Spektrofometri Massa & AAS a. Prinsip b.	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang kation dan anion senyawa anorganik, serta beberapa contoh reaksinya melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci
6 Kelas A: Kamis 24 April 2025 Jam 8.00 Kelas B: Jumat 25 April	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang titrasi argentometri.	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang kegunaan titrasi argentometri, dan aplikasinya melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci

2025 jam 8.00								
7 Kelas A: Kamis 1 Mei 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 2 Mei 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang metode dan intepretasi data suatu metode analisis kimia.	Studi Jurnal Analisis Kimia (Tugas)	Presentasi, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang tentang metode dan intepretasi data analisis kimia melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	apt. Bayu Bakti Angga Santoso, M. Pharm. Sci
8 5-9 Mei 2025	UJIAN TENGAH SEMESTER 5-9 Mei 2025							

9 Kelas A: Kamis 15 Mei 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 16 Mei 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang teori titrasi kompleksometri dan penerapannya.	Prinsip Metode Analisis Kromatografi a. Pendahuluan b. Prinsip c. Retensi d. Efisiensi e. Selektivitas f. Resolusi	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang teori titrasi kompleksometri dan penerapannya melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si
10 Kelas A: Kamis 22 Mei 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 23 Mei 2025 jam 08.00		Metode Analisis Kromatografi Cair a. Pendahuluan b. Kromatografi fase terbalik c. Kromatografi fase normal d. Kromatografi Kolom e. Kromatografi ion exchange f. Kromatografi Lapis Tipis						

11 Kelas A: Kamis 29 Mei 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 30 Mei 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang langkah-langkah analisis obat secara kualitatif, serta identifikasi gugus fungsi.	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) a. Prinsip KCKT b. Bagian dan Fungsi KCKT c. Analisis Kuantitatif dan kualitatif	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang senyawa anorganik dan contoh-contoh reaksinya, langkah-langkah identifikasi obat, reaksi-reaksi pendahuluan identifikasi obat, gugus fungsi, sifat dan reaksi terkait gugus fungsi melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si
12 Kelas A: Kamis 5 Juni 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 6 Juni 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang titrasi permanganometri.	Spektrofotometri Infra Merah (IR). a. Analisis kualitatif dan kuantitatif dengan Spektro IR. b. Interpretasi spektra infra merah. a.	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang titrasi permanganometri dan aplikasinya melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si

13 Kelas A: Kamis 12 Juni 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 13 Juni 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang metode titrimetri dan titrasi asam basa.	Spektrofotometri UV-VIS b. Kromofor, aoksokrom. c. Pergeseran serapan panjang gelombang (batho,hipso,hiper, hipokromik). d. Efekpelarut, pemilihan pelarut. e. Perhitungan analisis Kualitatif & kuantitatif f. Kurva baku dan cara menentukan kurva baku(LeastSquare Method,dan kalkulasi melalui excel,membuat grafik kurva baku). g. Pengukuran kadar campuran/multikom ponendengan spektrofotometri. a. SpektrofotometriVis (Kolorimetri).	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang macam-macam metode titrimetri dan penggunaannya, titrasi asam basa, titrasi bebas air melalui metode ujian tulis UTS secara tepat	Soal UTS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si
14 Kelas A: Kamis 19 Juni 2025 Jam 08.00 Kelas B: Jumat 20 Juni 2025 jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang metode analisis gravimetri.	Analisis Elektrophoresis a. Gel Elektrophoresis b. SDS-Page c. Western Blot	Ceramah, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang metode analisis gravimetri dan kegunaannya melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si
15 Kelas A: Kamis 26 Juni 2025 Jam 08.00	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan tentang metode dan intepretasi data suatu metode analisis kimia.	Studi Jurnal Analisis Kimia (Tugas)	Presentasi, Diskusi dan Penugasan	2 x 50 menit	Pengetahuan: Mahasiswa mampu menjelaskan tentang tentang metode dan intepretasi data analisis kimia melalui metode ujian tulis UAS secara tepat	Soal UAS Penilaian tugas/diskusi	7,1 %	Dr. Rofiq Sunaryanto, M.Si

Kelas B: Jumat 27 Juni 2025 jam 08.00								
16 7-14 Juli 2025	UJIAN AKHIR SEMESTER 7-14 Juli 2025							

KROMATOGRAFI

Buku acuan: Kimia Farmasi Analisis
Oleh: Prof.Dr.Ibnu Gholib Ganjar, DEA,Apt
Abdul Rohman, M.Si,Apt

Dasar-dasar Kromatografi

Defenisi

Prinsip
kromatografi

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan berdasarkan **interaksi suatu senyawa** pada **dua fase yang berbeda** (**fase gerak** dan **fase diam**) ketika senyawa melewati suatu medium penyokong.

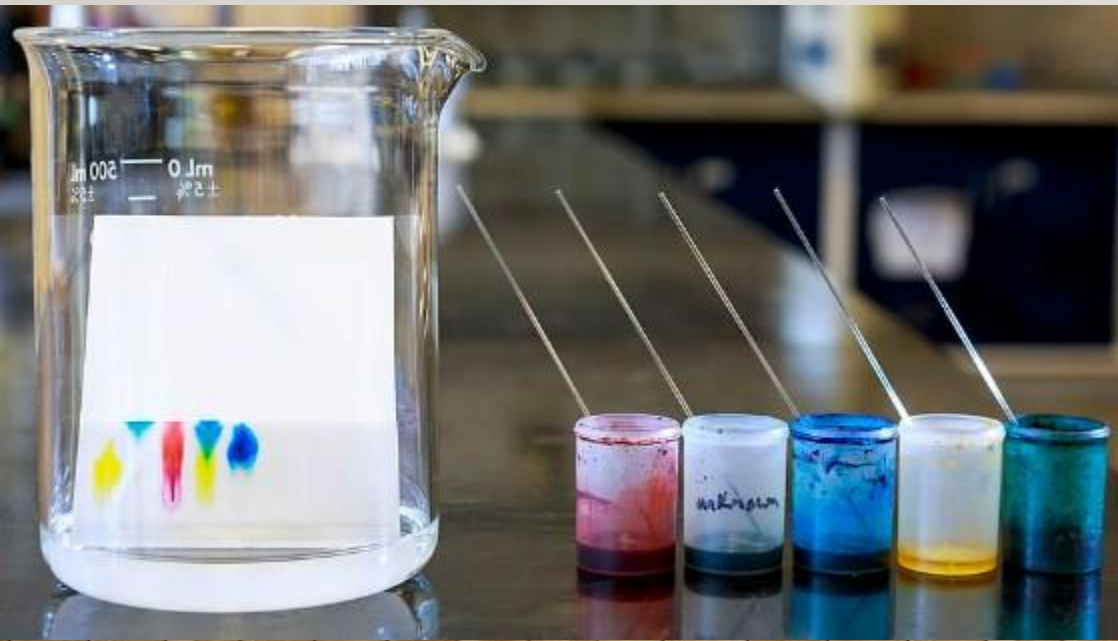
Komponen:

Overveiw
video

fase gerak: suatu pelarut yang mengalir melalui medium penyokong.

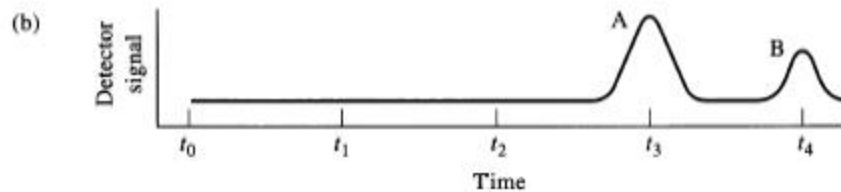
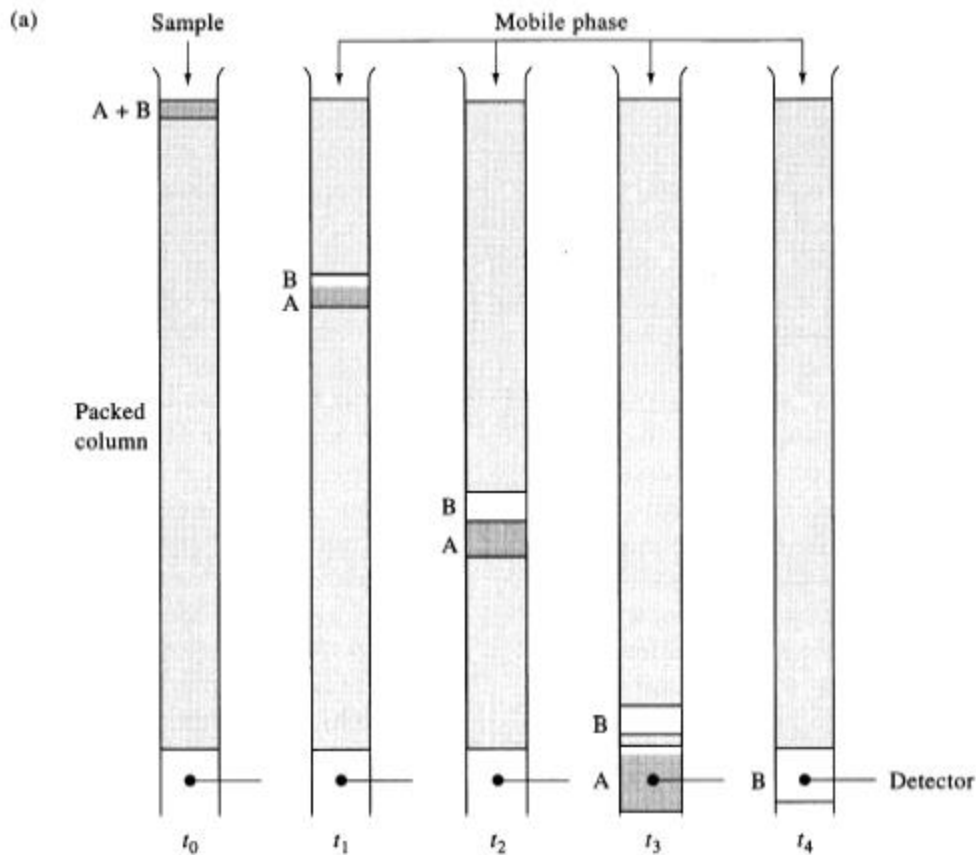
Fase diam: suatu lapisan atau selubung yang melapisi medium penyokong yang berinteraksi dengan analit

Medium penyokong: suatu permukaan padatan dimana fase diam terikat atau terlapisi.



KLT/TLC





Analit yang berinteraksi lebih kuat dengan fase diam akan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk melewati sistem dibandingkan dengan analit yang memiliki interaksi yang lebih lemah.

Interaksi-interaksi ini umumnya merupakan interaksi kimia, namun dalam beberapa kasus merupakan interaksi fisik.

Kromatogram dari detektor

Jenis-jenis kromatografi: - kromatografi dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis fase gerak, fase diam, dan material pendukung

TABLE 26-1 Classification of Column Chromatographic Methods

General Classification	Specific Method	Stationary Phase	Type of Equilibrium
Liquid chromatography (LC) (mobile phase: liquid)	Liquid-liquid, or partition	Liquid adsorbed on a solid	Partition between immiscible liquids
	Liquid-bonded phase	Organic species bonded to a solid surface	Partition between liquid and bonded surface
	Liquid-solid, or adsorption	Solid	Adsorption
	Ion exchange	Ion-exchange resin	Ion exchange
	Size exclusion	Liquid in interstices of a polymeric solid	Partition/sieving
Gas chromatography (GC) (mobile phase: gas)	Gas-liquid	Liquid adsorbed on a solid	Partition between gas and liquid
	Gas-bonded phase	Organic species bonded to a solid surface	Partition between liquid and bonded surface
	Gas-solid	Solid	Adsorption
Supercritical-fluid chromatography (SFC) (mobile phase: supercritical fluid)		Organic species bonded to a solid surface	Partition between supercritical fluid and bonded surface

Jenis Kromatografi

- 1.) pembagian utama dari teknik kromatografi **didasari dari jenis fase gerak** yang digunakan pada sistem:

Jenis Kromatografi

Kromatografi gas (GC)

Kromatografi cair (LC)

Jenis Fase gerak

gas

cair

- 2.) pembagian lebih lanjut dapat dilakukan berdasarkan **jenis fase diam** yang digunakan dalam sistem :

Kromatografi Gas

Metode kromatografi gas

kromatografi Gas-padat

Kromatografi Gas-cair

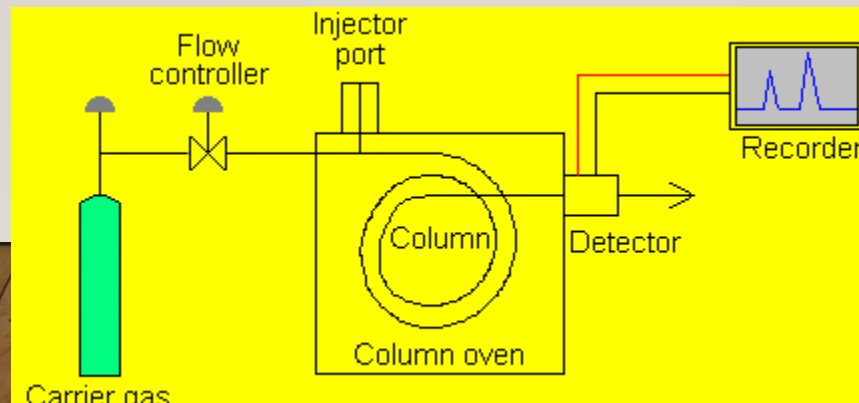
kromatografi gas-fase terikat

jenis fase diam

material padat yang tidak terderivatisasi

material terlapisi cairan

material terderivatisasi secara kimia



Jenis Kromatografi

Kromatografi Cair

Nama metode kromatografi cair

kromatografi adsorpsi

Kromatografi partisi

Kromatografi penukar ion

kromatografi eksklusi ukuran

kromatografi afinitas

Type of Stationary Phase

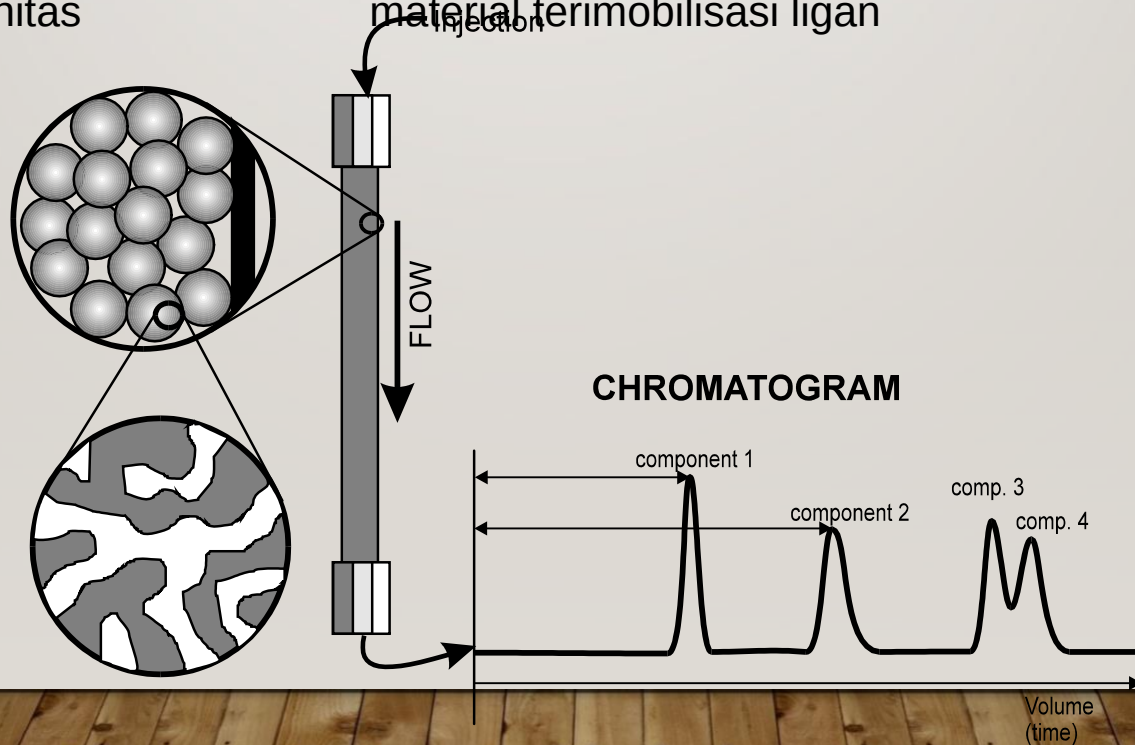
material padat tak terderivatisasi

material terderivatisasi atau terlapisi cairan

material memiliki muatan tetap

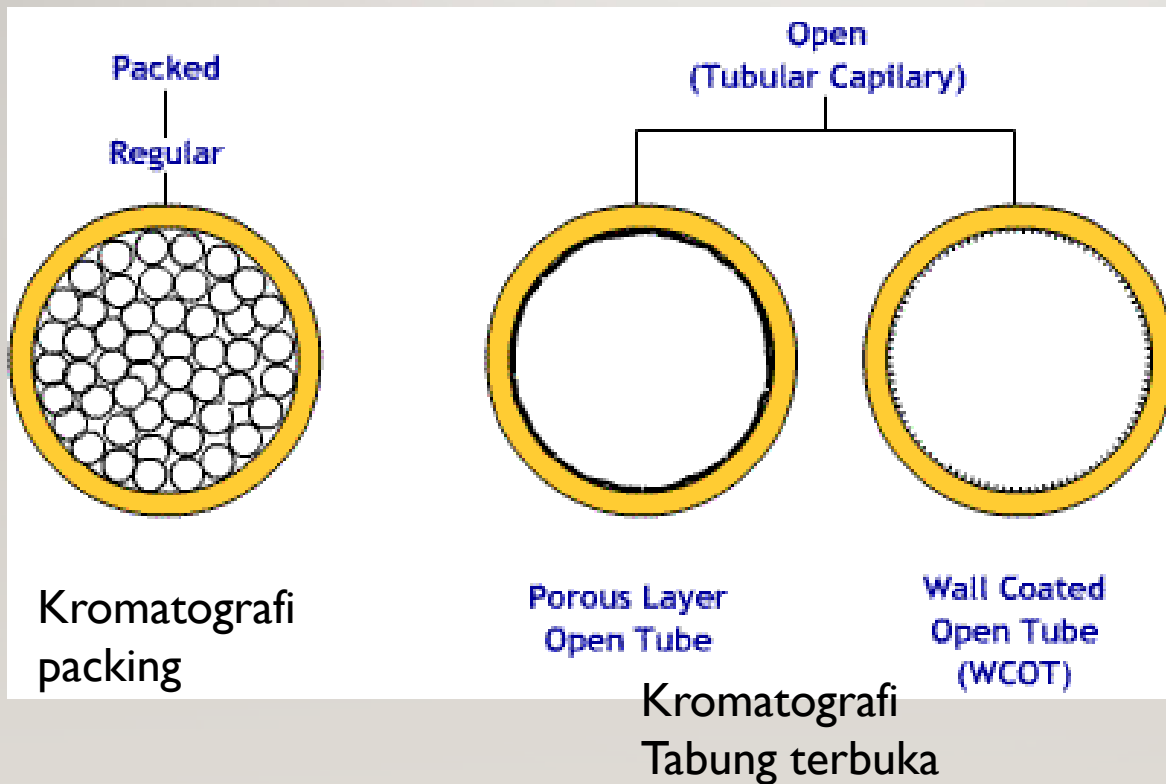
material berpori

material terimobilisasi ligan



3.) teknik kromatografi juga dapat diklasifikasikan berdasarkan **material pendukung** yang digunakan dalam sistem:

kromatografi **packing (kolom padat)**
kromatografi **tabung terbuka** (kapiler)
Kromatografi **alas terbuka (planar)**



Kromatografi Alas terbuka/Planar

KLASIFIKASI LAIN KROMATOGRAFI DILIHAT CARA APLIKASINYA

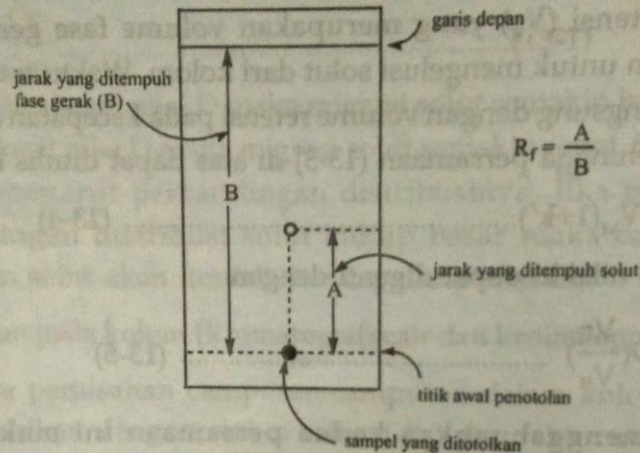
Teknik	Fase diam	Fase gerak	Bentuk	Mekanisme sorpsi yang utama
Kromatografi kertas	Kertas (selulosa)	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion, eksklusi)
Kromatografi lapis tipis (KLT)	Silika, selulosa, resin penukar ion, padatan yang porusnya dikendalikan	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion, eksklusi)
<i>Kromatografi gas</i> Kromatografi gas-cair (KGC)	Cair	Gas	Kolom	Partisi
Kromatografi gas-padat (KGP)	Padat	Gas	kolom	Adsorpsi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	Padatan atau fase terikat	Cair	Kolom	Partisi yang dimodifikasi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi eksklusi ukuran	Padatan dengan porositas yang dikendalikan	Cair	Kolom	Eksklusi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi penukar ion	Resin penukar ion atau fase terikat	Cair	Kolom	Pertukaran ion
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi kiral	Pemilih kiral padat	cair	Kolom	Adsorpsi secara selektif

Pemisahan pada kromatografi planar (kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis)

Kromatografi planar dihentikan sebelum semua fasa gerak melewati batas permukaan fasa diam. Solut pada kedua kromatografi ini dikarakterisasi dengan jarak migrasi solute terhadap ujung fase geraknya. Waktu retardasi solute (R_f) didefinisikan sebagai:

$$R_f = \frac{1}{1+k} \quad (13-8)$$

Gambaran untuk menghitung nilai R_f terdapat dalam gambar 13.1 berikut ini:



Gambar 13.1.
Bagaimana harga R_f diukur dan dihitung.
(sumber: Gritter *et al*, 1991)

Nilai R_f dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan (13-9):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (13-9)$$

INTERAKSI FASA DIAM DAN FASA GERAK YANG TERJADI DALAM PROSES KROMATOGRAFI

Proses Sorpsi

Proses **pemindahan solute dari fasa gerak ke fasa diam**. Kebalikannya proses desorpsi. Proses sorpsi dan desorpsi terjadi secara terus menerus selama proses pemisahan terjadi, karena proses kromatografi terjadi dalam keadaan kesetimbangan dinamis. Solut akan terdistribusi diantara 2 fasa yang bersesuaian dengan perbandingan distribusinya (D) untuk menjaga kesetimbangan. $D = C_s/C_m$

- Sorpsi =
1. Adsorpsi : **Penyerapan pada permukaan saja** dengan interaksi elektrostatis seperti ikatan hidrogen, penarikan dipol, penarikan induksi oleh dipol. Silika gel (gugus Si-O-Si dan Si-OH) gugus ini bersifat asam dan dapat membentuk ikatan hidrogen dengan solute yang agak polar sampai sangat polar.
 2. Partisi : Analog dengan proses ekstraksi, **dimana fasa diam cair diikatkan pada padatan lapis tipis yang inert**.
 3. Pertukaran ion : Solute pada fasa gerak dapat bertukar dengan ion-ion yang bermuatan sama yang terikat dengan fasa diam (resin penukar ion (kation/anion)).
 4. Eksklusi: Pemisahan berdasarkan **ukuran partikel** dari fasa diam yang di **packing (prinsipnya porositas fasa diam)**. **(pemisahan didasarkan struktur dan ukuran molekul)** mirip penyaringan.

Profil puncak dan pelebaran puncak

Puncak yang ideal dalam kromatogram adalah puncak yang sempit, tajam, dan simetri. Namun demikian banyak terjadi puncak yang melebar, adapun beberapa factor penyebabnya adalah sbb:

1. Sorpsi dan desorpsi terus menerus antara fasa diam dan fasa gerak secara inheren akan menghasilkan profil konsentrasi Gaussian yang akan melebar karena solute bermigrasi lebih lanjut.
2. Perjalanan solute melalui partikel fasa diam yang berbeda sehingga menyebabkan profil konsentrasinya melebar secara simetris.
3. Spesies solute menyebar ke segala arah dengan difusi Ketika bereada di fasa gerak. Difusi bisa searah dan berlawanan arah dengan aliran fasa gerak (longitudinal atau axial) sehingga terjadi pelebara pita.
4. Desorpsi yang lambat dapat juga mengakibatkan puncak yang asimetris.
5. Adanya variasi rasio distribusi solute dengan total konsentrasinya.

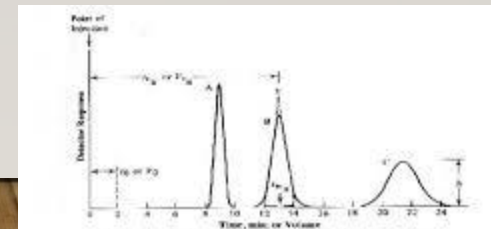
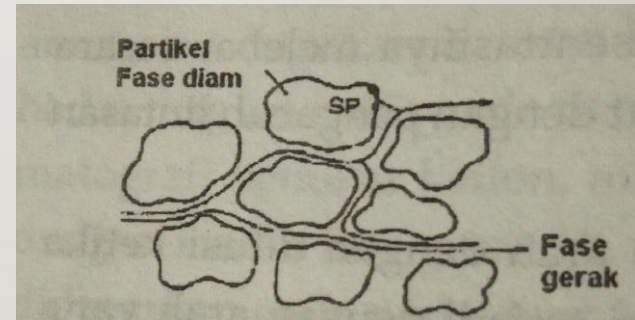
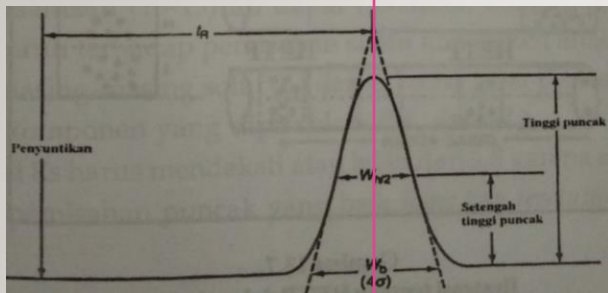
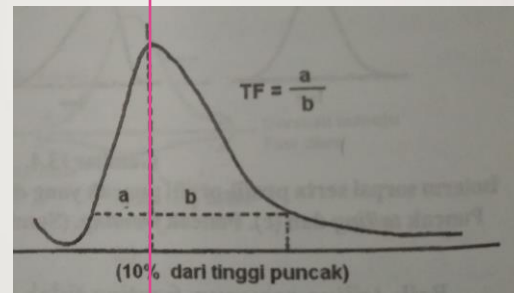


FIGURE 21-2. Chromatogram of the decomposition reaction of Figure 21-1. t_0 is time for solvent to elute; the column t_R is retention time of solute; t_{R1} is first detectable of solute; t_{R2} is peak height. Units can also be given in terms of volume rather than time: t_0 , t_{R1} , t_{R2} , and t_{R3} .

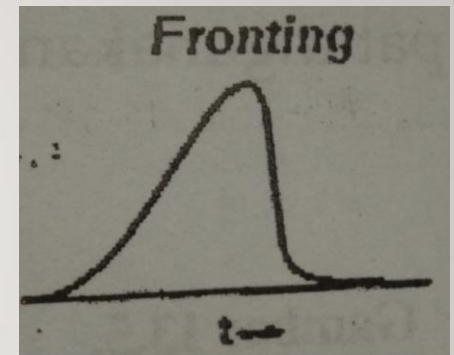
t_m , t_0 = Waktu migrasi t_r = waktu retensi h = tinggi puncak
 $2W$, W = lebar puncak random fluctuations



Puncak simetri

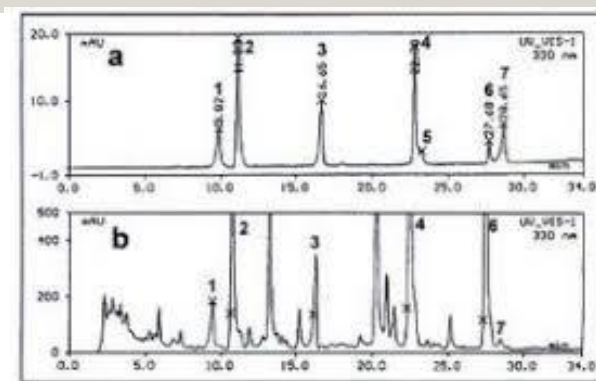
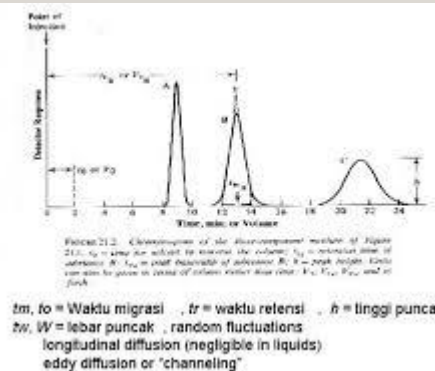


Puncak asimetri



Terjadinya puncak yang asimetris disebabkan oleh:

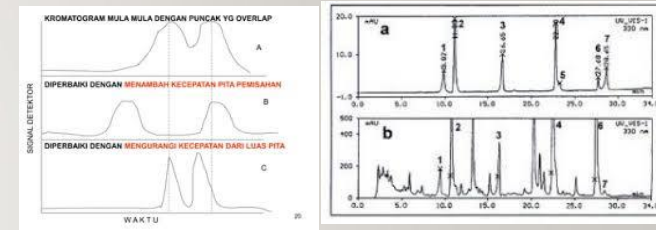
1. Ukuran sample yang terlalu pekat untuk dianalisis. Rawan terjadi tailing (ekor melebar).
2. Interaksi yang terlalu kuat antara solute dengan fasa diam sehingga sulit untuk terelusi, sehingga terjadi tailing.
3. Adanya kontaminan dalam sample yang dapat muncul terlebih dahulu sehingga menimbulkan puncak mendahului (fronting) (melebar/condong kedepan).



Efisiensi kolom

Ada 2 parameter untuk menilai kualitas pemisahan:

1. Efisiensi : Ukuran banyaknya pelebaran puncak masing2 puncak solute.
2. Resolusi : tingkat pemisahan puncak-puncak yang berdekatan.



Efisiensi berkaitan dengan jumlah lempeng (plate number) atau N, dan jumlah lempeng berkaitan dengan waktu retensi t_R . Hubungan ini disajikan dalam persamaan sebagai berikut:

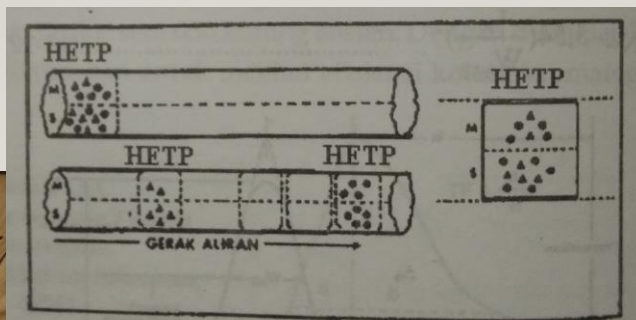
N: jumlah lempeng, t_R : waktu retensi, σ (sigma) standar deviasi lebar puncak.

Dalam prakteknya lebih mudah mengukur lebar puncak (W_b) dan lebar setengah puncak $W_{b/2}$

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma_t} \right)^2$$

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \dots\dots$$
$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$$

Pemisahan kolom juga tergantung pada **tinggi lempeng (H)** atau juga disebut tinggi setara plate teori (**HETP= Height Equivalent Theoretical Plate**).



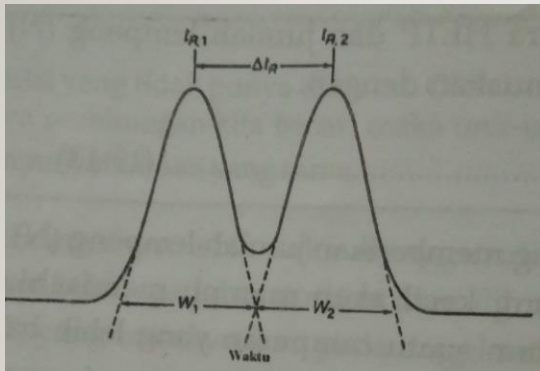
Hubungan antara H dan N adalah ;

$H = L/N$ dimana N jumlah lempeng, dan L panjang kolom

Semakin kecil H maka semakin efisien dalam pemisahan

Resolusi Kromatogram

Resolusi kromatogram didefinisikan sebagai perbedaan antara waktu retensi 2 puncak yang paling berdekatan ($\Delta t_R = t_{R2} - t_{R1}$) dibagi dengan rata-rata lebar puncak $(W_1 + W_2)/2$



$$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2) \dots}$$

W= lebar puncak

T = waktu retensi

R_s= resolusi.

Pengukuran resolusi 2 puncak yang berdekatan

$$R_s = \frac{1}{4} \left(\sqrt{\frac{L}{H}} \right) \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \left[\frac{k'}{1 + k'} \right] \dots$$

Yang mana:

R : Resolusi

N : bilangan lempeng

α : selektifitas

k' : faktor retensi

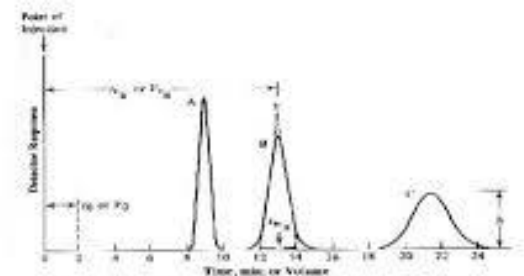
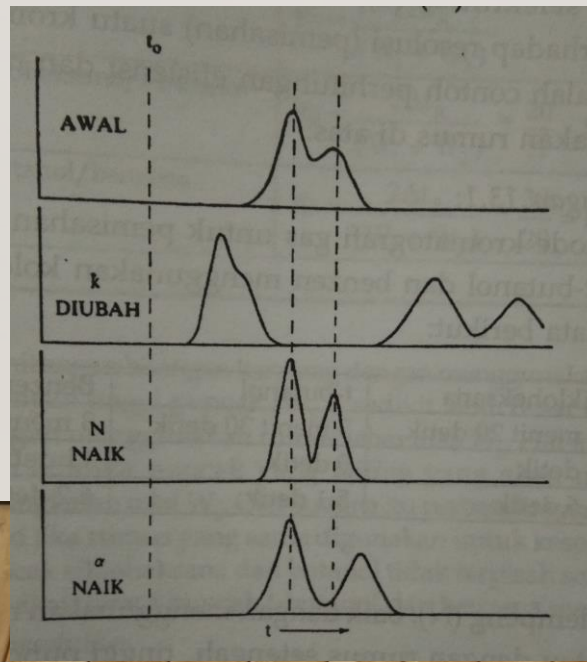
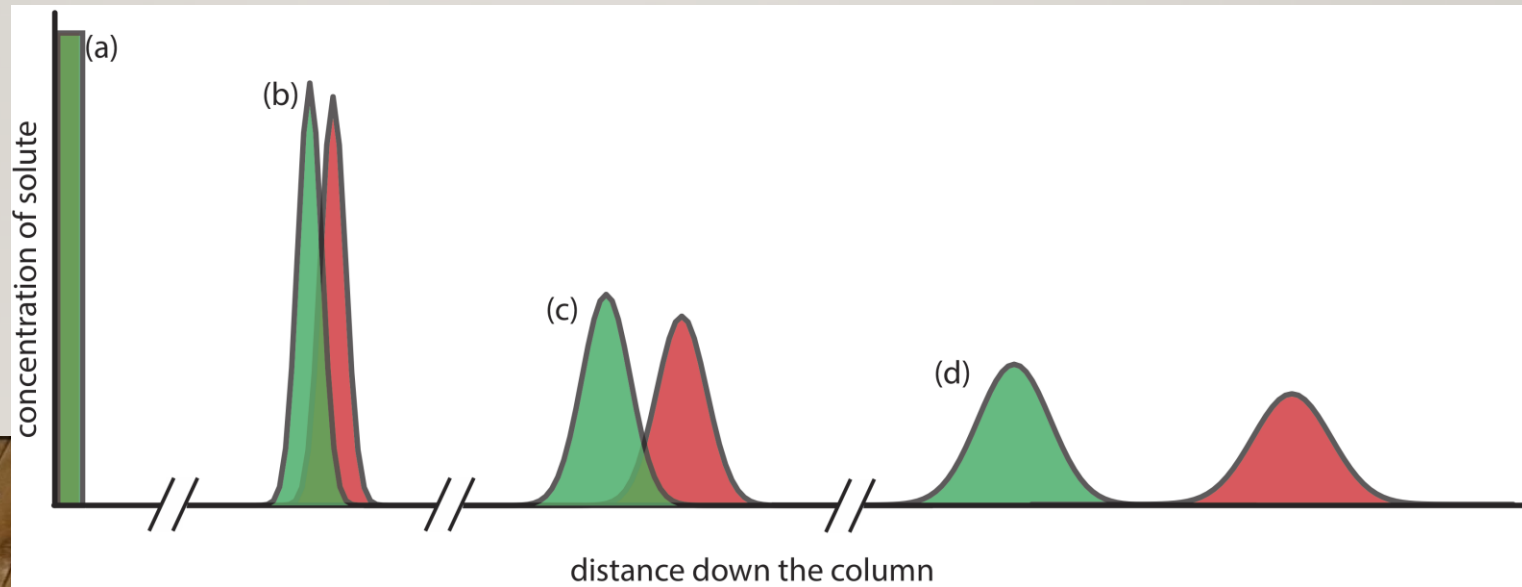
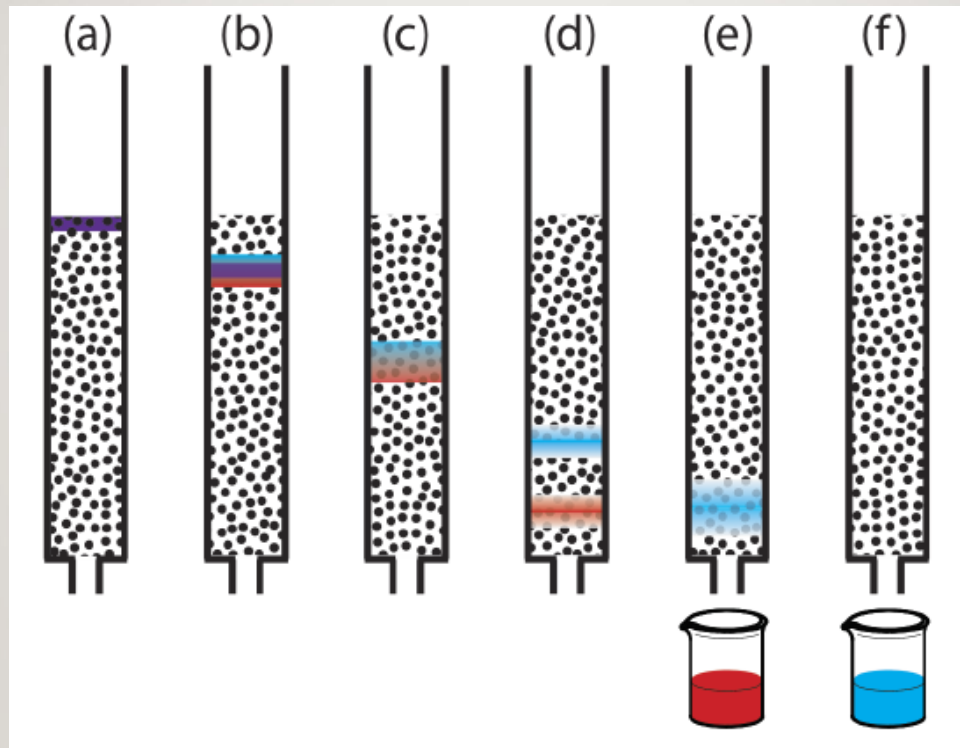


FIGURE 21.2. Chromatogram of the two-component mixture of Figure 21.1. t_R is time for solvent to move the column; t_R is retention time of substance R; t_{R2} is peak height of substance R; h = peak height. Each component is given in terms of column volume (vol): V_{R1} , V_{R2} , and V_{R3} in figure.

t_m , t_0 = Waktu migrasi, t_R = waktu retensi, h = tinggi puncak
 W , W = lebar puncak, random fluctuations
 longitudinal diffusion (negligible in liquids)
 eddy diffusion or "channeling"



Contoh perhitungan 13.1:

Suatu metode kromatografi gas untuk pemisahan campuran sikloheksana, *t*-butanol dan benzen menggunakan kolom kapiler memberikan data berikut:

Parameter	Sikloheksana	<i>t</i> -butanol	Benzena
t_R	3 menit 20 detik	3 menit 30 detik	3 menit 45 detik
W_b	8 detik	9 detik	11 detik
$W_{h/2}$	4,6 detik	5,1 detik	6,2 detik

Hitunglah:

- Bilangan lempeng (N), baik dengan menggunakan rumus lebar puncak atau dengan rumus setengah tinggi puncak.
- Tinggi setara lempeng teoritis (H).
- Resolusi antara 2 pasang solut yang berdekatan

Jawab:

(a)	Bilangan lempeng:	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2$	$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$
	sikloheksana	$N = 16 \left(\frac{200}{8} \right)^2$ $= 10.000$	$N = 5,54 \left(\frac{200}{4,6} \right)^2$ $= 10.473$
	<i>t</i> -butanol	$N = 16 \left(\frac{210}{9} \right)^2$ $= 8711$	$N = 5,54 \left(\frac{210}{5,1} \right)^2$ $= 9393$
	Benzena	$N = 16 \left(\frac{225}{11} \right)^2$ $= 6694$	$N = 5,54 \left(\frac{225}{6,2} \right)^2$ $= 7296$

(b)	Tinggi lempeng	$H = \frac{10.000}{N}$	
	sikloheksana	$H = 1,0 \text{ mm}$	$H = 0,95 \text{ mm}$
	<i>t</i> -butanol	$H = 1,15 \text{ mm}$	$H = 1,06 \text{ mm}$
	Benzena	$H = 1,49 \text{ mm}$	$H = 1,37 \text{ mm}$
(c)	Resolusi	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)}$	
	Sikloheksana/ <i>t</i> -butanol	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)} = \frac{20}{17} = 1,2$	
	<i>t</i> -butanol/benzena	$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W_1 + W_2)} = \frac{30}{20} = 1,5$	

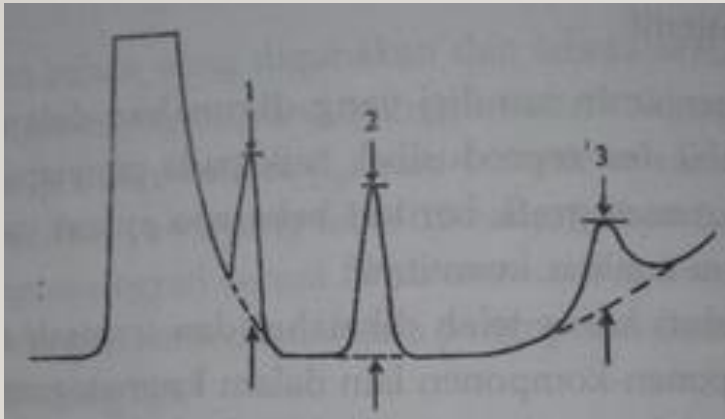
Analisis kualitatif dan kuantitatif

Analisis kualitatif:

1. Dengan cara membandingkan data retensi solute yang dicari dengan retensi bakustandar (yang sudah diketahui) pada kondisi yang sama.
2. Dengan cara spiking. Manambahkan sampel yang mengandung senyawa tertentu yang dicari dengan senyawa standar yang sudah diketahui. Diamati perubahan setelah penambahan standar pada sample.
3. Menggabungkan alat kromatografi dengan spectrometer massa (HPLC-MS_

Analisis kuantitatif:

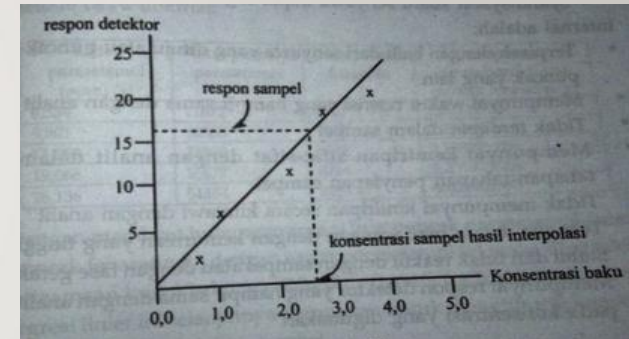
1. Perhitungan tinggi puncak. (pengukuran garis dasar ke puncak maksimum
2. Perhitungan luas puncak. Mengukur luas sebagai hasil kali tinggi puncak dan lebar pada setengah tinggi ($W_{1/2}$).



Analisis kuantifikasi:

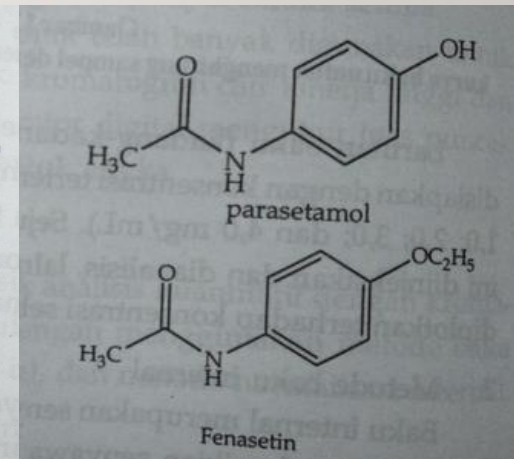
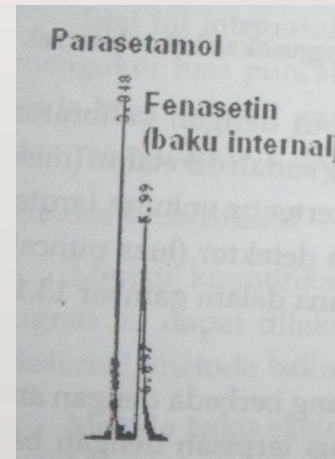
1. Metode baku eksternal :

Penentuan konsentrasi senyawa target dalam suatu sample dengan menggunakan plot kalibrasi menggunakan baku eksternal.



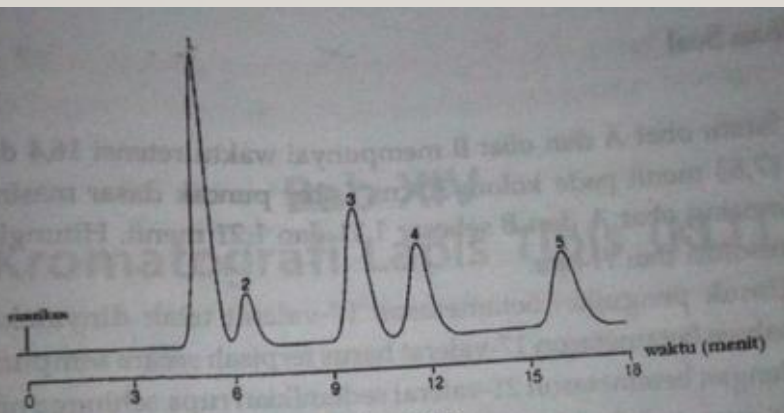
2. Metode baku internal :

Penentuan konsentrasi senyawa target dalam suatu sample dengan menggunakan senyawa yang berbeda dengan analit tapi memiliki kemiripan. Misal penentuan kadar parasetamol menggunakan baku internal fenasetin.



3. Normalisasi internal :

Jumlah relative analit dalam suatu multikomponen yang dibutuhkan. Biasanya digunakan persen atau fraksi



Komponen	Luas puncak terukur	Persen relatif
1	167,8	35,9
2	31,63	6,8
3	108,3	23,2
4	80,63	17,3
5	78,38	16,8
Total	466,94	100

Latihan Soal

1. Suatu obat A dan obat B mempunyai waktu retensi 16,4 dan 17,63 menit pada kolom 30 cm. Lebar puncak dasar masing-masing obat A dan B sebesar 1,11 dan 1,21 menit. Hitunglah resolusi dan H-nya.
2. Untuk pengujian betametason 17-valerat telah dinyatakan bahwa betametason 17-valerat harus terpisah secara sempurna dengan betametason 21-valerat sedemikian rupa sehingga nilai R_s -nya $> 1,0$. Mana diantara kolom ODS berikut yang memenuhi spesifikasi?

Kolom ODS	t_R betameta-son 17-valerat (menit)	t_R betameta-son 21-valerat (menit)	Lebar dasar betameta-son 17-valerat (menit)	Lebar dasar betameta-son 21-valerat (menit)
1	9,5	8,5	0,4	0,5
2	9,3	8,6	0,4	0,4

3. Suatu prosedur operasional baku menyatakan bahwa suatu kolom harus mempunyai efisiensi > 30.000 lempeng/m. Manakah kolom dengan panjang 15 cm berikut yang memenuhi spesifikasi?

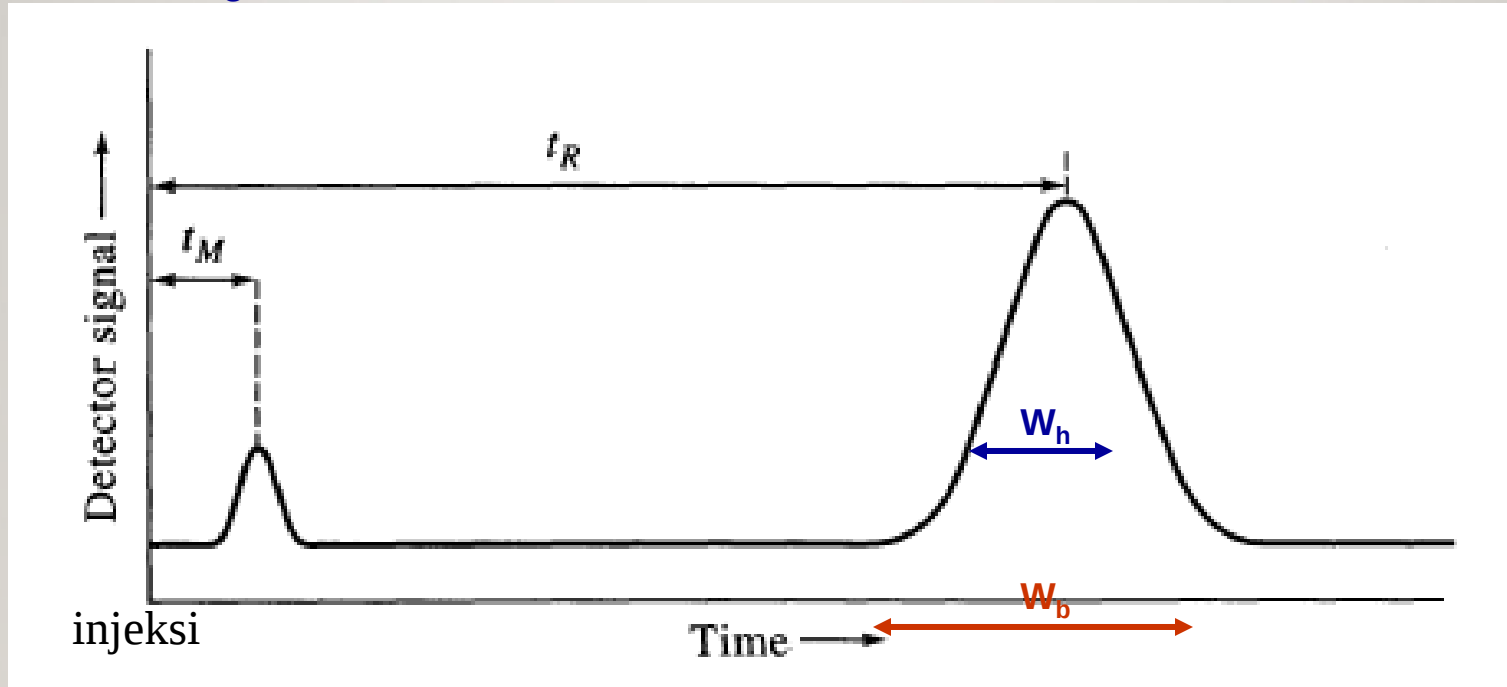
Kolom	t_R analit (menit)	$W_{1/2}$ (menit)
1	6,4	0,2
2	5,6	0,2
3	10,6	0,6

SILAHKAN
DIKERJAKAN
DIRUMAH
SEBAGAI TUGAS.
Jawaban ditulis
tangan dan
dikumpulkan
dengan diupload

Teori kromatografi

1.) jenis respons yang didapat dari kromatografi (misalnya: sebuah kromatogram):

kromatogram- konsentrasi versus aktu elusi



dimana:

t_R = waktu retensi

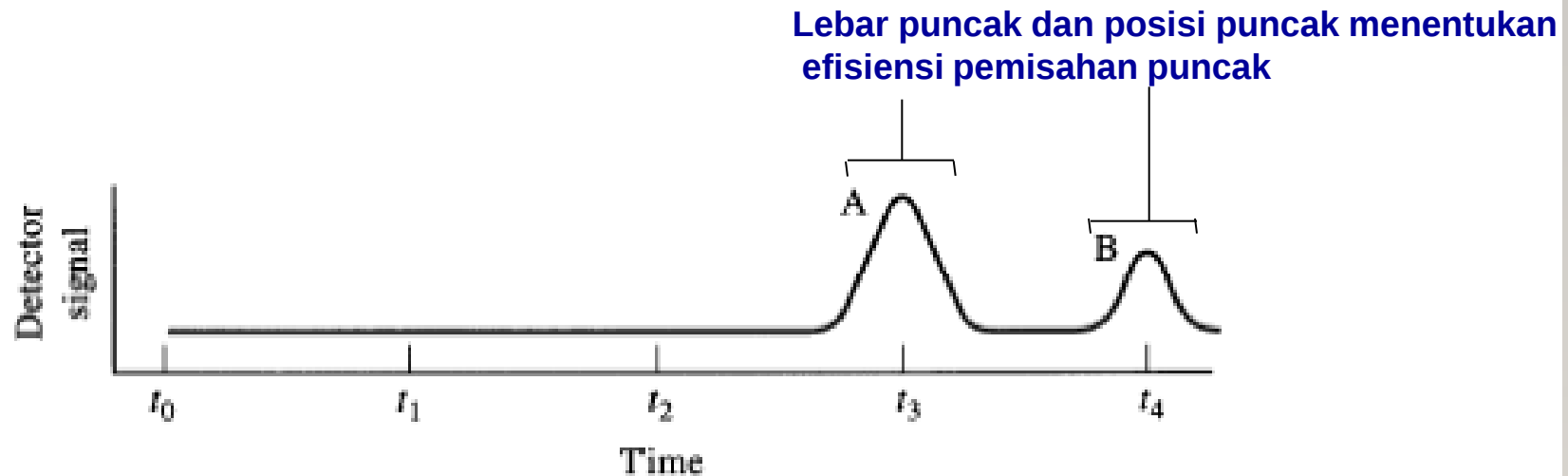
t_M = waktu kosong

W_b = lebar baseline puncak dalam satuan waktu

W_h = lebar setengah tinggi puncak dalam satuan waktu

Catatan: pemisahan analit pada kromatografi bergantung pada dua faktor:

- (a) beda waktu retensi tiap analit (misalnya: beda waktu atau volume elusi analit)
- (b) ketajaman puncak dari analit (misalnya, efisiensi sistem pemisahan yang bagus)



kurva yang sama juga bisa dibuat dengan mengganti waktu dengan volume elusi. Jika volume yang digunakan, volume fase gerak yang digunakan untuk mengelusi suatu puncak keluar dari kolom disebut sebagai volume retensi (V_R) dan jumlah fase gerak yang digunakan untuk mengelusi komponen yang tidak tertahan oleh fase diam disebut volume kosong (V_M).

2.) Retensi zat terlarut:

waktu retensi atau volume retensi analit pada kromatografi berhubungan secara langsung dengan kuat interaksi zat terlarut dengan fase diam dan fase gerak.

Retensi pada suatu kolom berhubungan dengan faktor berikut:

- ukuran kolom
- laju gerak fase diam

$$\text{average migration rate } \bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad \text{column length}$$

Faktor kapasitas (k'): secara lebih universal merupakan ukuran retensi yang ditentukan dari t_R atau V_R .

$$k' = (t_R - t_M)/t_M$$

atau

$$k' = (V_R - V_M)/V_M$$

faktor kapasitas sangat berguna untuk membandingkan hasil yang diperoleh dari berbagai sistem karena faktor kapasitas ini tidak bergantung pada panjang kolom dan laju alir.

nilai faktor kapasitas sangat berguna dalam memahami mekanisme retensi analit mengingat definisi dasar dari k' adalah:

$$k' = \frac{\text{mol } A_{\text{fase diam}}}{\text{Mol } A_{\text{fase gerak}}}$$

k' berhubungan langsung dengan kekuatan interaksi antara analit dengan fase diam dan fase gerak.

Mol $A_{\text{fase diam}}$ dan mol $A_{\text{fase gerak}}$ menunjukkan jumlah analit yang terdapat pada tiap fase pada saat kesetimbangan.

kesetimbangan tercapai pada puncak dari suatu puncak kromatogram.

Ketika k' bernilai # 1,0; pemisahan jelek
Ketika k' bernilai > 30 , pemisahan terlalu lambat
Ketika k' bernilai = 2-10, pemisahan optimum

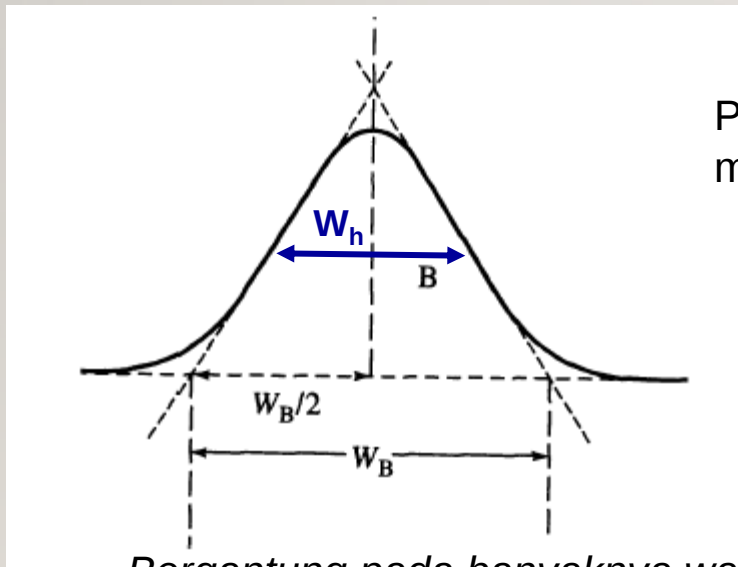
3.) efisiensi:

efisiensi berhubungan dengan lebar puncak dari analit.

- suatu sistem yang efisien akan menghasilkan puncak yang langsing
- puncak yang langsing $\rightarrow$ beda interaksi yang kecil dalam pemisahan dua zat terlarut

efisiensi secara teoritis berhubungan dengan berbagai proses kinetik yang terlibat dalam proses retensi dan perpindahan analit dalam kolom.

- menunjukkan lebar atau standart deviasi (σ) dari masing-masing puncak



Penentuan σ dari lebar puncak, dengan mengasumsikan bahwa puncak ternormalisasi :

$$W_b = 4\sigma$$

$$W_h = 2.354\sigma$$

Bergantung pada banyaknya waktu yang analit habiskan dalam kolom (k' atau t_R)

Jumlah lapisan teoritis (N): menunjukkan perbandingan efisiensi suatu sistem untuk analit-analit yang memiliki waktu retensi yang berbeda.

$$N = (t_R/\sigma)^2$$

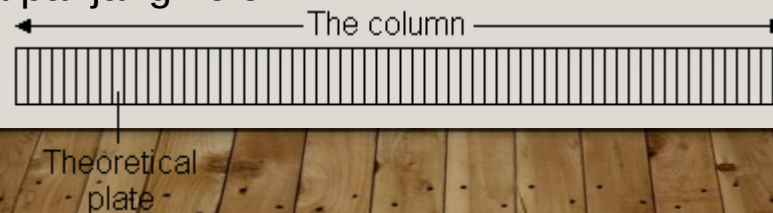
atau untuk puncak ternormalisasi

$$N = 16 (t_R/W_b)^2$$

$$N = 5.54 (t_R/W_h)^2$$

Semakin besar nilai N suatu kolom, semakin bagus pemisahan yang dilakukan pada dua senyawa.

- semakin bagus kemampuannya dalam memisahkan analit-analit yang memiliki beda retensi yang kecil.
- N bergantung pada retensi zat terlarut.
- N bergantung pada panjang kolom



Tinggi lapisan atau tinggi ekuivalen suatu lapisan teoritik (H atau HETP): menunjukkan perbandingan kolom-kolom yang memiliki panjang yang berbeda:

$$H = L/N$$

dimana: L = panjang kolom

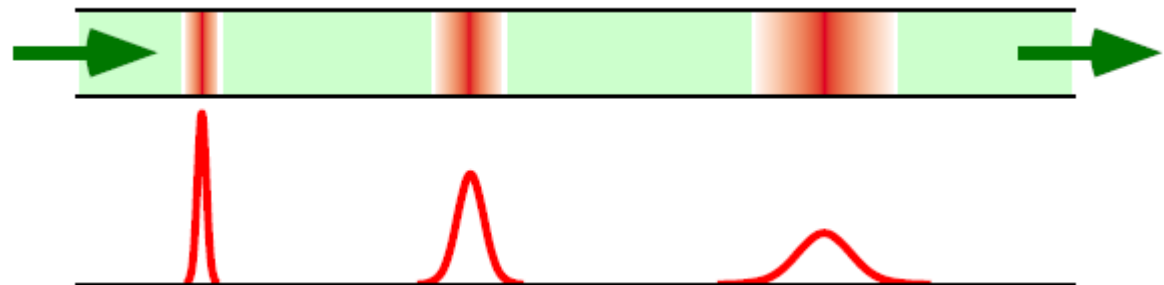
N = jumlah lapisan lapisan teoritis untuk kolom tertentu

Catatan: H secara sederhana menunjukkan panjang dari satu lapisan teoritik.

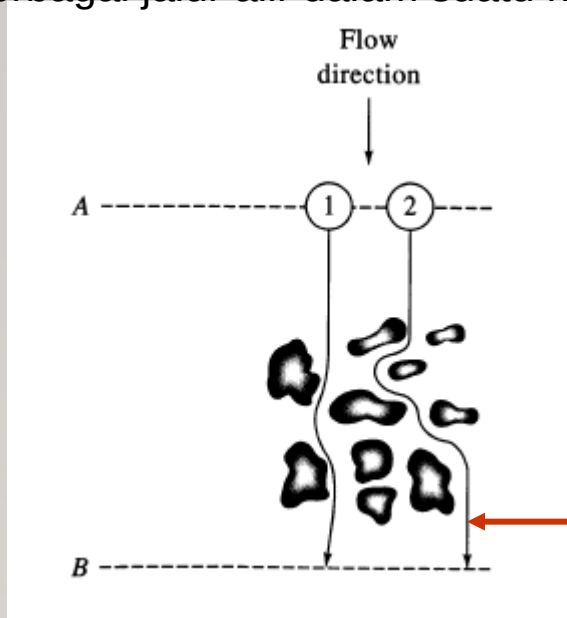
H dapat juga digunakan untuk menghubungkan berbagai parameter kromatografi (misalnya: laju alir, ukuran partikel, dll) dengan proses kinetik yang menghasilkan pelebaran puncak:

Mengapa puncak dapat mengalami pelebaran?

- a. Difusi Eddy
- b. Transfer massa fase gerak
- c. Transfer massa fase gerak stagnan
- d. Transfer massa fase diam
- e. difusi longitudinal

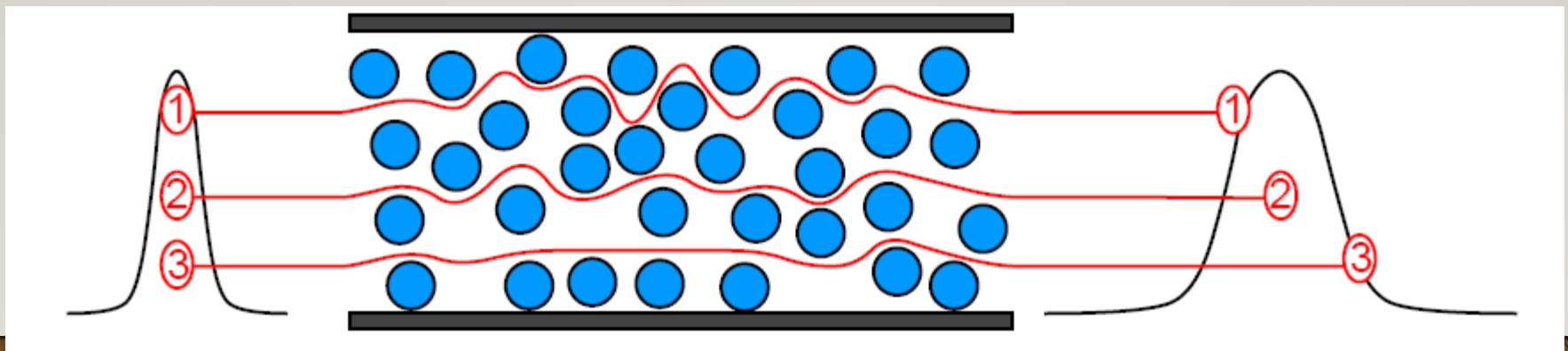


a.) *difusi Eddy*— suatu proses yang menyebabkan pelebaran puncak akibat keberadaan berbagai jalur alir dalam suatu kolom paking.

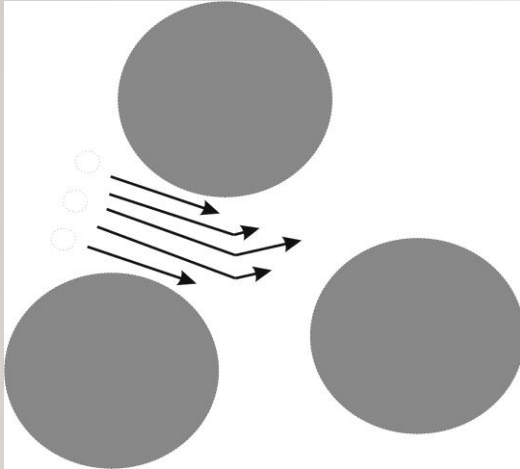


Ketika analit berpindah melewati suatu kolom, masing-masing zat terlarut akan sampai lebih cepat dibandingkan yang lain akibat perbedaan jalur yang ditempuh

Jalur yang lebih panjang tiba diujung kolom setelah (1)



b.) transfer massa fase gerak– suatu proses pelebaran puncak yang disebabkan oleh perbedaan profil aliran di dalam kolom atau di antara partikel penyokong di dalam kolom.

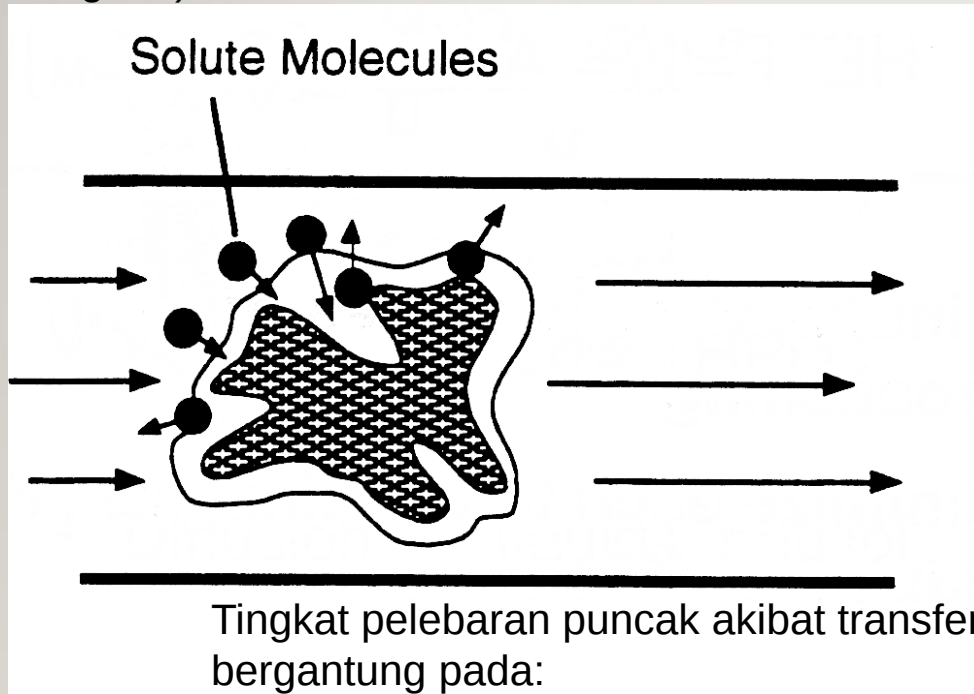


Analit di bagian tengah kolom akan bergerak lebih cepat dibandingkan dengan bagian pinggir sehingga mengakibatkan pelebaran puncak.

Derajat pelebaran akibat difusi eddy dan transfer massa fase gerak bergantung pada:

- 1) ukuran material penyokong
- 2) laju difusi analit

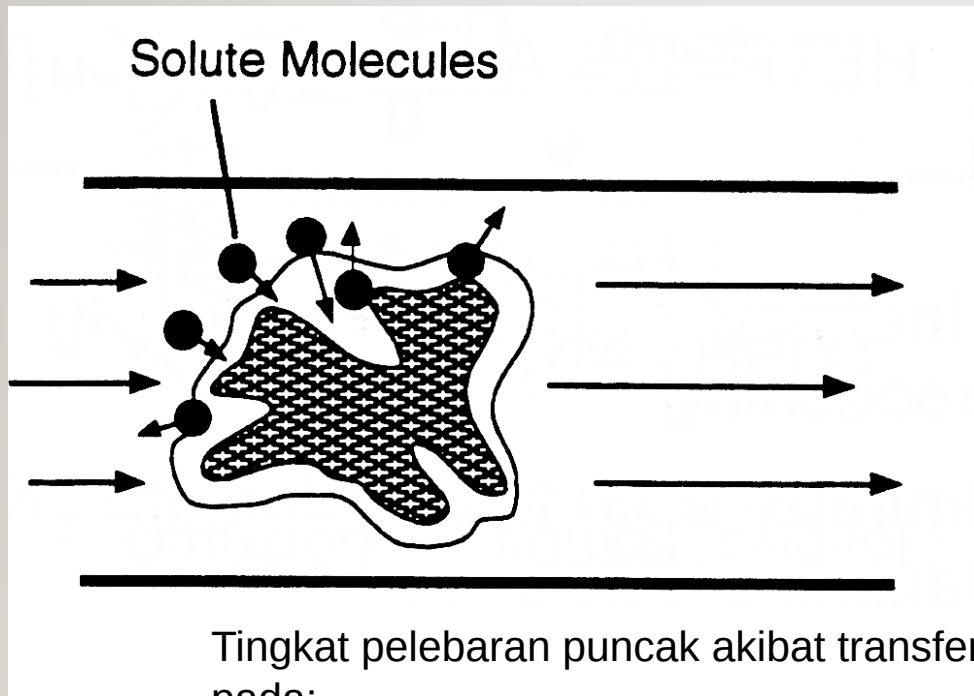
c.) transfer massa fase gerak stagnan— pelebaran puncak akibat perbedaan laju difusi dari molekul analit yang berada antara fase gerak dibagian luar pori material penyokong (fase gerak yang mengalir) ke fase gerak yang ada di dalam pori material penyokong (fase gerak stagnan).



ketika berada di fase gerak stagnan, analit ini akan menghabiskan waktu yang lebih lama di dalam kolom dibandingkan dengan analit yang berada pada fase gerak mengalir.

- 1) ukuran, bentuk, dan struktur pori pada material penyokong
- 2) difusi dan retensi analit
- 3) laju alir analit melalui kolom

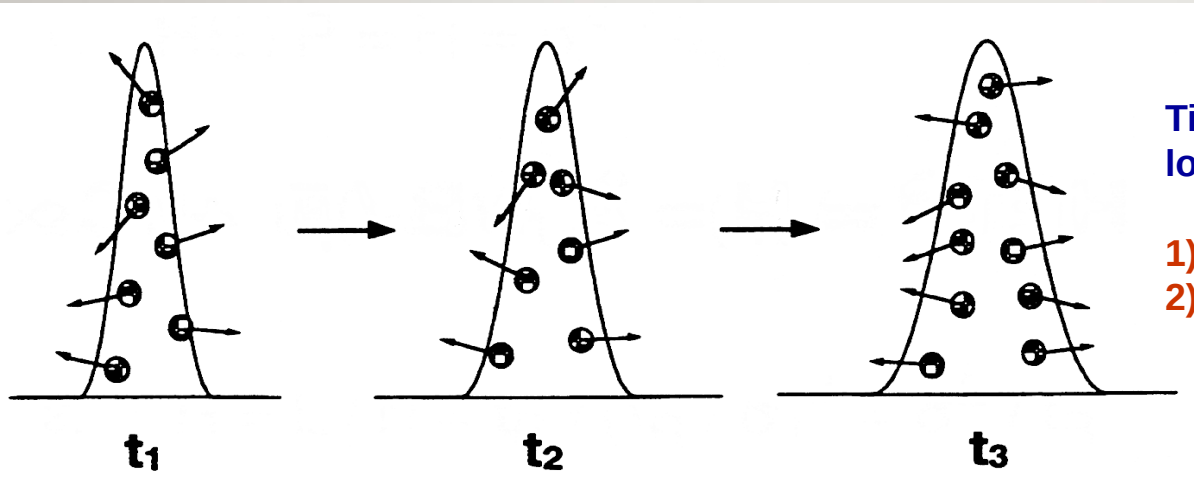
d.) transfer massa fase diam— pelebaran puncak akibat pergerakan zat terlarut antara fase gerak stagnan dan fase diam.



Waktu kesetimbangan yang berbeda2 untuk tiap zat terlarut pada fase diam mengakibatkan terjadinya perbedaan waktu retensi dari tiap molekul sehingga mengakibatkan pelebaran puncak.

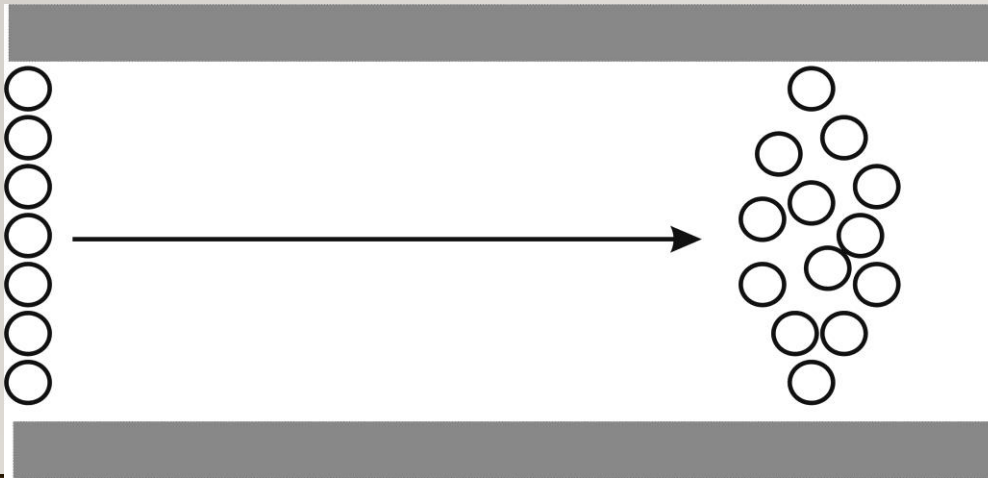
- 1) retensi dan difusi zat terlarut
- 2) laju alir zat terlarut melalui kolom
- 3) interaksi kinetik antara zat terlarut dan fase diam

e.) *difusi longitudinal*– pelebaran puncak akibat difusi zat terlarut searah atau berlawanan arah dengan arah aliran fase diam.



Tingkat pelebaran akibat difusi longitudinal bergantung pada:

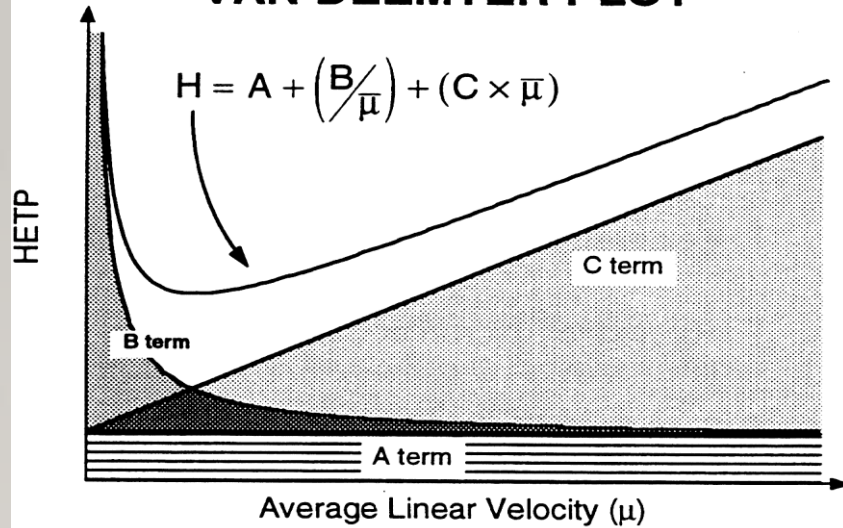
- 1) Difusi zat terlarut
- 2) Laju alir zat terlarut melalui kolom



Persamaan Van Deemter : persamaan yang menunjukkan hubungan antara laju alir (kecepatan linier fase gerak) dengan H:

$$H = A + B/\mu + C\mu$$

VAN DEEMTER PLOT



μ = kecepatan linier (laju alir $\times V_m/L$)

H = total tinggi lapisan pada kolom

A = konstanta difusi eddy dan transfer massa fase gerak

B = konstanta difusi longitudinal

C = konstanta transfer massa fase gerak stagnan dan transfer massa fase diam

persamaan ini dapat digunakan untuk memprediksi efek apa yang mempengaruhi keseluruhan sistem kromatografi

Number of theoretical plates(N)

$$(N) = 5.54 (t_R/W_h)^2$$

peak width (W_h)

$$H = L/N$$

4.) Ukuran Pemisahan Analit

Faktor pemisahan (α) – merupakan paramete yang digunakan untuk menggambarkan seberapa baik pemisahan dua analit yang dipisahkan dalam suatu sistem kromatografi. :

$$\alpha = k'_2/k'_1 \quad k' = (t_R - t_M)/t_M$$

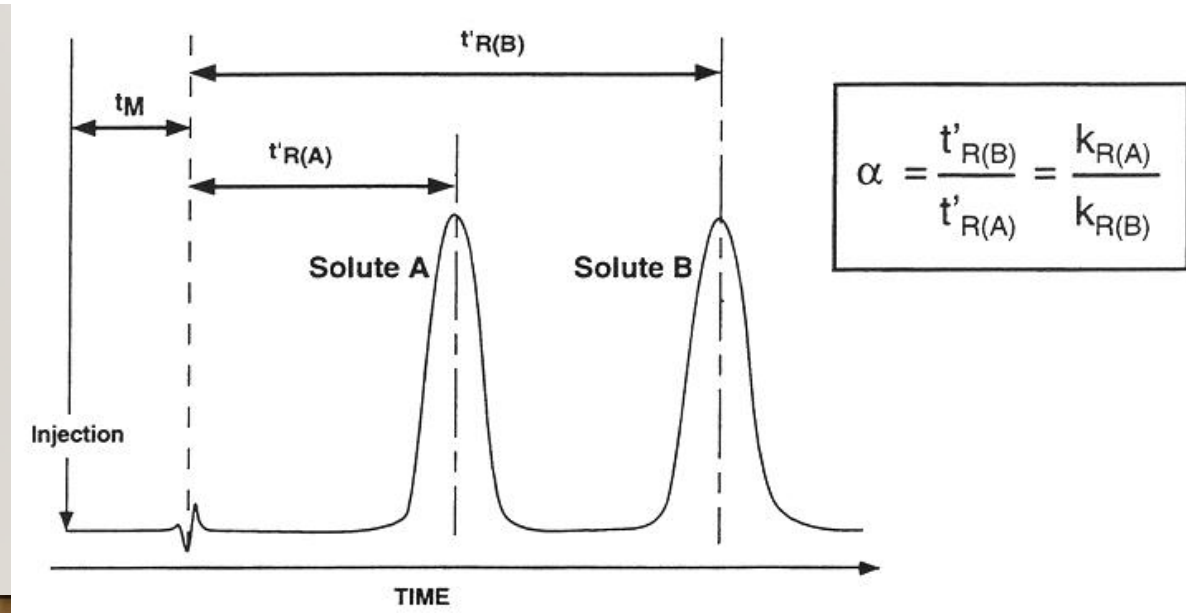
dimana:

k'_1 = faktor kapasitas analit pertama

k'_2 = faktor kapasitas analit kedua

dimana $k'_2 > k'_1$

Nilai $\alpha > 1$ biasanya menunjukkan pemisahan yang bagus.



*Parameter ini tidak mempertimbangkan efek efisiensi kolom atau lebar puncak.
Hanya mempertimbangkan retensi analit*

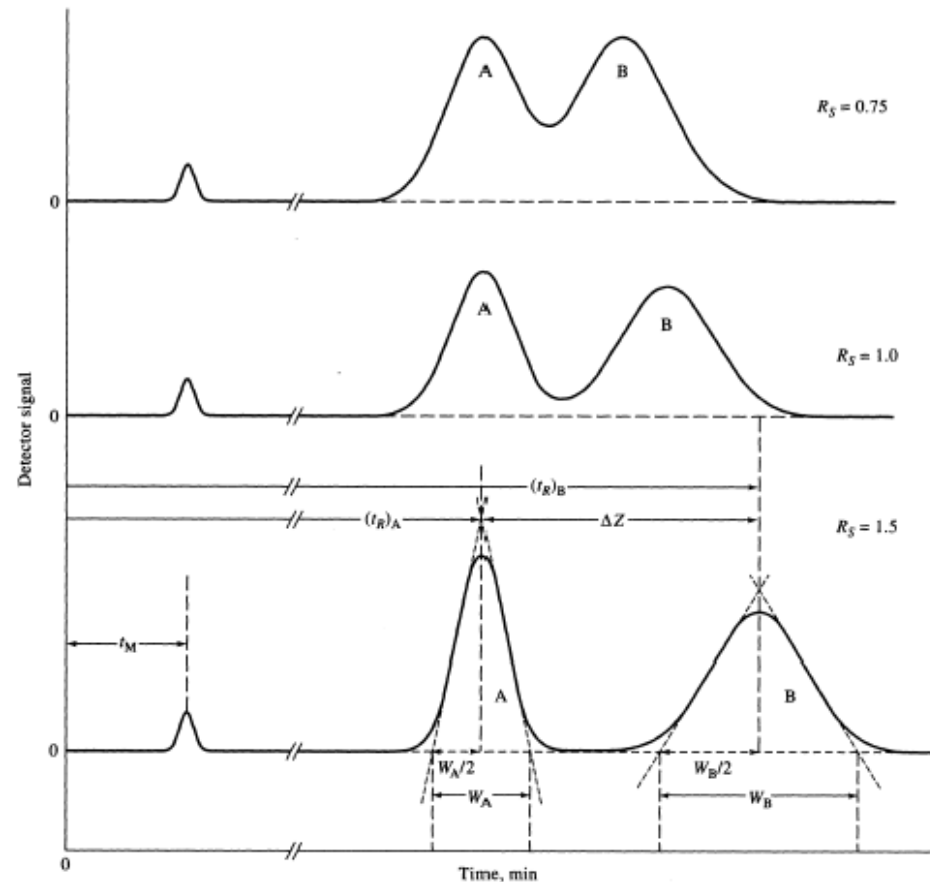
Resolusi (R_s) – resolusi antara dua puncak merupakan ukuran kedua untuk menunjukkan seberapa baik pemisahan yang dilakukan :

$$R_s = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{(W_{b2} + W_{b1})/2}$$

dimana

t_{r1} , W_{b1} = waktu retensi dan lebar dasar untuk analit pertama

t_{r2} , W_{b2} = waktu retensi dan lebar dasar untuk analit



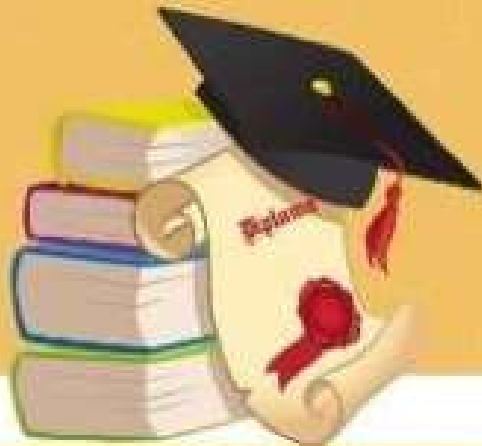
$R_s > 1.5$ menunjukkan pemisahan total dari dua puncak analit → kasus ideal.

$R_s > 1.0$ biasanya dianggap cukup untuk sebagian besar pemisahan

KROMATOGRAFI KOLOM

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak. Salah satu fase disebut fase diam/stationer yang bertugas menahan gerakan komponen, sedangkan fase

yang kedua disebut fase gerak yang bertugas menggerakkan komponen diantara fase diam. Secara teoritis dapat dikatakan bahwa komponen seolah-olah terbagi (terdistribusi) dalam dua fase yang selalu berada dalam suatu kesetimbangan kimia yang dinamis.

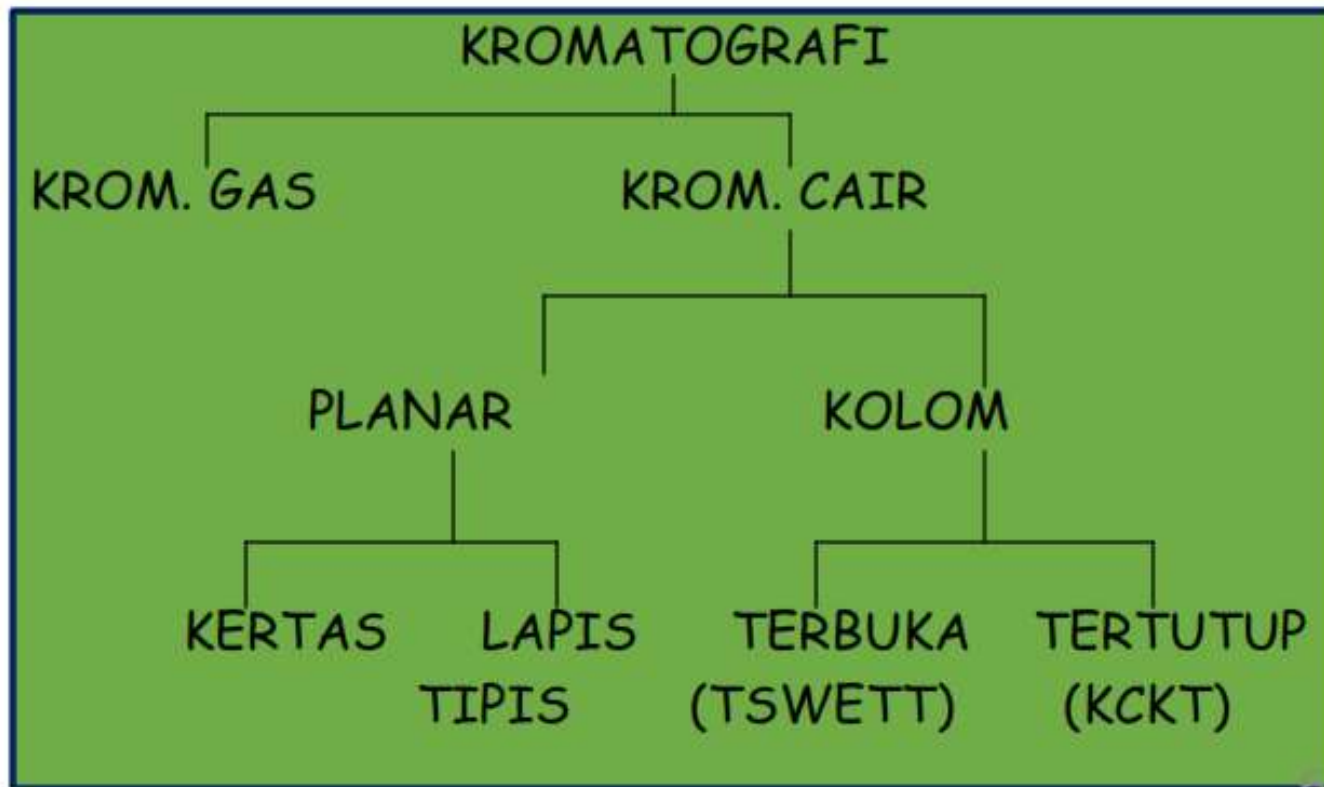


1. Kromatografi kolom (CC) adalah salah satu metode yang paling berguna untuk pemisahan dan pemurnian padatan dan cairan.
2. Merupakan teknik pemisahan menggunakan padat-cair di mana fase diam adalah padatan dan fase gerak adalah cairan.
3. Prinsip dasar kromatografi kolom adalah adsorpsi, di mana campuran komponen terlarut dalam fase gerak dimasukkan ke dalam kolom dan komponen bergerak tergantung pada afinitas relatifnya terhadap fase diam.
4. Pemilihan pelarut tergantung pada karakteristik kelarutan campuran. Pelarut juga harus memiliki titik didih yang cukup rendah untuk memungkinkan pemulihan siap bahan yang dielusi. Dalam CC, fase gerak yang berbeda (dalam urutan polaritas yang meningkat) dapat digunakan, misalnya, petroleum eter, heksana, kloroform, dan etil asetat. Namun, polaritas fase diam dan fase gerak merupakan faktor terpenting dalam kromatografi adsorpsi. Hal ini ditemukan sangat berguna dalam pemisahan campuran senyawa, proses pemurnian, isolasi konstituen aktif, dan pemisahan diastereomer (Gaudencio dan Pereira, 2015).

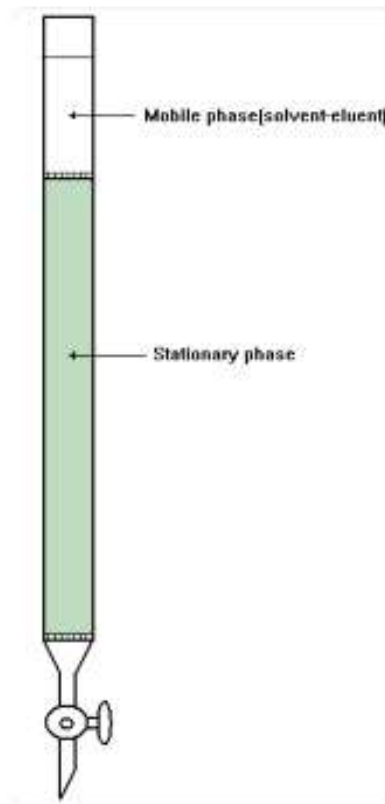
- Untuk memahami penggunaan teknik pemisahan ini, kita dapat menggunakan eksperimen contoh. TLC, memisahkan dan menganalisis berbagai komponen obat analgetik.
- Teknik TLC berguna dalam menentukan jenis dan jumlah bahan dalam campuran, bahan, kromatografi kolom dapat digunakan.
- Kolom kromatografi dapat memisahkan dan mengumpulkan senyawa secara terpisah.
- Kolom Kromatografi (KK) dapat digunakan untuk memisahkan bahan awal dari produk yang teroksidasi misalnya: fluorene menjadi flourenone dan TLC akan digunakan untuk memantau efektivitas pemisahan ini.



KLASIFIKASI KROMATOGRAFI



KROMATOGRAFI KONVENSIONAL (KROMATOGRAFI KOLOM TERBUKA)



Kromatografi kolom adalah
Teknik kromatografi
yang menempatkan fase diam
pada kolom untuk
memisahkan komponen-
komponen dalam campuran

Column Chromatography

Termasuk kromatografi cair preparatif

- Kolom : bentuknya mirip buret, dibuat dari bahan gelas, polymer, logam. Ukuran bervariasi diameter dan panjang. Minimal panjang kolom 10 kali diameternya.

Fase diam :

- Perbandingan berat (fase diam: sampel= 30:1 dapat ditingkatkan 50 : 1 untk sampel yg sukar dipisahkan)
- Ukuran partikel 63-250 μm , yg <63 μm fase gerak perlu ditekan atau dihisap
- Biasa digunakan : silika gel, alumina
- Fase gerak : eluen / solven



PENYIAPAN SAMPEL

Pemilihan fase gerak : - Penelusuran pustaka

- Mencoba-coba dengan KLT

Mengemas kolom (packing)

- Cara basah
- Cara kering

Preparasi sampel (penyiapan sampel)

I

- Sampel dilarutkan,kmd dituang pd bag atas kolom.
- Sampel dilarutkan, kmd dihomogenkan dg fase diam (1:3) dikeringkan. Diratakan selapis diatas fase diam.

PRINSIP KERJA KROMATOGRAFI KOLOM

Didasarkan pada adsorpsi komponen2 campuran dengan afinitas berbeda terhadap permukaan fase diam.

Adsorben bertindak sebagai fase diam dan fase geraknya adalah cairan yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom.

Sampel yang mempunyai afinitas besar terhadap Adsorben akan secara selektif tertahan dan afinitasnya paling kecil akan mengikuti aliran pelarut.

Alat kromatografi kolom

Tabung kaca dengan ukuran sesuai kebutuhan, umumnya Panjang 10 x diameter tabung, dilengkapi kran pada salah satu ujungnya

Adsorben merupakan bahan yang tidak larut dalam fasa gerak, memiliki ukuran partikel yang seragam, dan ditempatkan dalam tabung kaca tersebut. Umumnya digunakan SiO_2 dan Al_2O_3

Wadah sebagai penampung hasil pemurnian kromatografi

KROMATOGRAFI KOLOM GRAVITASI

Dalam kromatografi kolom gravitasi, eluen bergerak berdasarkan gaya gravitasi atau perkolasi.

PENGEMASAN KOLOM CARA BASA

Cara Basah

Adsorben dicampur dengan pelarut, kemudian campuran dimasukkan ke dalam kolom.

Keuntungan dari metode ini adalah gelembung udara dapat dihilangkan dari kolom.

Contoh pengerjaan :

Kolom diisi dengan pelarut non polar seperti heksana kira-kira setengah dari tinggi kolom gelas.

- Ditimbang sebanyak 8 gram alumina dalam gelas piala sementara erlenmeyer 125 diisi 15 ml heksana. Dengan perlahan serbuk alumina ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk. Gunakan pipet pasteur untuk membuat bubur, kemudian dengan cepat bubur tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam kolom.

PENGEMASAN KOLOM CARA BASA

Tempatkan erlenmeyer di bawah kolom kemudian buka screw clamp dan biarkan pelarut mengalir.

Teruskan penambahan bubuk alumina sampai habis, jangan lupa penambahan pelarut heksana terus dilakukan dan pelarut heksan yang keluar dapat ditampung dan digunakan kembali untuk packing/menambah lagi alumina ke dalam kolom.

Jika packing sudah selesai, screw clamp ditutup, tinggi cairan minimal sama dengan tinggi alumina. Kadang-kadang pasir juga ditambahkan pada puncak kolom untuk mencegah dari gangguan saat pelarut baru ditambahkan.

Pengemasan Kolom cara Kering

A. Cara Kering

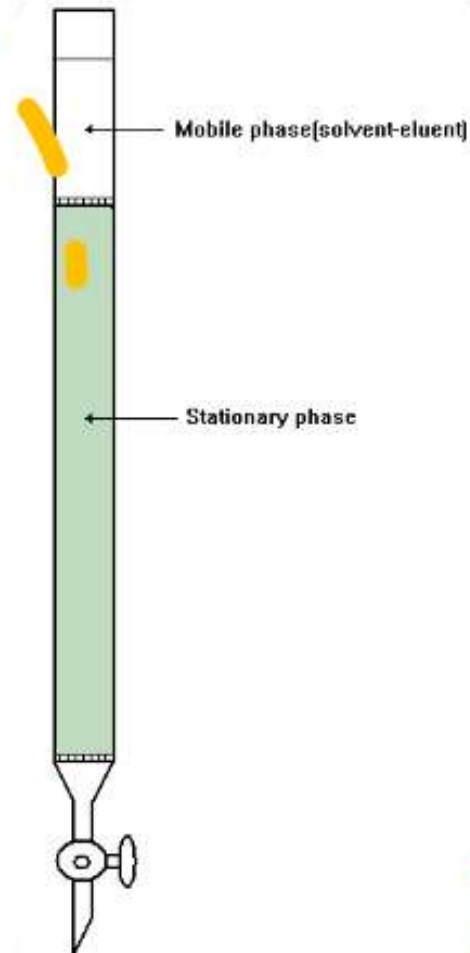
Metode ini lebih mudah tapi dapat menimbulkan adanya gelembung udara dalam kolom. Gelembung udara ini harus dihindari, karena akan mengurangi resolusi dari pemisahan.

Contoh pengerjaan :

1. Bagian dasar dari kolom diisi dengan glass wolle secukupnya. Pinch clamp ditutup dan kolom diisi dengan pelarut.
2. Masukkan 8 gram alumina ke dalam kolom gelas yang berisi pelarut dan biarkan pelarut mengalir. Pinch clamp ditutup jika packing sudah selesai dan tinggi pelarut minimal sama dengan tinggi alumina. Demikian juga hindari agar kolom tidak kering.
3. Perbandingan antara volume total kolom (cair+padat) dengan diameter kolom yang optimal agar diperoleh pemisahan yang baik. Secara umum, hanya dapat dinyatakan bahwa kemasan kolom yang panjang akan memberikan tingkat pemisahan yang tinggi dan kolom yang lebar adalah baik untuk memisahkan komponen-komponen dalam jumlah besar.
4. Jenis fase diam yang digunakan adalah silika gel dan alumina.

Liquid column chromatography

- Fase diam yang berada di dalam kolom (tabung) berada dalam suatu tabung yang terbuat dari kaca atau polimer
- Dengan adanya aliran FG, maka gaya gravitasi akan bekerja bila kolom pada posisi tegak.
- Jika diperlukan tekanan positif dari atas atau perlu adanya vacuum dari bawah, maka kolom dapat pada posisi horizontal.
- Dinding yang bening akan membuat proses pemisahan dapat diamati secara visual Untuk senyawa berwarna) atau menggunakan sinar UV
-



Cara Penggunaan Kromatografi Kolom

1. Sampel yang dilarutkan dalam sedikit pelarut, dituangkan melalui atas kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam adsorben (bahan penyerap).
2. Komponen dalam sampel diadsorbsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom.
3. Dengan penambahan pelarut secara terus menerus, masing-masing komponen akan bergerak turun melalui kolom dan akan terbentuk pita yang setiap zona berisi satu macam komponen.
4. Setiap zona yang keluar kolom dapat ditampung dengan sempurna sebelum zona yang lain keluar kolom.

Fasa Diam

Fasa diam atau adsorben (penjerap): berupa zat padat.

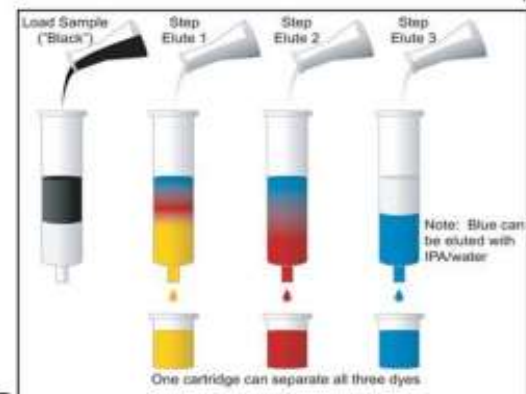
Fasa diam yang paling umum : silika gel (SiO_2), Alumina (Al_2O_3) , serbuk selulosa. Kromatografi kolom dapat juga menggunakan teknik kromatografi pertukaran ion, kromatografi fase terbalik, kromatografi pertukaran ion.

Fase Diam berbentuk :

- serbuk halus atau gel, mikropori untuk peningkatan luas permukaan.
- Perlu diperhitungkan rasio antara berat fasa diam dan berat kering campuran analit yang dapat diaplikasikan ke dalam kolom.
- Untuk kolom silika, rasio berada antara 20:1 hingga 100:1, bergantung pada kedekatan jarak elusi antar komponen analit.
- *Ukuran partikel fasa diam pada kromatografi kolom dipercepat biasanya lebih halus daripada kromatografi kolom gravitasi. Misalnya, silika gel untuk kromatografi dipercepat berukuran antara (40 – 63 μm), sementara untuk kromatografi gravitasi antara (63 – 200 μm)*

Fase Diam (Stationery Phase)

- Seperti TLC, alumina dan silika adalah dua fase stasioner paling populer di kromatografi Kolom.
- Secara umum tahap-tahap ini bekerja secara partisi.
- Sampel yang lebih polar akan dipertahankan pada fase diam lebih lama. Dengan demikian senyawa paling polar akan mengelusi dari kolom pertama, diikuti oleh masing-masing senyawa dalam rangka meningkatkan polaritas.



Fase Diam

- Meskipun interaksi antara fase mobile dan stasioner didasarkan pada hal yang sama.
- Prinsip untuk KK dan TLC, Karena arah dari aliran pelarut dalam TLC bergerak naik sedangkan dalam KK pelarut mengalir turun, tampak bahwa urutan adalah "terbalik".
- Dalam TLC molekul yang lebih polar akan memiliki nilai R_f yang lebih rendah tetapi dalam KK akan dipertahankan lebih lama di kolom.
- Dalam mempertimbangkan polaritas fase diam dan polaritas senyawa dipisahkan ketika proses elusi terjadi

Fase Diam

- Fase diam untuk CC terdiri dalam berbagai ukuran, aktivitas, dan variasi asam.
- Untuk alumina dan silika. Jenis fase diam yang dipilih ditentukan secara eksperimen, atau sering berdasarkan hasil dari percobaan TLC sebelumnya.
- Jenis adsorben, ukuran dari kolom, polaritas fase gerak serta laju elusi semua mempengaruhi pemisahan.
- Kondisi ini dapat dimanipulasi untuk mendapatkan pemisahan terbaik untuk senyawa campuran.

Ukuran Partikel Fase Diam

Diameter kolom (cm)	Silika gel (gram)	Sampel (gram)	Perbandingan sampel:silika gel	Tujuan KVC
14	150-170	10 - 20	1:7,5 - 1:17	Fraksinasi pertama
10	80	3 - 5	1:14 - 1:25	Fraksinasi kedua
7	40	1 - 2	1:20 - 1:40	Fraksinasi kedua atau pemurnian

Fase Gerak

- *Fasa gerak* atau *eluen* dapat berupa pelarut murni atau campuran pelarut. Pemilihan dilakukan sedemikian rupa sehingga nilai faktor retensi senyawa yang diinginkan berada pada kisaran 0,2 - 0,8 untuk meminimalkan waktu dan jumlah eluen yang diperlukan selama kromatografi.
- Eluen dapat dipilih berdasarkan daya pisahnya sehingga senyawa yang berbeda dapat dipisahkan secara efektif.
- Optimasi eluen dilakukan melalui uji pendahuluan berskala kecil, biasanya menggunakan lempeng KLT dengan fasa gerak yang sama namun ukuran yang diperkecil.

Fase Gerak

- Laju alir dapat dibuat optimum untuk masing-masing pemisahan.
- Semakin cepat laju alir eluen akan meminimalkan waktu yang dibutuhkan untuk melalui kolom sehingga meminimalkan difusi, menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Namun, laju aliran maksimum perlu dibatasi karena analit memerlukan waktu tertentu untuk berada pada kesetimbangan antara fasa diam-fasa gerak,
- Kolom laboratorium sederhana bekerja dengan prinsip aliran grafitasi. Laju aliran kolom semacam ini dapat dinaikkan dengan menambah eluen baru di bagian atas fasa diam, atau diturunkan dengan mengatur keran di bagian bawah.
- Laju aliran yang lebih cepat dapat diperoleh dengan menggunakan pompa atau gas bertekanan (misalnya: udaranitrogen, atau argon) untuk menekan pelarut melalui kolom (kromatografi kolom kilat)



Fase Gerak berupa campuran dari dua atau lebih FG berikut:

- Polaritas pelarut yang dilewatkan melalui kolom mempengaruhi tingkat pemisahan di mana senyawa bergerak melalui kolom.
- Pelarut polar dapat lebih efektif digunakan untuk molekul polar campuran untuk fase diam polar pada permukaan adsorben dan juga akan lebih baik meloloskan konstituen polar.
- Akibatnya, pelarut yang sangat polar akan bergerak bersama molekul yang sangat polar dengan cepat melalui kolom. Jika pelarut terlalu polar, gerakan menjadi terlalu cepat, dan sedikit atau tidak ada pemisahan komponen campuran akan dihasilkan.

Fase Gerak berupa campuran dari dua atau lebih FG berikut:

- Jika pelarut tidak cukup polar, tidak ada senyawa yang akan terelusi dari kolom. Pilihan yang tepat dari jenis pelarut sangat penting untuk keberhasilan penerapan kromatografi kolom sebagai teknik pemisahan.
- Thin-Layer Chromatography (TLC) umumnya digunakan untuk menentukan sistem pemisahan kolom kromatografi. Seringkali serangkaian sistem pelarut semakin polar digunakan untuk mengelusi kolom. Pelarut yang kurang polar pertama kali digunakan untuk mengelusi senyawa yang kurang polar. Setelah senyawa yang kurang-polar berada di luar kolom, pelarut yang lebih-polar ditambahkan ke kolom untuk mengelusi senyawa yang lebih polar.

Solvent (Pelarut)

- Sistem pelarut untuk digunakan sebagai fase gerak dalam KK dapat ditentukan dari orintasi TLC sebelumnya.
- Menggunakan eksperimen, literatur, atau eksperimental.
- Pemisahan akan dimulai dengan menggunakan nonpolar atau pelarut polaritas rendah agar memungkinkan senyawa untuk menyerap ke fase diam.
- Polaritas pelarut harus diubah secara bertahap.
- Pada skala besar pencampuran dua pelarut dapat menyebabkan panas dan memecahkan kolom

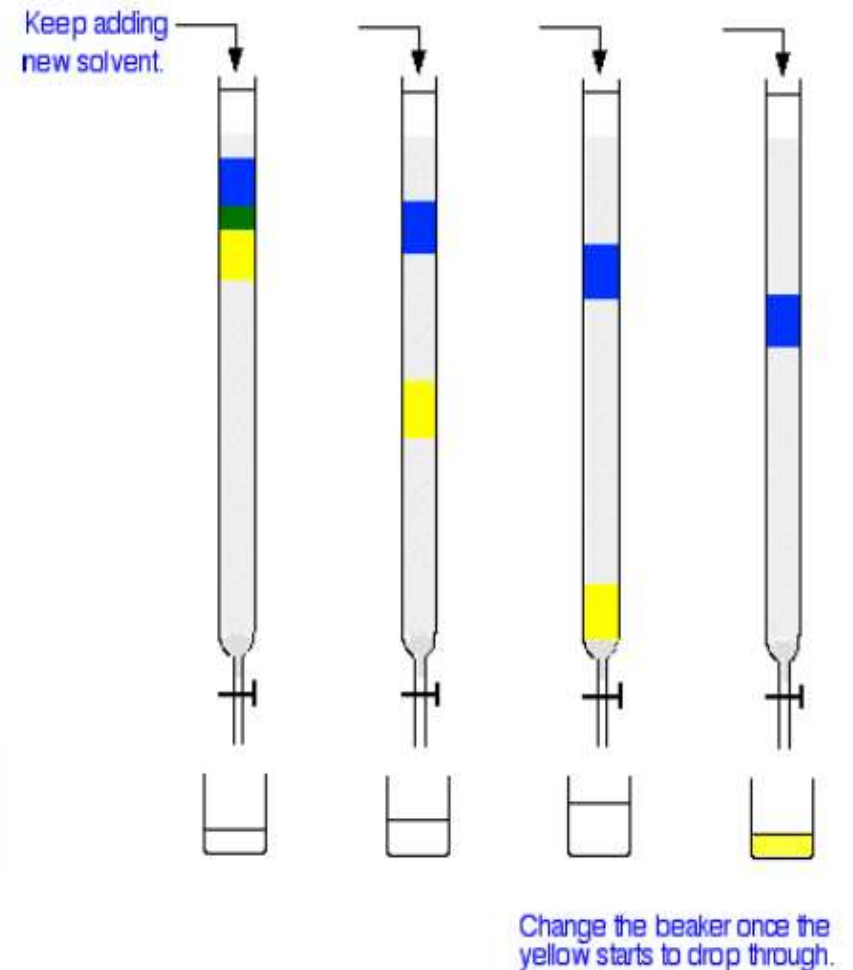
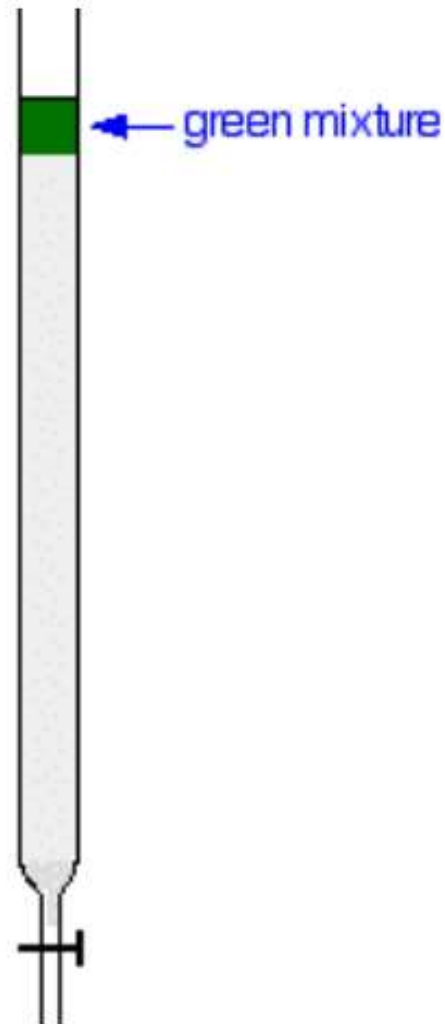
- Beberapa kombinasi pelarut yang khas adalah ligroin-diklorometana, heksana-etil asetat dan hexane-toluene. Seringkali digunakan dan pelarut ini sangat baik dalam memisahkan sebagian besar senyawa.
- Pelarut seperti metanol dan air biasanya tidak digunakan karena mereka dapat merusak integritas fase diam dengan menyebabkan silika gel terlarut.



Cara Pemisahan

- Buat larutan jenuh dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai
- Buka kran penutup untuk membiarkan pelarut yang sudah berada dalam kolom mengering sehingga material terpadatkan rata pada bagian atas,
- Kemudian tambahkan larutan secara hati-hati dari bagian atas kolom. Lalu buka kran kembali sehingga campuran berwarna akan diserap pada bagian atas material terpadatkan, sehingga akan tampak seperti :

- Tambahkan pelarut baru melalui bagian atas kolom, cegah sedapat mungkin jangan sampai merusak material terpadatkan dalam kolom.
- Buka kran, supaya pelarut dapat mengalir melalui kolom, kumpulkan dalam satu gelas kimia atau labu dibawah kolom.
- Karena pelarut mengalir kontinyu, tetap tambahkan pelarut baru dari bagian atas kolom sehingga kolom tidak pernah kering.





Proses Pemisahan Dalam Kolom

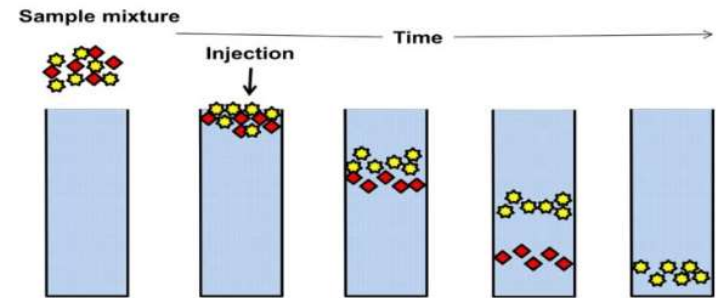


Figure 28.3: Separation of two molecules on a column.



Jenis Kromatografi Kolom

- Kromatografi Kolom Gravitasi
- Kromatografi Kolom Cair Vakum (KCV)
- Kromatografi Kolom Tekan (KKT)

**KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT)**

***HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)***

SKEMA HPLC



Injektor

Kolom analitik

C₁₈

D

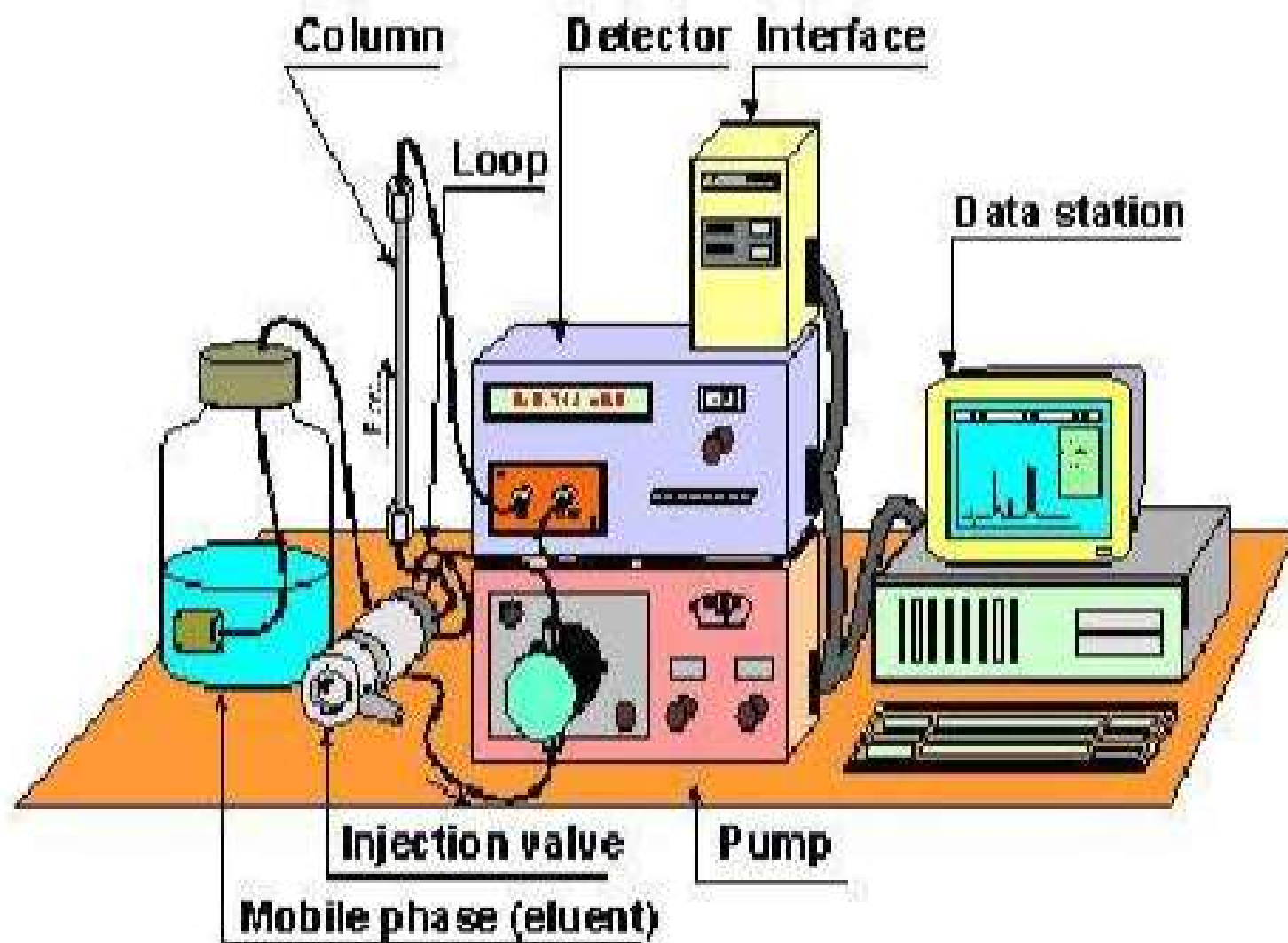
Ke penampungan

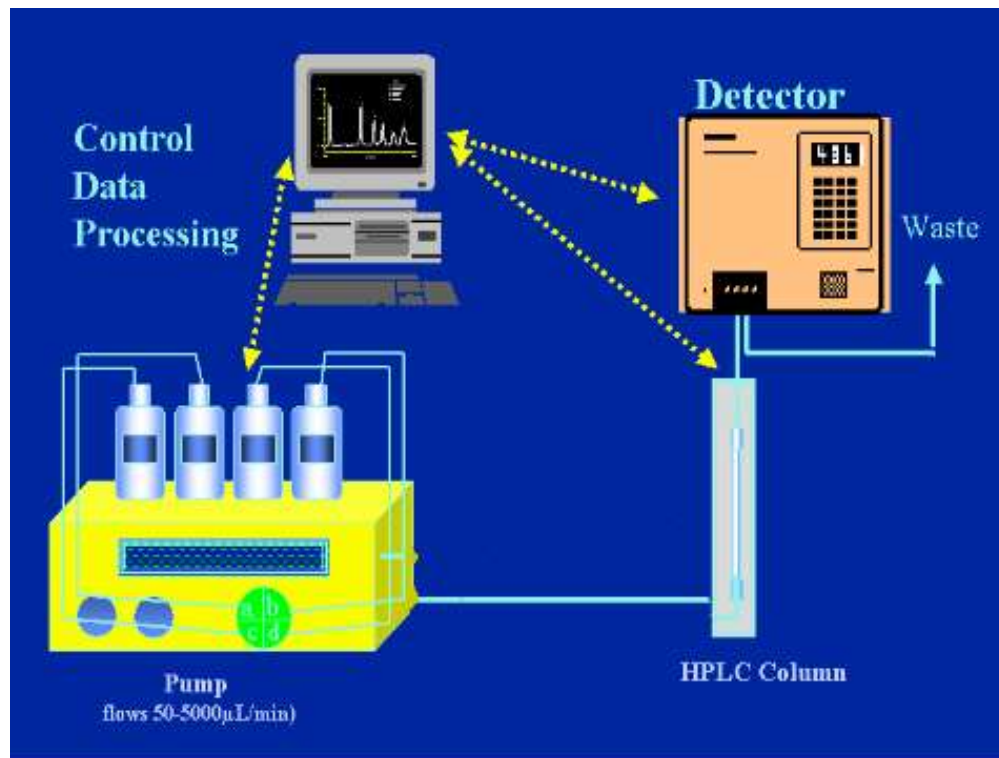
POMPA



Integrator







1. Reservoir Fase Gerak



Bisa lebih dari 1



dari gelas / stainless steel



Daya tampung 1- 2 L

Dilengkapi degasser (menghilangkan gas terlarut) → gas NO_2 & O_2 → membuat gelembung-gelembung di dalam kolom & detektor



- Pelebaran pita analit
- Respon detektor terganggu



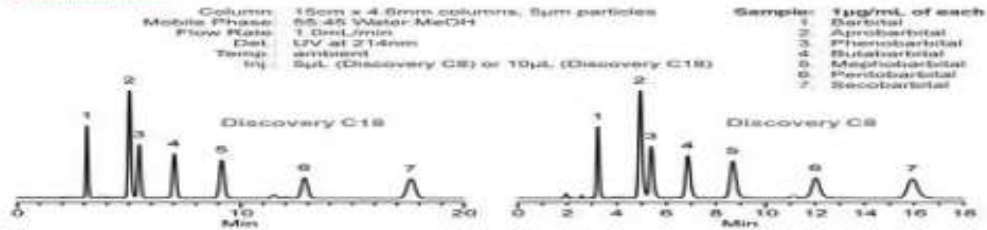
- Degassing → pompa vakum dihubungkan reservoir & diaduk / dipanaskan
- ◇ Solven disaring dengan kertas Millipore
- ◇ Pemisahan dengan 1 jenis FG dengan konsentrasi konstan → Elusi Isokratik
- ◇ Bila dengan 1 atau lebih FG yang polaritasnya berbeda → Elusi Gradien
- ◇ Digunakan FG segar → mendapatkan hasil yang reproduibilitas optimum dalam pemisahan

5. Kolom Kromatografi

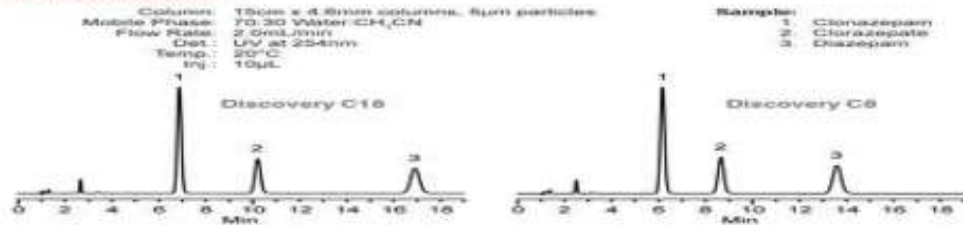
- ✿ Bentuk tabung, permukaan dalam rata
- ✿ Dari gelas / stainless steel
- ✿ Lapisan luar kadang dilapisi logam → menahan tekanan ad 6000 psi, rx kimia dari FG
- ✿ Sambungan kolom → tidak menyebabkan FG stagnant
- ✿ Panjang kolom (10 – 30) cm
- ✿ Analisis pemisahan cepat (3 – 8) cm
- ✿ Internal diameter (4 – 5)mm
- ✿ Partikel diameter (3 – 5) μm
- ✿ Guard kolom → sebelum kolom analitik



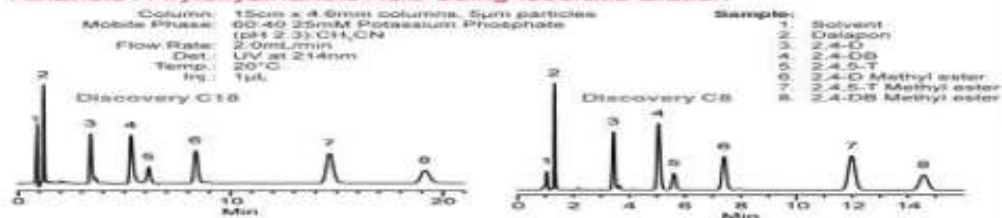
Barbiturates



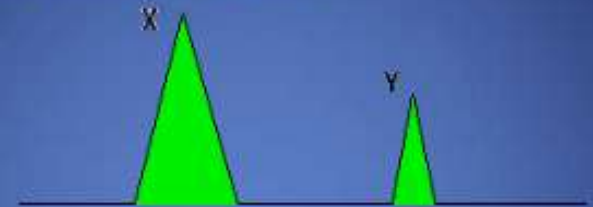
Anticonvulsants



Athanoic / Aryloxyathanoic Acid Using Isocratic Elution



Profil kromatogram



Dalam gambar, area di bawah puncak Y < dibanding dengan area dibawah puncak X. Hal ini mungkin disebabkan :

- a. Karena Y lebih sedikit dari X
- b. Y mengabsorbsi sinar UV pada panjang gelombang lebih sedikit dibanding dengan X.

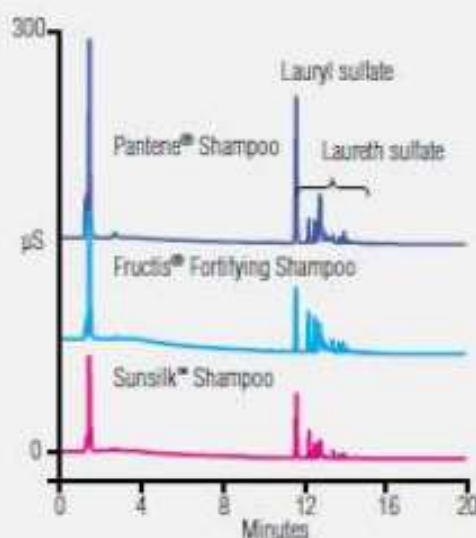
Fase Balik/Reverse Phase HPLC

Silika dimodifikasi menjadi non polar berupa atom karbon 8 atau 18. Sebagai contoh, pelarut polar digunakan berupa campuran air dan alkohol seperti metanol.

Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan bereaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals. Molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom.

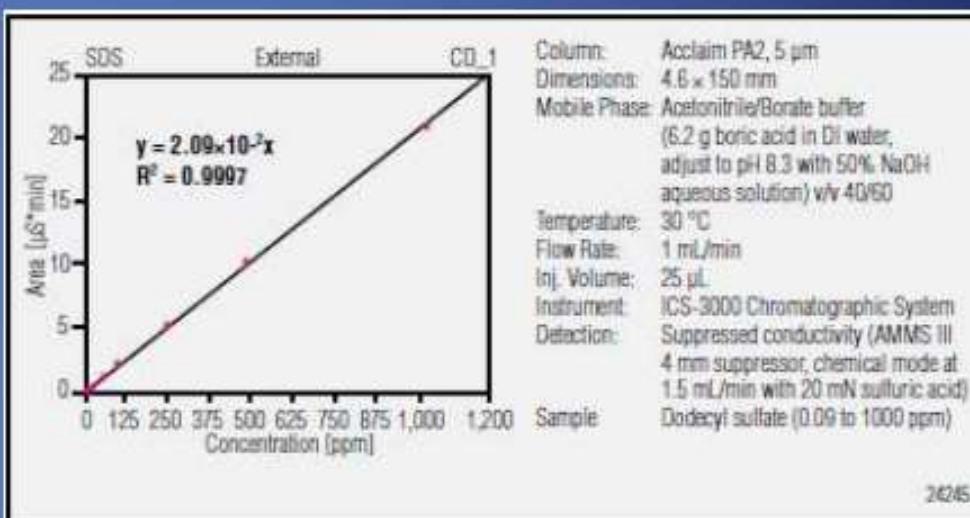
Fase balik HPLC adalah bentuk yang biasa digunakan dalam HPLC.

Hasil Analisis dengan menggunakan HPLC



Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: (A) Acetonitrile
 (B) Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution)
 Gradient: Time (min) A B
 -12 0 100
 0 0 100
 15 70 30
 20 70 30
 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 10 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 30 mN sulfuric acid)
 Sample: A shampoo sample suspended in H₂O and alcohol (50:50 w/v), sonicated for 60 min, then filtered through a 0.45- μ m membrane filter.

24249



Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: Acetonitrile/Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution) v/v 40/60
 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 25 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 20 mN sulfuric acid)
 Sample: Dodecyl sulfate (0.09 to 1000 ppm)

24245

Figure 7. Linearity under isocratic conditions. Dynamic range — 0.1 to 1000 ppm.

SPEKTROSKOPI INFRAMERAH (IR)

1



Pengertian

2

- Sebuah metode analisis instrumentasi pada senyawa kimia yang menggunakan radiasi sinar infra merah.

- Spektroskopi IR berguna untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik.
- Bila suatu senyawa di radiasi menggunakan sinar infra merah, maka sebagian sinar akan diserap oleh senyawa, sedangkan yang lainnya akan diteruskan. Serapan ini diakibatkan karena molekul senyawa organik mempunyai ikatan yang dapat bervibrasi.

- Vibrasi molekul dapat dialami oleh semua senyawa organik, namun ada beberapa yang tidak terdeteksi oleh spektrometri IR. Masing2 ikatan akan mempunyai sifat yang khas.

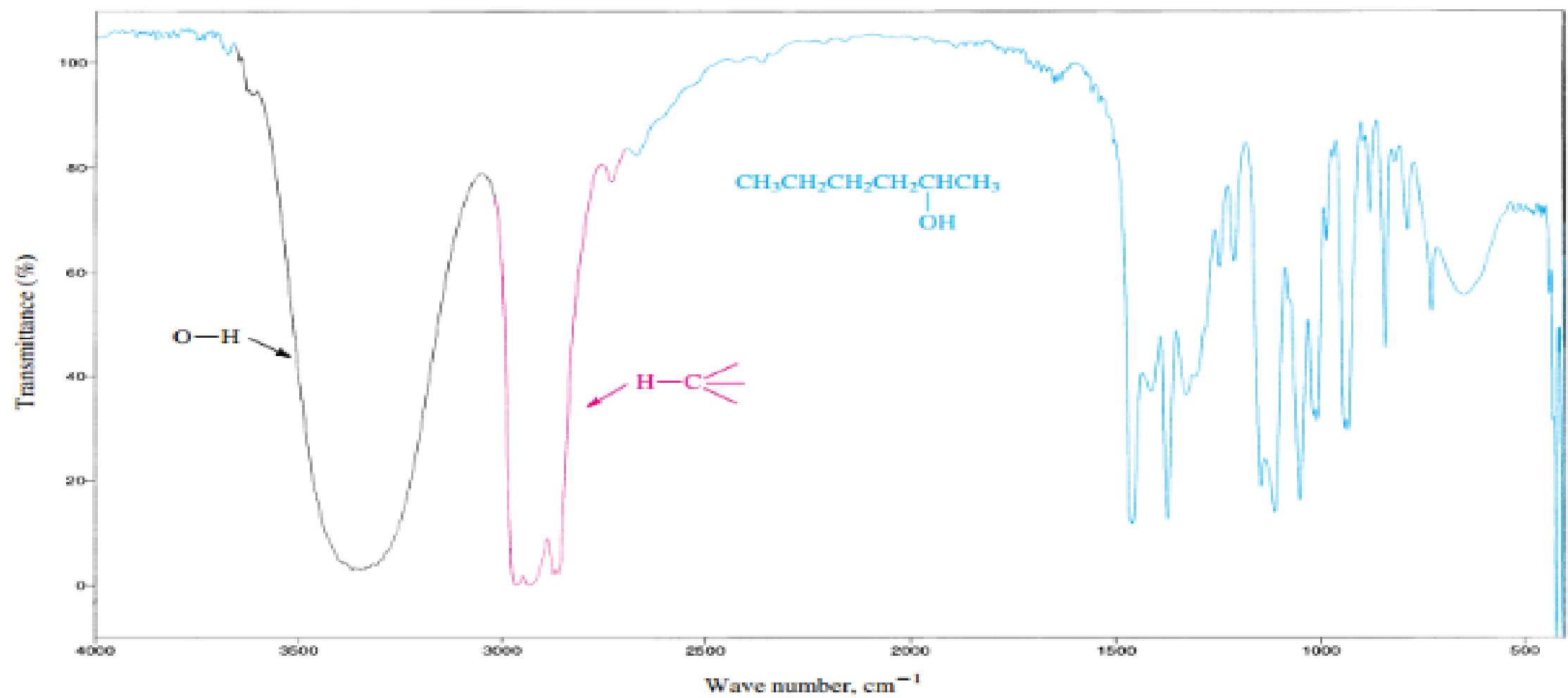
- Cahaya terdiri dari berbagai frekuensi elektromagnetik yang berkesinambungan yang berbeda. Radiasi IR adalah salah satu bagian dari spektrum elektromagnetik yang terletak antara cahaya tampak dan gelombang mikro. Rentang panjang gelombang IR yang digunakan untuk tujuan analisis adalah $2,5 \times 10^{-6}$ m sampai dengan 16×10^{-6} m ,

PRINSIP KERJA

6

- Jika radiasi IR dikenakan pada sampel senyawa organik, beberapa frekuensi bisa diserap oleh senyawa tersebut. Jumlah frekuensi yang melewati senyawa diukur sebagai transmitansi.
- Sebuah persentase transmitansi bernilai 100 jika semua frekuensi diteruskan senyawa tanpa diserap. Dalam prakteknya, hal ini tidak pernah terjadi. Dengan kata lain, selalu ada serapan kecil, dan transmitansi tertinggi hanya sekitar 95%. Dalam spektrum IR, akan terdapat suatu grafik yang menghubungkan bilangan gelombang dengan persen transmitansi.

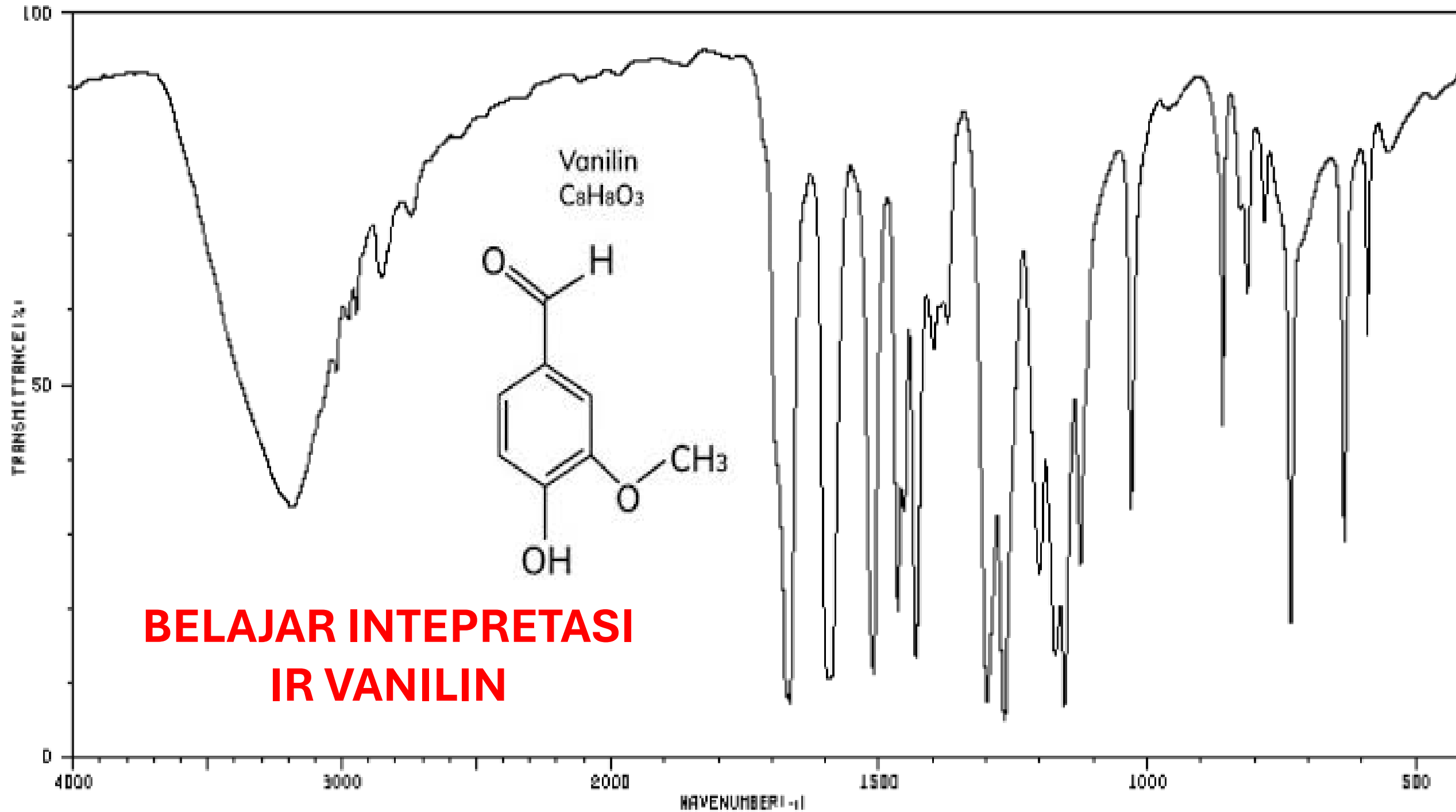
LIHAT VIDEO 1 & 2

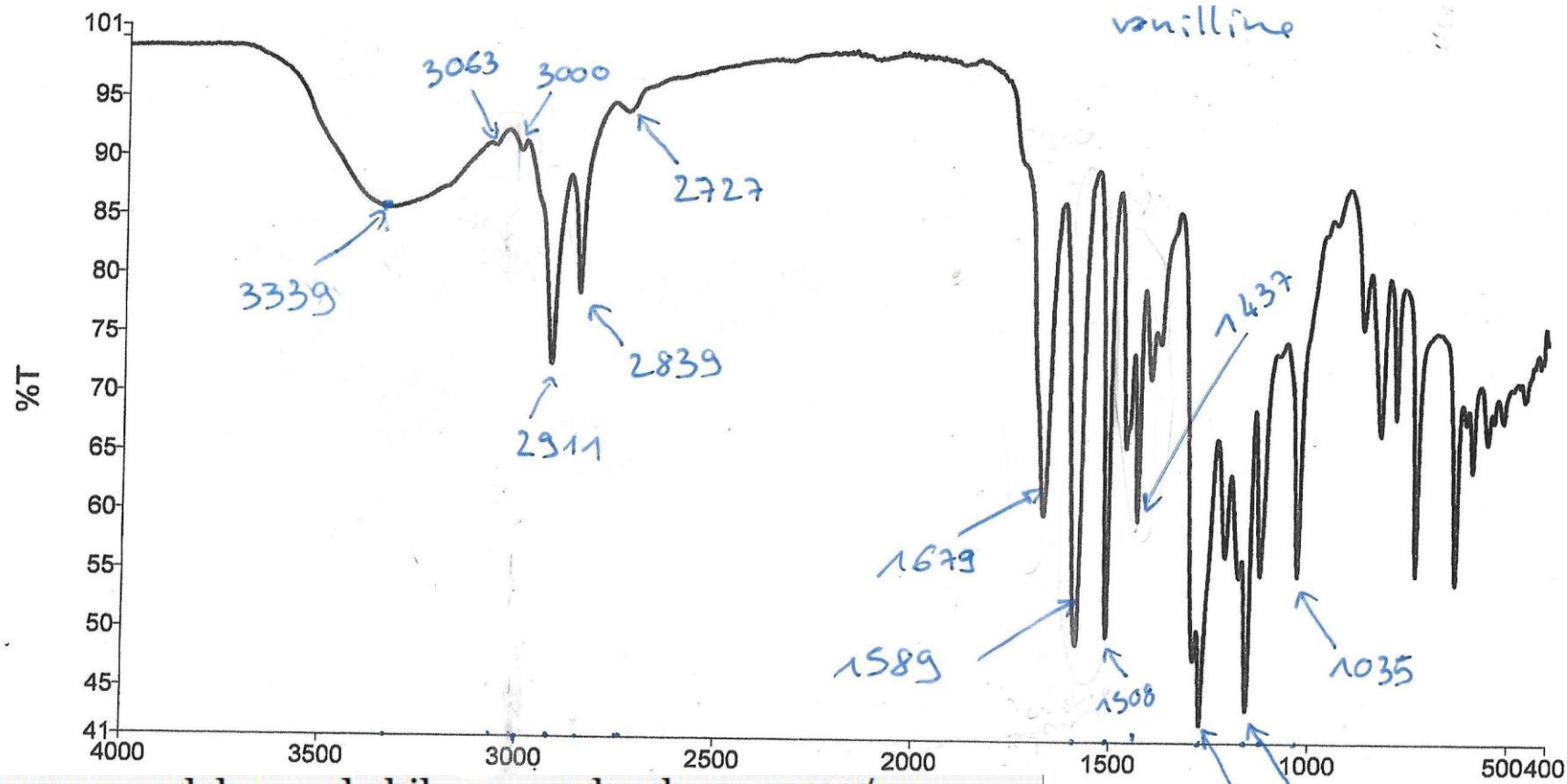


- Untuk tujuan determinasi gugus fungsi, pengamatan pertama kali ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 4000-1500/cm. Daerah sebelah kanan 1500/cm disebut dengan daerah sidik jari (fingerprint region). Daerah sidik jari akan sangat khas untuk masing2 senyawa.

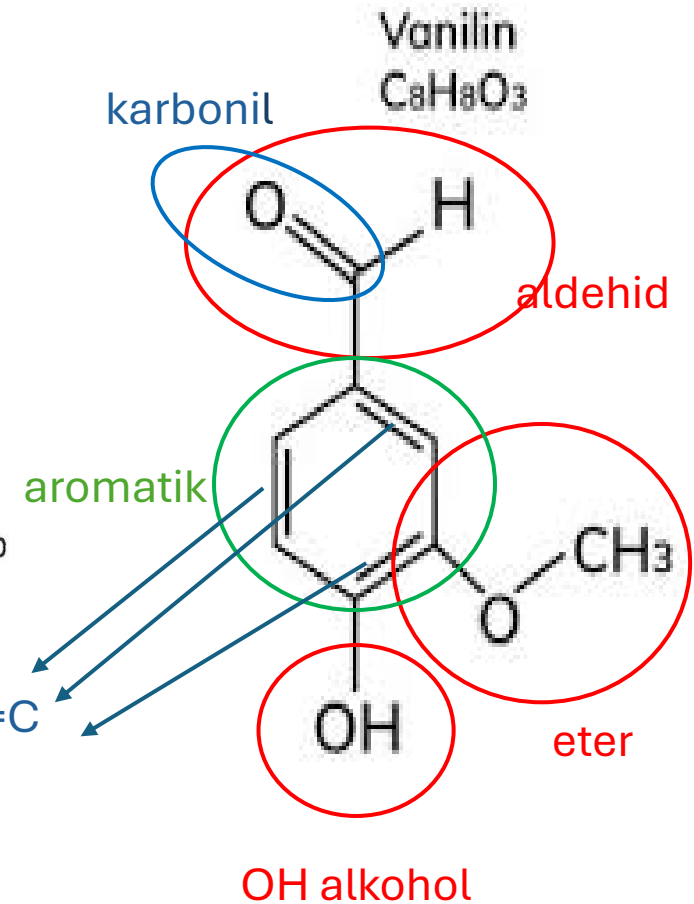
Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})
C=O keton	1700 - 1725
C=O aldehida	1720 - 1740
C=O asam karboksilat	1700 - 1725
C=O ester	1735 - 1750
C=O amida	1630 - 1690
C=N imina	1480 - 1690
C=C aromatik	1650 - 1450
C=C alkena	1640 - 1680
N-H amina	3300 - 3500
O-H alkohol	3200 - 3600
O-H asam karboksilat	3600 - 2500
C-H alkana	3000 - 2850
C-H alkena	3020 - 3000
C-H alkuna	3030 - 3000
C-H aromatik	3050 - 3070
C-O eter	1120 - 1140
C-O ester	1300 - 1000
C-O alkohol	1060 - 1040
C-F	1100 - 1000
C-Cl	760 - 540
C-Br	600 - 500

LIHAT VIDEO 3&4





- Serapan melebar pada bilangan gelombang 3200/cm merupakan serapan OH alkohol
- Adanya serapan lemah di daerah 2800.cm merupakan tipikal C-H aldehida
- Serapan kuat pada bilangan gelombang 1700/cm merupakan gugus karbonil
- Serapan kuat dan tajam pada 1200/cm merupakan C-O eter.
- Adanya C=C aromatik diketahui dari adanya serapan pada daerah 1600/cm
- Adanya gugus aromatik diperkuat dengan adanya puncak pada daerah sekitar 3000/cm



kesimpulan

13

- Vanilin merupakan gugus fungsi alkohol, aldehida, eter dan cincin benzena

- Molekul kimia terutama molekul organik memiliki ikatan antar atom. Ikatan antar atom tsb tidak hanya diam, melainkan bervibrasi. Molekul organik yang dapat menerima radiasi IR disebut dengan molekul aktif IR
- Molekul dapat bervibrasi dengan berbagai cara yang disebut dengan modus vibrasi. Untuk molekul dengan jumlah atom N , molekul linier mempunyai modus vibrasi $3N-5$ derajat. Sedangkan molekul non linier mempunyai modus vibrasi sebesar $3N-6$ derajat. Sebagai contoh adalah H_2O (molekul non linier) akan mempunyai kebebasan / modus vibrasi sebesar $3 \times 3 - 6 = 3$ derajat.

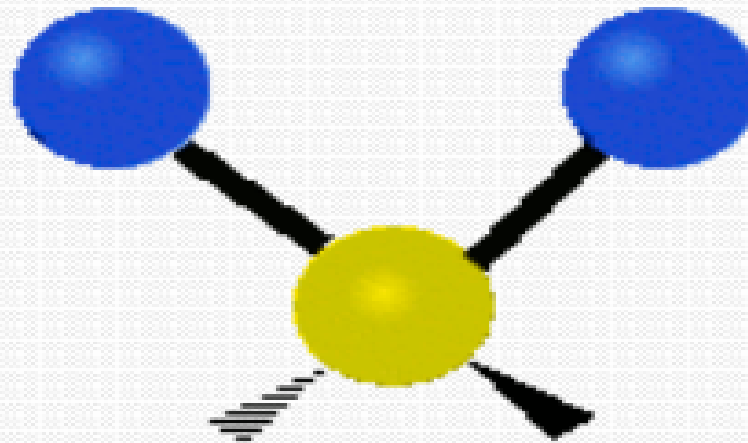
- Molekul diatomik hanya mempunyai satu ikatan dan hanya mempunyai satu jenis vibrasi. Jika molekul simetris (seperti N_2) maka tidak akan terdeteksi dalam spektrum IR. Jika molekul diatom non simetri seperti CO, maka akan terdeteksi dalam spektrum IR.
- Suatu molekul CH_2X_2 dapat bervibrasi dengan berbagai cara sbb :

Vibrasi Ulur (Stretching vibrations)

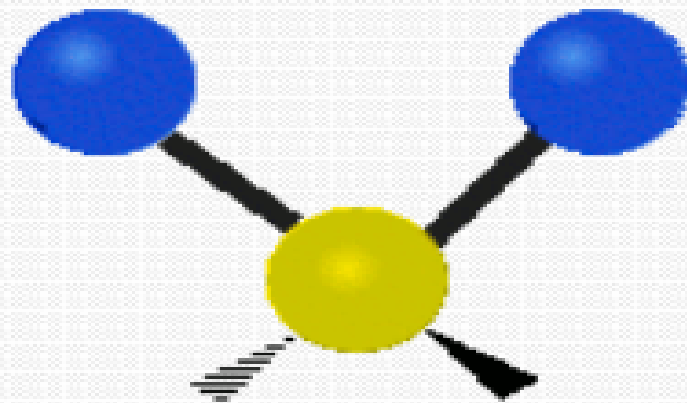
17

- Vibrasi yang mengakibatkan perubahan panjang ikatan suatu molekul, memanjang / memendek dalam satu bidang datar. Dibagi menjadi 2 yaitu asimetri dan simetri

- SIMETRI
- Ikatan antar atom bergerak bersamaan dalam satu bidang datar



- ASIMETRI
- Ikatan antar atom bergerak tidak bersamaan dalam satu bidang datar

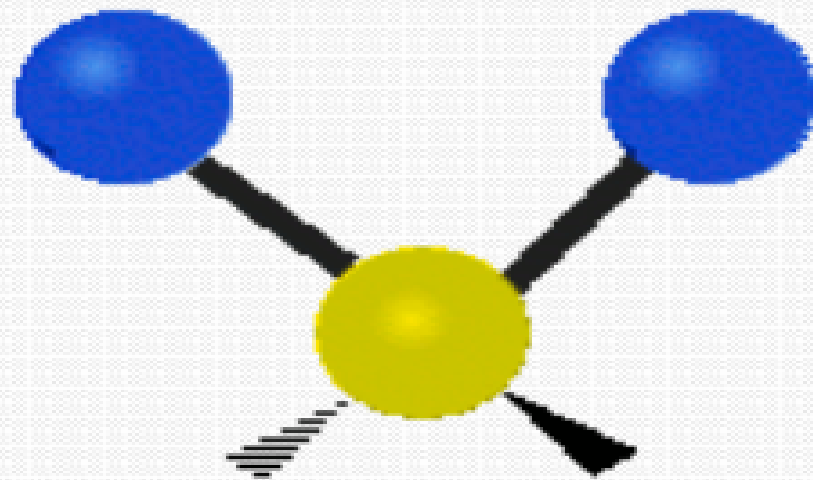


Vibrasi bengkok (bending vibrations)

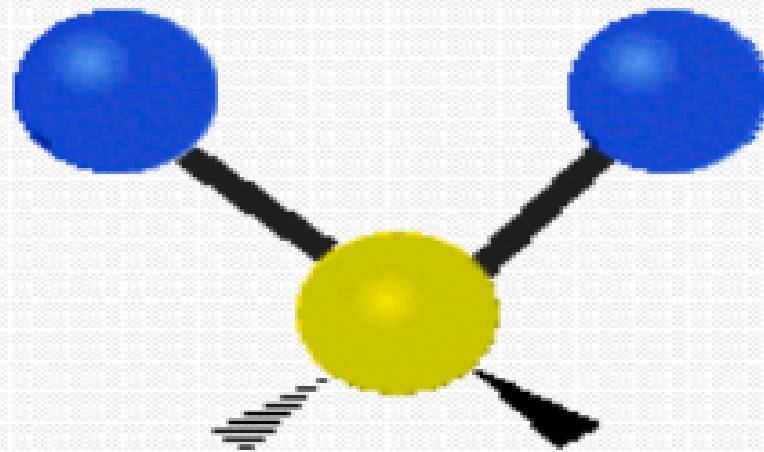
20

- Selain memanjang dan memendek, ikatan antar atom dalam molekul organik dapat bergerak mengayun secara beraturan. Hal ini mengakibatkan adanya perubahan sudut ikatan, sehingga ikatan akan bengkok. Vibrasi bengkok dibagi menjadi 4 yaitu :

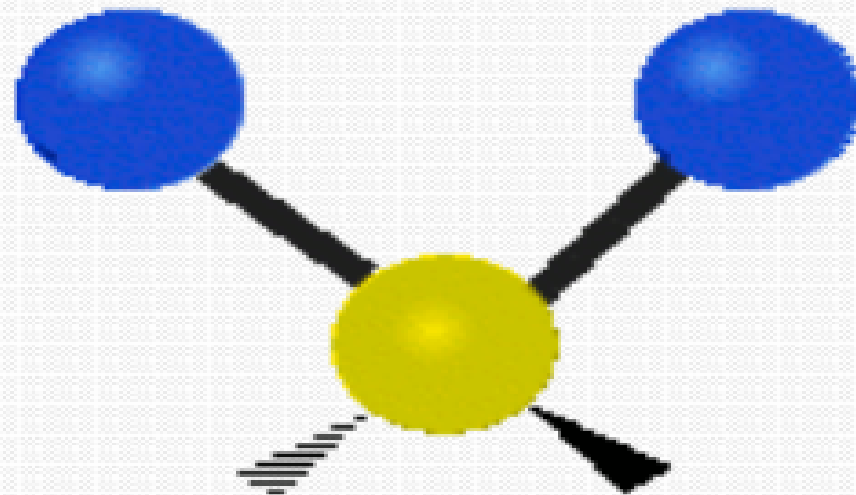
- Goyangan (rocking)
- Jika ikatan antar atom mengayun searah dalam satu bidang datar



- Guntingan
- Jika ikatan antar atom mengayun berlawanan arah dalam satu bidang datar



- Kibasan (Wagging)
- Jika ikatan antar atom mengayun searah tidak dalam satu bidang datar



- Pelintiran (Twisting)
- Ikatan antar atom mengayun berlawanan arah tidak dalam 1 bidang datar

LIHAT VIDEO 5

**SILAHKAN DIPELAJARI DAN DIPERHATIKAN
DI VIDEO LAMPIRAN**

HPLC

High Performance Liquid
Chromatography

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

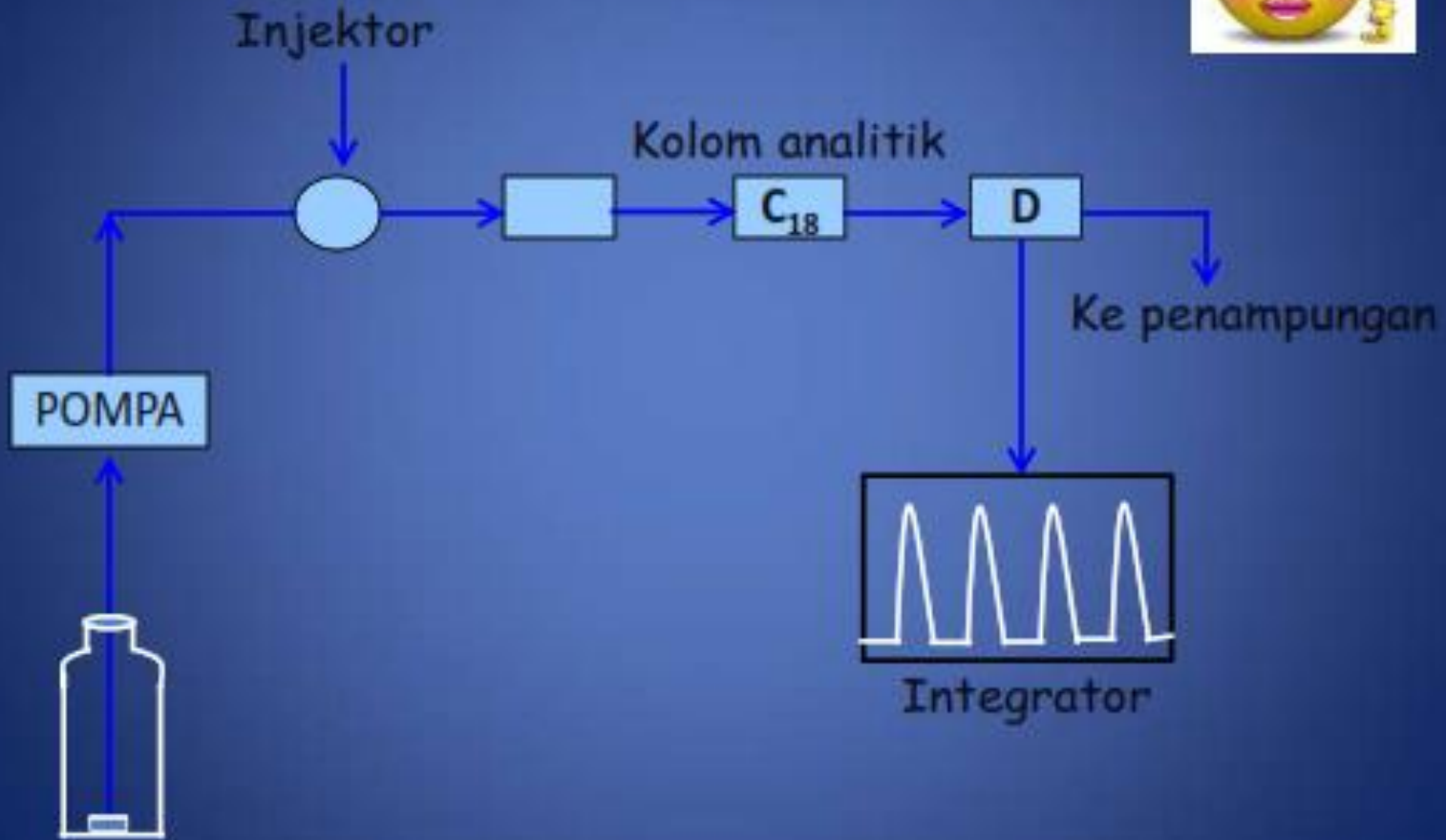
Generasi terkini : Ultra Performace Liquid Chromatography (UPLC)

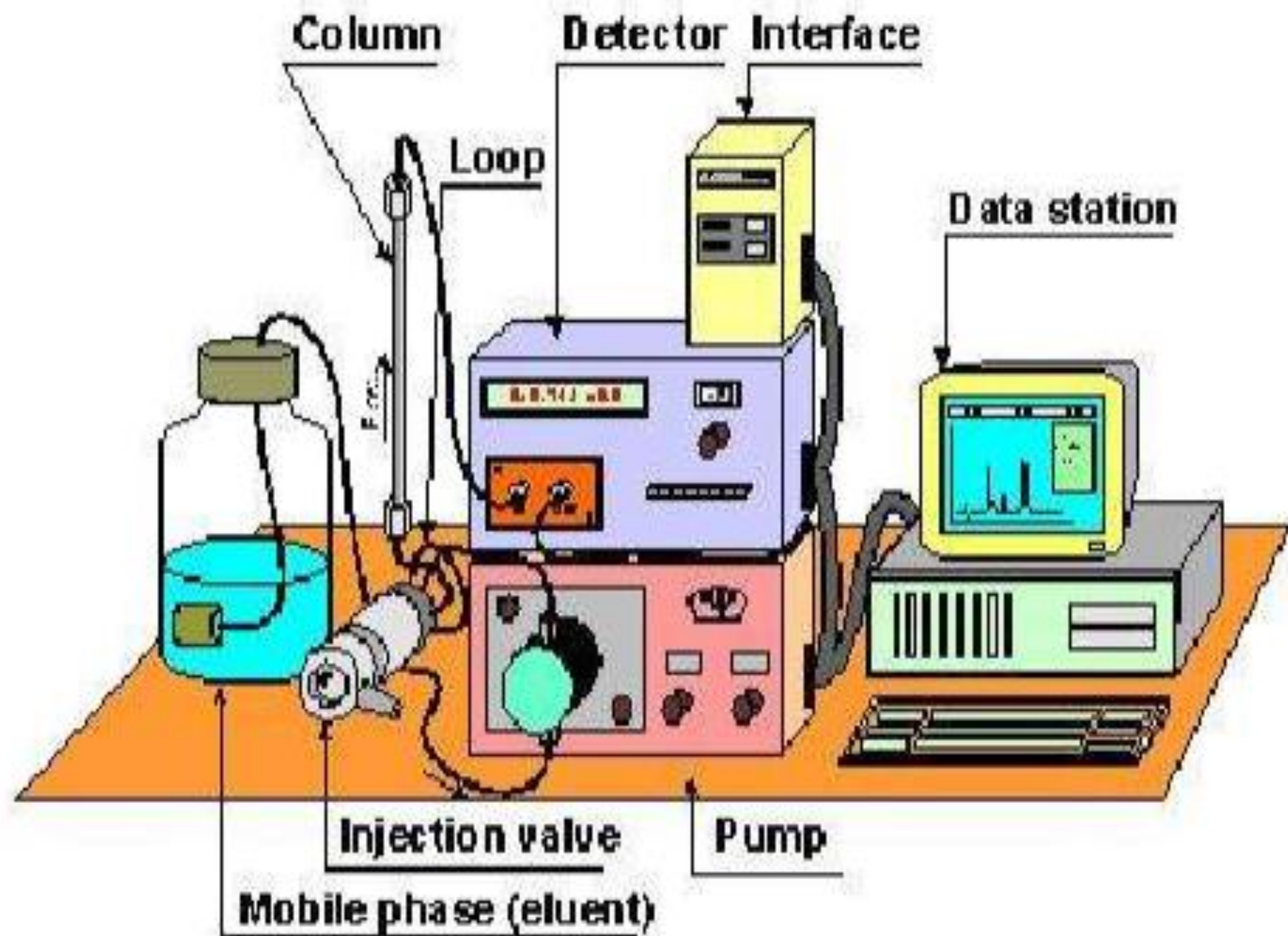
- **High** berarti tinggi
- **Pressure** berarti tekanan
- **Liquid** memiliki arti cairan, dan
- **Chromatography** merupakan suatu metode tentang pemisahan molekul,
- Kromatografi cair kinerja tinggi merupakan salah satu metode pemisahan molekul dengan media cair yang biasanya disertai dengan tekanan tinggi. Seperti teknik kromatografi pada umumnya, HPLC digunakan untuk memisahkan molekul berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap zat padat (fase diam) tertentu.
- Seiring dengan perkembangannya, HPLC(High Pressure Liquid Chromatography) bertransformasi menjadi High Performance Liquid Chromatography.
- Alat ini dapat dikombinasi dengan alat deteksi sesuai dengan kebutuhan

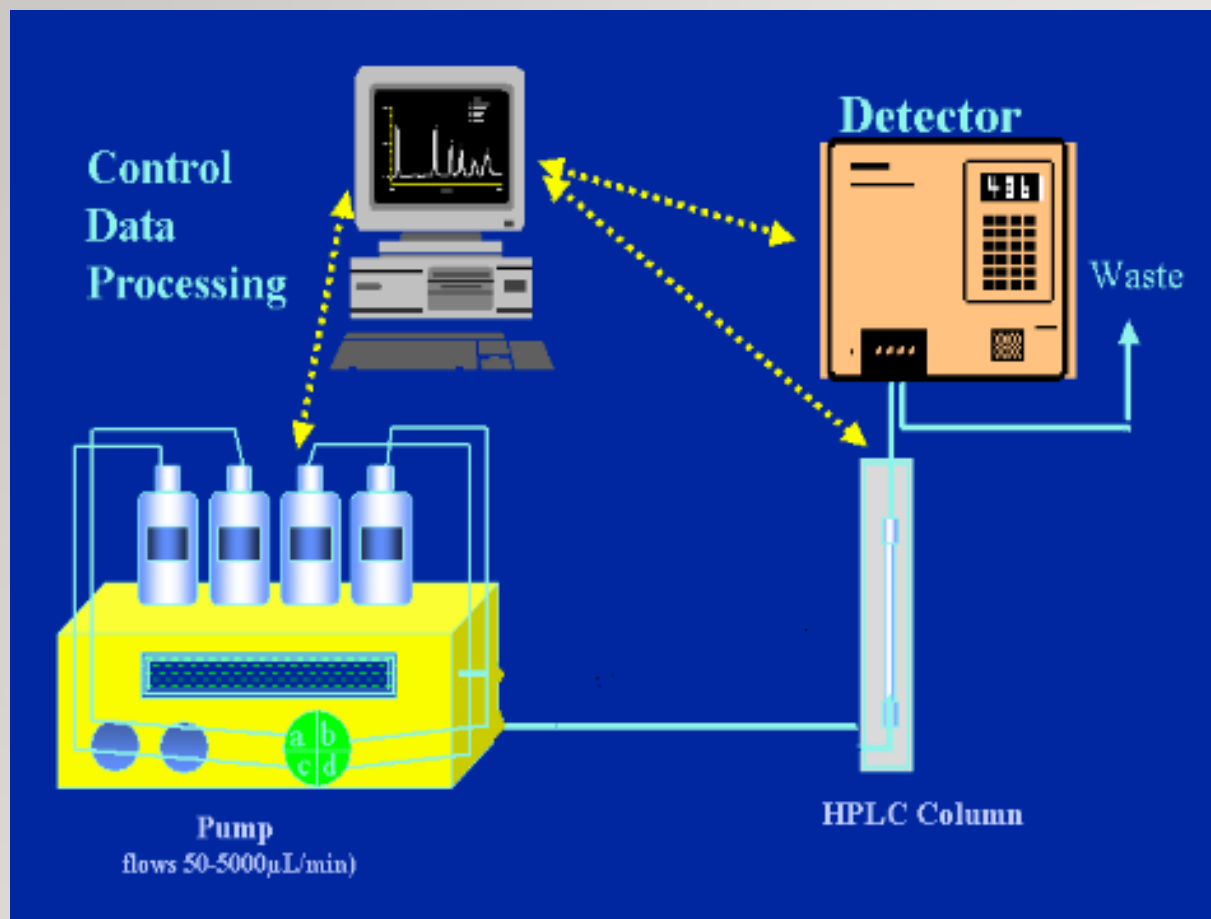
KEUNGGULAN HPLC

- Kolom HPLC dpt dipakai berulang kali tanpa perlu diregenerasi (diperbaharui)
- Tercapainya pemisahan yg baik terjadi di kolom
- Dapat dioperasikan secara otomatis
- Waktu analisis relatif singkat dibandingkan teknis analisis lainnya

SKEMA HPLC







1. Reservoir Fase Gerak



Bisa lebih dari 1



dari gelas / stainless steel



Daya tampung 1- 2 L

Dilengkapi degasser (menghilangkan gas terlarut) → gas NO_2 & O_2 → membuat gelembung-gelembung di dalam kolom & detektor



- Pelebaran pita analit
- Respon detektor terganggu



- Degassing → pompa vakum dihubungkan reservoir & diaduk / dipanaskan
 - ◇ Solven disaring dengan kertas Millipore
 - ◇ Pemisahan dengan 1 jenis FG dengan konsentrasi konstan → Elusi Isokratik
 - ◇ Bila dengan 1 atau lebih FG yang polaritasnya berbeda → Elusi Gradien
 - ◇ Digunakan FG segar → mendapatkan hasil yang reproduktibilitas optimum dalam pemisahan

BEBERAPA
CONTOH FASE
GERAK YG
BANYAK
DIGUNAKAN

Fase Gerak	Polaritas indeks
Toluen	2,4
Kloro benzen	2,7
Etil eter	2,8
Etil asetat	4,4
Aseton	5,1
Metanol	5,1
Asetonitril	5,8
Air	10,2

B. POMPA

- Pompa berfungsi untuk mendistribusikan fase gerak maupun sample dengan tekanan yang tinggi ke bagian-bagian lainnya. Tekanan berkisar antara 6000-9000psi
- Sebelum melakukan analisis (sample belum dimasukan kedalam fase gerak) harus dilihat base line (ada nilai **slope** yang harus dipenuhi). Nilai ini bergantung dari masing-masing alat/instrument
- Ketika base line sudah stabil maka auto sampler mulai menjalankan algoritma injeksi sample atau disuntikkan secara manual



Injector manual



Automatic Injector

C.ALAT INJEKSI/INJECTOR

Berguna untuk memasukkan sampel ke dalam kolom

Dirancang khusus sebab sistem HPLC mempunyai tekanan sangat tinggi

Beberapa HPLC dilengkapi peralatan injeksi sampel yg dpt memasukkan sampel secara otomatis sekaligus menjalankan peralatan lain yg terangkai dlm sistem tsb, dikenal auto injector. Alat ini mampu menangani sampel dlm jumlah puluhan buah

5. Kolom Kromatografi

- ✿ Bentuk tabung, permukaan dalam rata
- ✿ Dari gelas / stainless steel
- ✿ Lapisan luar kadang dilapisi logam → menahan tekanan ad 6000 psi, rx kimia dari FG
- ✿ Sambungan kolom → tidak menyebabkan FG stagnant
- ✿ Panjang kolom (10 – 30) cm
- ✿ Analisis pemisahan cepat (3 – 8) cm
- ✿ Internal diameter (4 – 5)mm
- ✿ Partikel diameter (3 – 5) μm
- ✿ Guard kolom → sebelum kolom analitik



KOLOM HPLC



GRACE HPLC Column



Stainless Steel Analytical Column Hardware

VisionHT™ Guard Columns



Stainless Steel Preparative Column Hardware

KOLOM

Normal phase HPLC:

Kolom polar / fase gerak non polar

Contoh : R=hidrokarbon

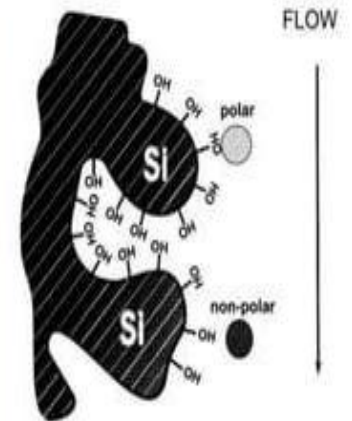
Reversed phase HPLC:

Kolom non polar / fase gerak polar

Contoh R = cyano(C_2H_4CN); diol ($C_3H_6OCH_2CHOHCH_2OH$); amino

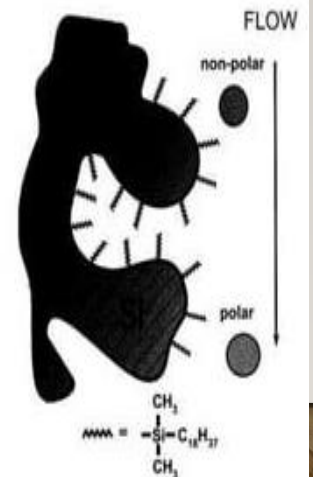
HPLC FASE NORMAL

- NP-HPLC: fase gerak non polar, fase diam polar
- Disebut juga kromatografi adsorpsi (adsorption chromatography)
- Pemisahan didasarkan atas adsorpsi/desorpsi analit pada fase diam polar (silika atau alumina)
- Analit polar lebih tertahan daripada analit non polar karena gugus silanol pada silika.



HPLC FASE TERBALIK

- RP-HPLC: fase gerak polar, fase diam non polar
- Pemisahan didasarkan atas koefisien partisi analit dalam fase diam dan fase gerak
- Urutan elusi: analit polar terelusi lebih dahulu, analit non polar terelusi terakhir
- Untuk pemisahan analit non polar (non ionik)
- Untuk analit yang dapat terionisasi (ionik) dapat dianalisis dengan RP-HPLC menggunakan pengaturan pH fase gerak atau teknik pasangan ion (ion-pair).



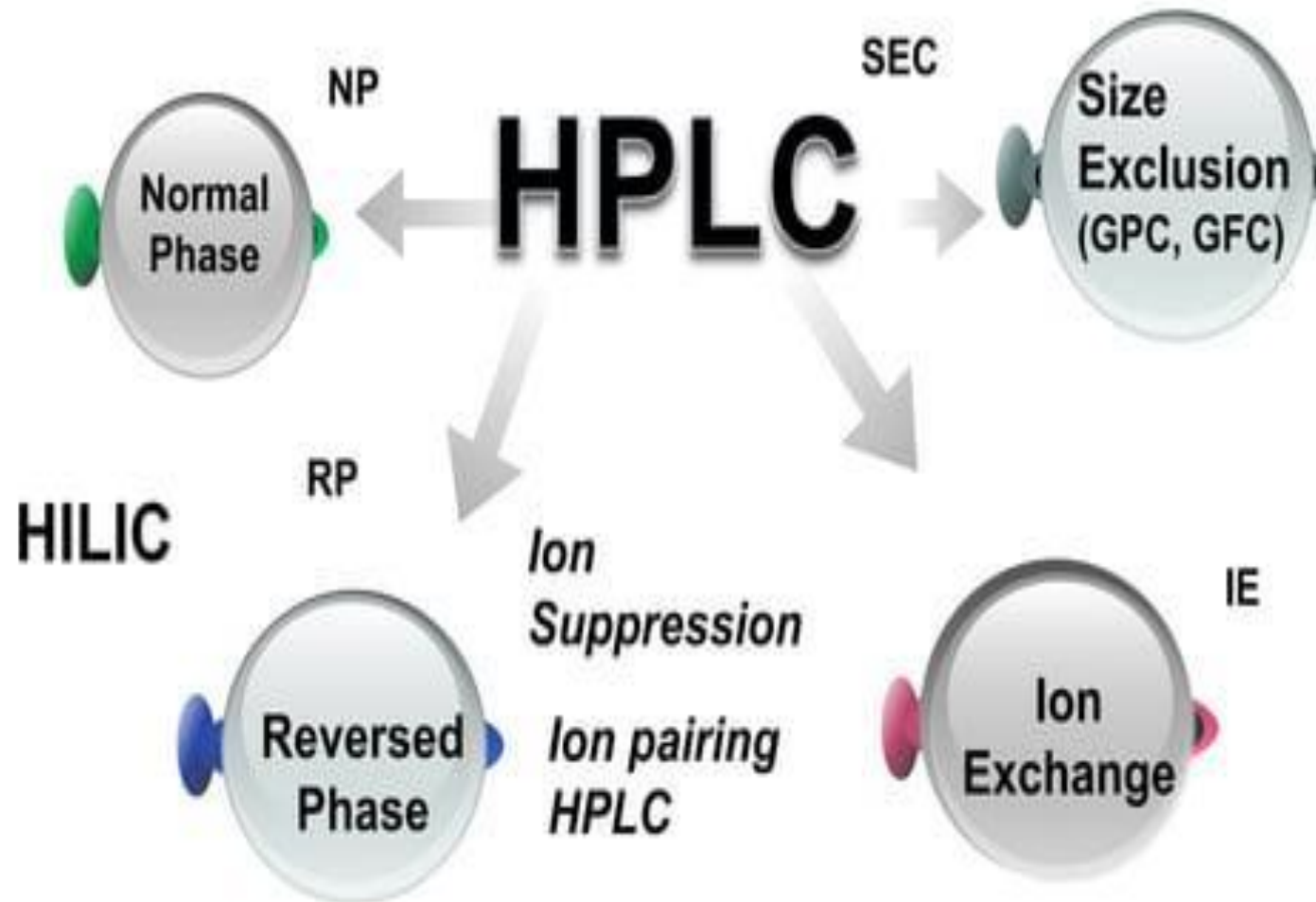
Fase Balik/Reverse Phase HPLC

Silika dimodifikasi menjadi non polar berupa atom karbon 8 atau 18. Sebagai contoh, pelarut polar digunakan berupa campuran air dan alkohol seperti metanol.

Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan bereaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals. Molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom.

Fase balik HPLC adalah bentuk yang biasa digunakan dalam HPLC.

BERDASARKAN SIFAT KIMIA PEMISAHAN



Dilakukan dengan instrumen HPLC yang sama,
tergantung dari kolom yang digunakan

ION EXCHANGE HPLC

Functional groups

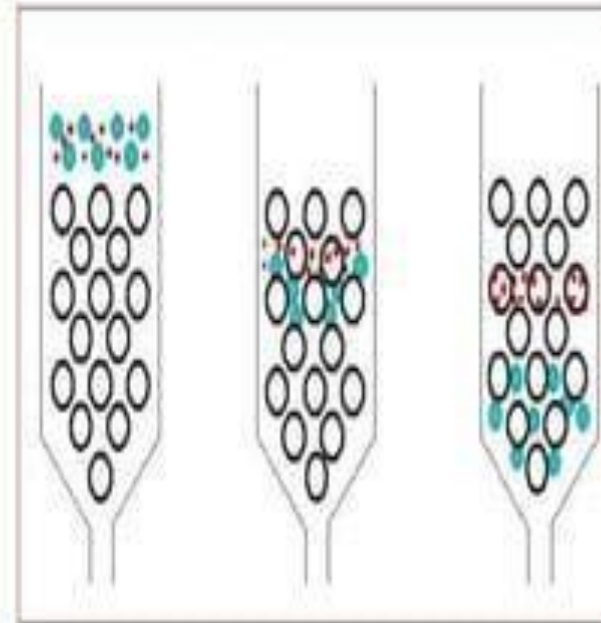
CATION EXCHANGERS		ANION EXCHANGERS	
TYPE	FUNCTIONAL GROUP	TYPE	FUNCTIONAL GROUP
Sulfonic acid	$-\text{SO}_3 \text{ H}$	Quaternary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_4 \text{ OH}$
Carboxylic acid	$-\text{COO}^- \text{ H}$	Quaternary amine	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2 (\text{EtOH})$
Phosphonic acid	$\text{PO}_3 \text{ H}$	Tertiary amine	$-\text{NH}(\text{CH}_3)_2 \text{ OH}$
phosphinic acid	$\text{HPO}_2 \text{ H}$	Secondary amine	$-\text{NH} \text{SCH}_3)_2 \text{ OH}$
Phenolic	$-\text{O}^- \text{ H}$	Primary amine	$-\text{NH}_2 \text{ OH}$
Arsonic	$-\text{HAsO}_3 \text{ H}$		
Selenetic	$-\text{SeO}_3 \text{ H}$		

SIZE EXCLUSION HPLC

- Merupakan metode kromatografi yang menggunakan partikel berpori untuk memisahkan molekul dengan ukuran yang berbeda.
- Untuk pemisahan makromolekul ($BM > 10000$).
- Disebut GFC jika digunakan untuk pemisahan molekul biologis yang larut air
- Fase gerak umumnya toluen dan tetrahidrofur.

Mekanisme

- Molekul yang lebih kecil dari ukuran pori dapat memasuki partikel dan mempunyai jalur dan waktu transit yang lebih panjang dibandingkan molekul besar yang tidak dapat memasuki partikel. Semua molekul yang lebih besar dari ukuran pori tidak tertahan dan terelusi bersama. Molekul yang memasuki pori akan mempunyai waktu tinggal dalam partikel yang tergantung pada ukuran dan bentuk molekul. Molekul yang berbeda mempunyai waktu transit yang berbeda untuk melewati kolom.
- Molekul yang tidak dapat memasuki pori akan memerlukan volume fase gerak lebih banyak untuk dapat keluar dari kolom



DETEKTOR

01

Sensitivitas yang tinggi
yaitu lebih dari $0,1 \mu\text{g}$
sampel dlm 1 cm^3

02

Tidak merusak sampel

03

Tidak sensitif thd
perubahan temperatur
dan perubahan kecepatan
aliran fasa gerak

DETEKTOR FOTOMETER (UV, IR, FLUORESCENCE)

Detektor UV dikhususkan pada senyawa yg memiliki serapan maksimum di daerah UV yaitu senyawa yg memiliki elektron ikatan n dan elektron non ikatan seperti olefin, aromatik, dan senyawa yang mengandung gugus -C=O , -C=S , -N=O dan -N=N-

Detektor IR dapat dipakai untuk mendeteksi beberapa panjang gelombang yg dapat diatur menurut gugus fungsinya. Panjang gelombang tersebut pada daerah $4000\text{-}690\text{ cm}^{-1}$

Detektor fluorescence dipakai untuk senyawa yg memiliki tingkat selektifitas tinggi pada senyawa yg berfluorescence. Senyawa ini umumnya memiliki struktur siklik konyugasi spt polinuklear aromatik, asam amino aromatik, phenol, quinolin

DETEKTOR REFRAKTOMETER

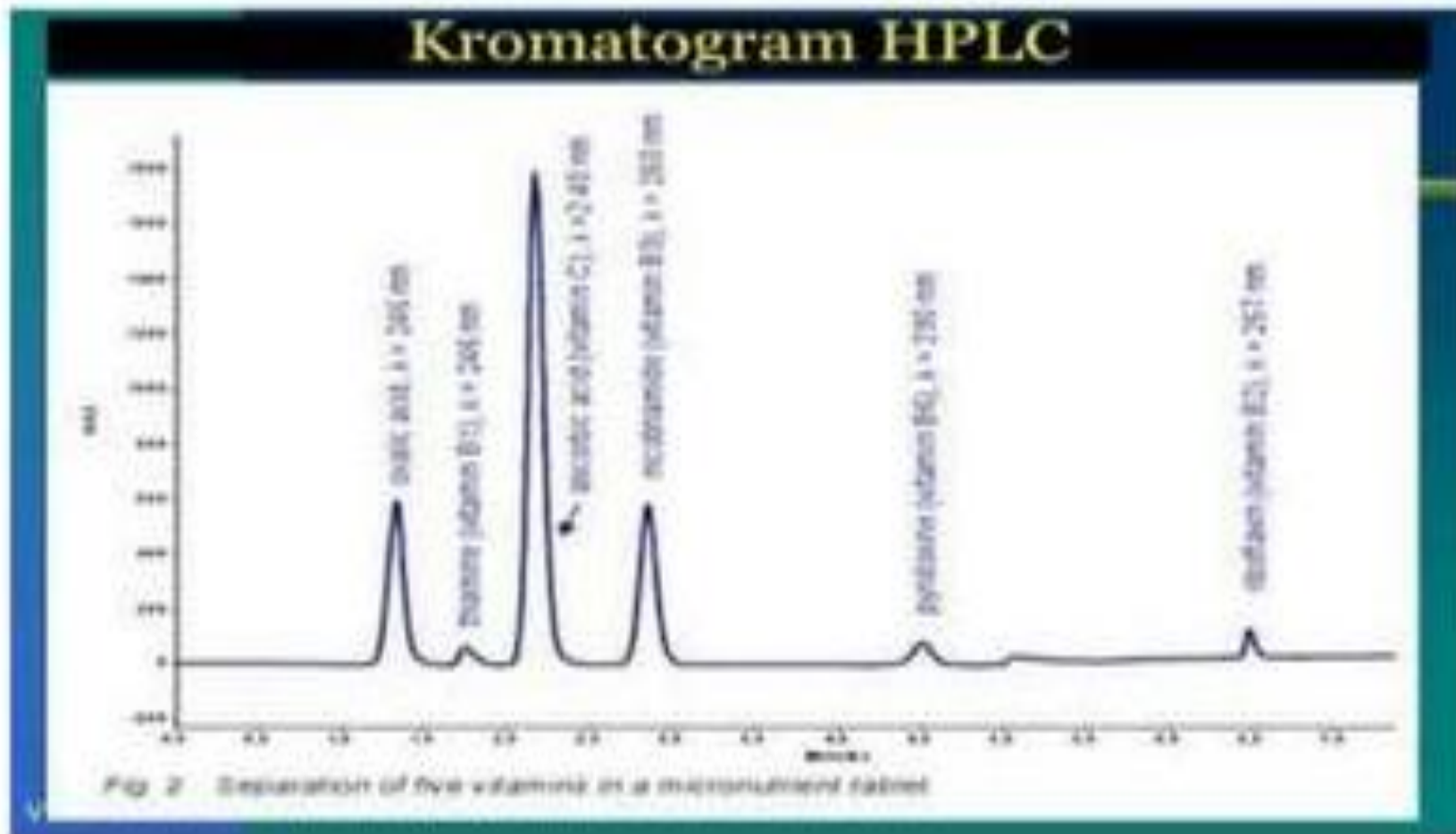
- ❑ Perbedaan detektor ini dari yg lain adalah mampu memonitor perbedaan indeks refraksi yg terdapat dlm fasa gerak dan fasa gerak-sampel ketika keluar dari dalam kolom
- ❑ Deteksi mampu dilakukan hingga konsentrasi 1 ppm dlm larutan

DETEKTOR KONDUKTOMETER

- ❑ Didasarkan pada adanya perbedaan daya hantar listrik dari larutan yg melewatinya
- ❑ Khusus digunakan utk mengukur larutan elektrolit yaitu pd kromatografi penukar ion
- ❑ Fasa geraknya biasanya air atau larutan buffer

RECORDER

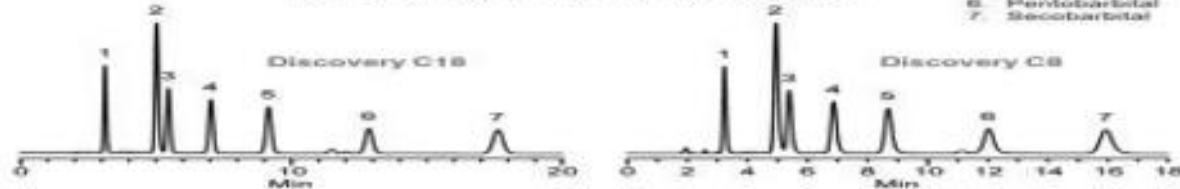
Menggambarkan kromatogram berdasarkan hasil yg diberikan oleh detektor



Barbiturates

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 55:45 Water-MeOH
Flow Rate: 1.0mL/min
Det.: UV at 215nm
Temp.: ambient
Inj.: 5µL (Discovery C8) or 10µL (Discovery C18)

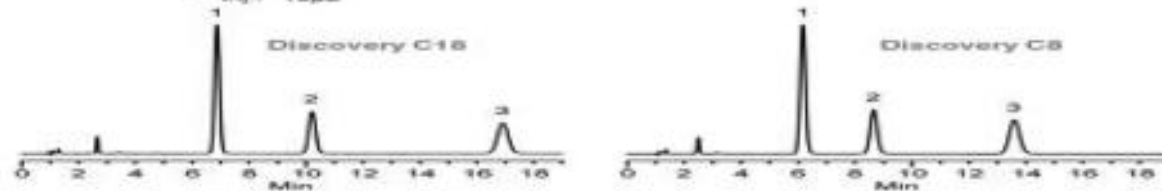
Sample: 1µg/mL of each
1. Barbitol
2. Aprobarbital
3. Phenobarbital
4. Butobarbital
5. Meghobarbital
6. Pentobarbital
7. Secobarbital



Anticonvulsants

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 70:30 Water-CH₃CN
Flow Rate: 2.0mL/min
Det.: UV at 254nm
Temp.: 20°C
Inj.: 10µL

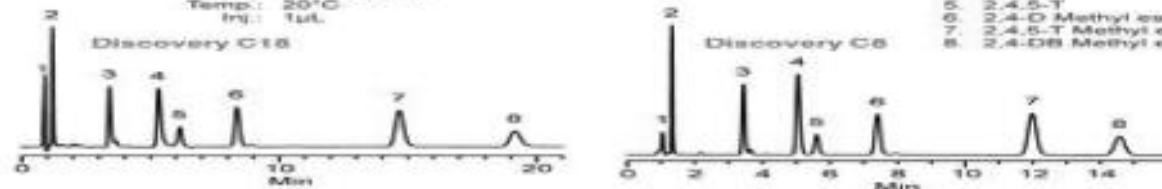
Sample:
1. Clonazepam
2. Clonazepam
3. Diazepam



Althanoic / Aryloxyalthanoic Acid Using Isocratic Elution

Column: 15cm x 4.6mm columns, 5µm particles
Mobile Phase: 60:40 25mM Potassium Phosphate (pH 2.3):CH₃CN
Flow Rate: 2.0mL/min
Det.: UV at 214nm
Temp.: 20°C
Inj.: 1µL

Sample:
1. Solvent
2. Datapon
3. 2,4-D
4. 2,4-DB
5. 2,4,5-T
6. 2,4-D Methyl ester
7. 2,4,5-T Methyl ester
8. 2,4-DB Methyl ester



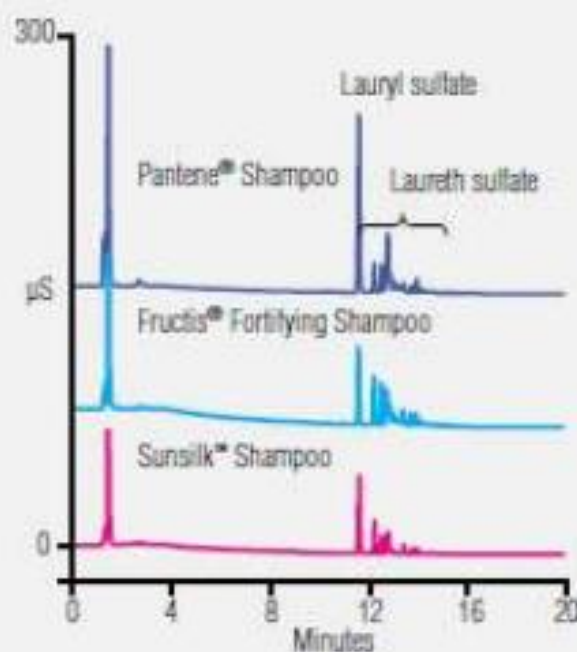
Profil kromatogram



Dalam gambar, area di bawah puncak Y < dibanding dengan area dibawah puncak X. Hal ini mungkin disebabkan :

- Karena Y lebih sedikit dari X
- Y mengabsorbsi sinar UV pada panjang gelombang lebih sedikit dibanding dengan X.

Hasil Analisis dengan menggunakan HPLC

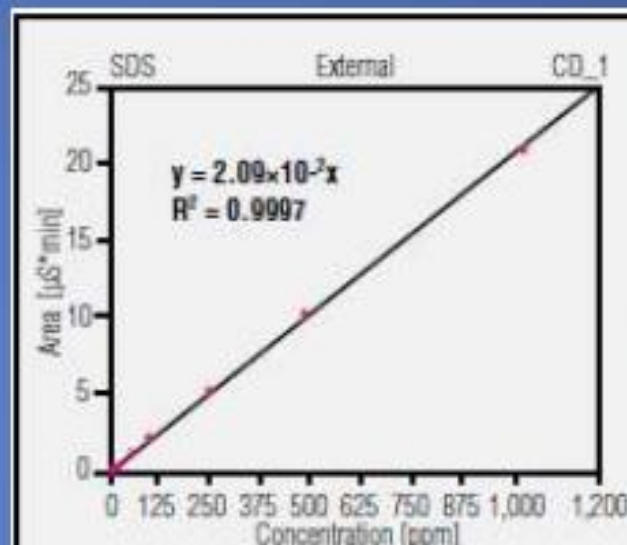


Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: (A) Acetonitrile
 (B) Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution)
 Gradient:

Time (min)	A	B
-12	0	100
0	0	100
15	70	30
20	70	30

 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 10 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 30 mN sulfuric acid)
 Sample: A shampoo sample suspended in H₂O and alcohol (50:50 w/v), sonicated for 60 min, then filtered through a 0.45- μ m membrane filter.

24249



Column: Acclaim PA2, 5 μ m
 Dimensions: 4.6 $\times$ 150 mm
 Mobile Phase: Acetonitrile/Borate buffer (6.2 g boric acid in DI water, adjust to pH 8.3 with 50% NaOH aqueous solution) v/v 40/60
 Temperature: 30 $^{\circ}$ C
 Flow Rate: 1 mL/min
 Inj. Volume: 25 μ L
 Instrument: ICS-3000 Chromatographic System
 Detection: Suppressed conductivity (AMMS III 4 mm suppressor, chemical mode at 1.5 mL/min with 20 mN sulfuric acid)
 Sample: Dodecyl sulfate (0.09 to 1000 ppm)

24245

Figure 7. Linearity under isocratic conditions. Dynamic range — 0.1 to 1000 ppm.

SISTEM ELUSI HPLC

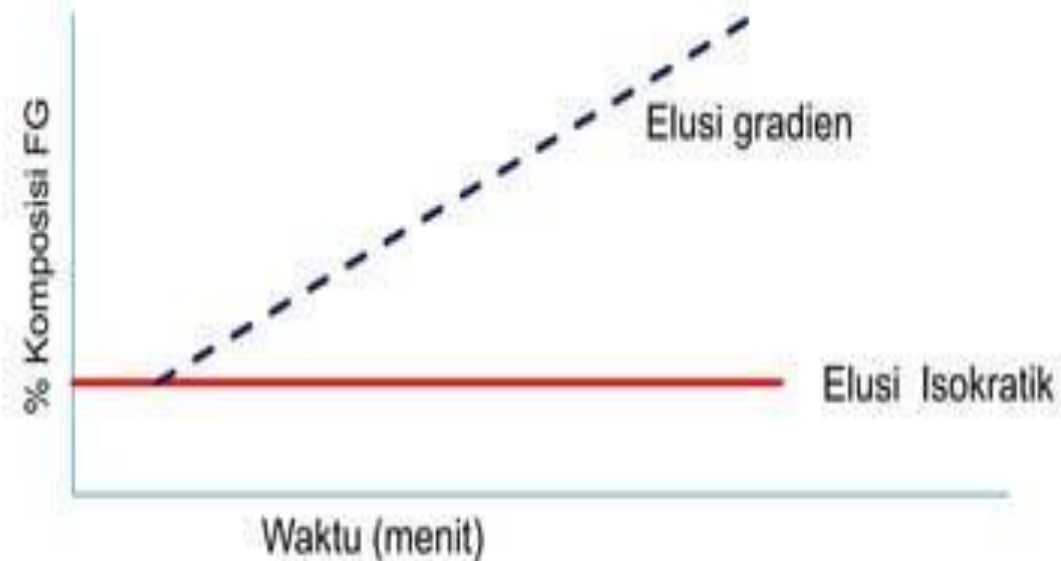
Sistem Pompa HPLC: Berdasarkan komposisi fase gerak/elusi

a. Isokratik (Isocratic elution):

→ Komposisi fase gerak tetap

b. Gradien (Gradient elution):

→ Komposisi fase gerak berubah-ubah



ELUSI GRADIEN (BERUBAH KOMPOSISI ELUEN SETIAP WAKTU)

Apabila suatu campuran senyawa yang kompleks ingin dianalisa yang terdiri dari komponen-komponen yang mempunyai afinitas yang sangat berbeda, sering didapatkan pemisahan yang tidak sempurna apabila digunakan sistim isokratik

Untuk memecahkan persoalan ini komposisi fasa gerak dapat diubah selama proses pemisahan sesuai dengan tingkat afinitas masing-masing komponen

Dapat menggunakan lebih dari dua pelarut yg secara otomatis dpt diubah komposisinya sesuai kebutuhan, sehingga diperoleh pemisahan yg baik. Biasanya menggunakan dua pompa FG

Keuntungan:

- Lebih baik untuk sampel campuran
- Memiliki resolusi yang lebih baik
- Kapasitas puncak lebih baik

ELUSI GRADIEN

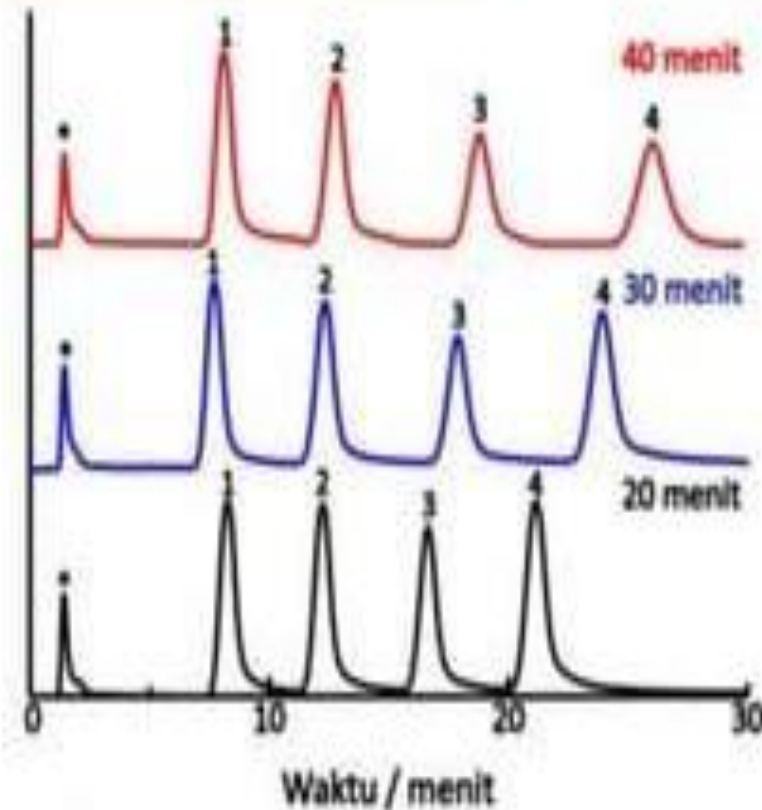
Contoh komposisi FG

Aseton itril	Air(%)	Waktu (menit)
90	10	0-5
70	30	5 -10
65	35	10-15
90	10	15-20

Kerugian

- Sistem pengaturan pd HPLC lebih kompleks
- Pengembangan Metode analisis dan implementasi lebih rumit
- Penyesuaian kolom dengan fase gerak membutuhkan waktu sehingga analisis menjadi lebih lama

Contoh komposisi FG pada elusi gradien



Gambar 5. Pemisahan alkilbenzena secara gradien elusi menggunakan kolom monolith poli-(LMA-co-EDMA). Fasa gerak A: asetonitril-air (40:60 w/w); fasa gerak B: asetonitril-air (60:40 w/w); laju alir 0,1 mL/menit; volume injeksi: 0,2 μ L; deteksi UV: 214 nm.
Puncak: (*) urasil, (1) etilbenzena, (2) propilbenzena, (3) butilbenzena dan (4) amilbenzena.

ELUSI ISOKRATIK

- Isokratik, cara pengaturan fasa gerak yg hanya memerlukan 1 macam komposisi pelarut baik pelarut tunggal maupun pelarut campuran. (komposisi pelarut sama dari mulai analisis hingga selesai)
- Jika digunakan 2 jenis pelarut maka diperlukan 2 pompa utk mengatur pelarut agar komposisinya tetap selama pemisahan
- Contoh: Metanol : Air: Asetonitril dengan perbandingan 50:10:40

TEKNIK PENANGANAN SAMPEL UJI

Sampel berupa padatan
perlu dihancurkan dan
dilarutkan, disaring

Sampel berupa larutan
dapat diencerkan

Sampel berupa krim atau
emulsi perlu dilarutkan dan
dipisahkan dari pembawa
yang dapat merusak kolom

VIDE

O

SELAMAT BELAJAR

SPECTROPHOTOMETRY UV VIS

SPECTROFOTOMETRY UV-VIS?

- Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif.

- Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmitansi, reflektansi dan absorpsi dari cuplikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer UV-Vis menggunakan cahaya sebagai tenaga yang mempengaruhi substansi senyawa kimia. Cahaya yang digunakan merupakan foton yang bergetar dan menjalar secara lurus dan merupakan tenaga listrik dan magnet yang keduanya saling tagak lurus.

Spektrofotometri ini merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible. Meskipun untuk alat yang lebih canggih sudah menggunakan hanya satu sumber sinar sebagai sumber UV dan Vis, yaitu photodiode yang dilengkapi dengan monokromator.

Untuk sistem spektrofotometri, UV-Vis paling banyak tersedia dan paling populer digunakan. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sample berwarna juga untuk sample tak berwarna.

SPECTROFOTOMETRY UV-VIS?

- Merupakan metode kuantitatif
- Berdasarkan radiasi elektromagnetik : Sinar UV (tidak tampak) dan Visibel (tampak).
- Sinar radiasi $\approx$ energi dlm bentuk gelombang.
- Panjang gelombang: jarak linear dr 1 titik pada titik gel yg berdekatan.
- Satuan panjang gelombang : nanometer (nm) atau lambda (λ)

SPECTROFOTOMETRY UV-VIS?



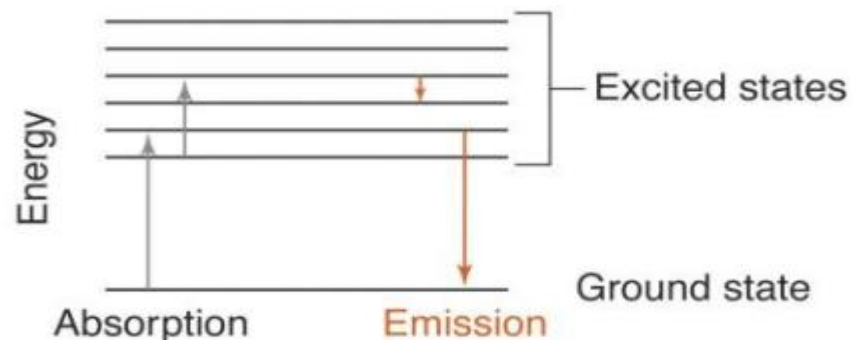
- Frekuensi: banyaknya gel yg melewati suatu titik tertentu dlm satuan waktu.
- Satuan: Hert (Hz) atau nu
- Sinar ultraviolet : 200 – 400 nm
- Sinar visibel: 400 – 750 nm

Absorpsi radiasi UV-Vis melibatkan **eksitasi elektron terluar** dan terdapat 3 jenis transisi elektron yaitu:

1. Transisi elektron s , p , dan n
2. Transisi elektron d and f
3. Transisi elektron alih muatan (*charge transfer*)

Saat atom atau molekul mengabsorbsi energi (radiasi yang diberikan), **elektron mengalami promosi dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi**.

Dalam molekul, atom dapat berotasi atau bervibrasi satu sama lainnya. Vibrasi dan rotasi ini memiliki tingkat energi diskret seperti pada gambar setelah *slide* berikut ini



Spektroskopi UV-Vis

??

- Absorpsi molekuler (~160-780 nm)

Prinsip

- Proton akan mempromosikan elektron ke keadaan tereksitasinya (orbital molekul)

Bagaimana pengukuran terjadi

- Sinar dari sumber kontinu diabsorpsi oleh sample

Data yang dihasilkan

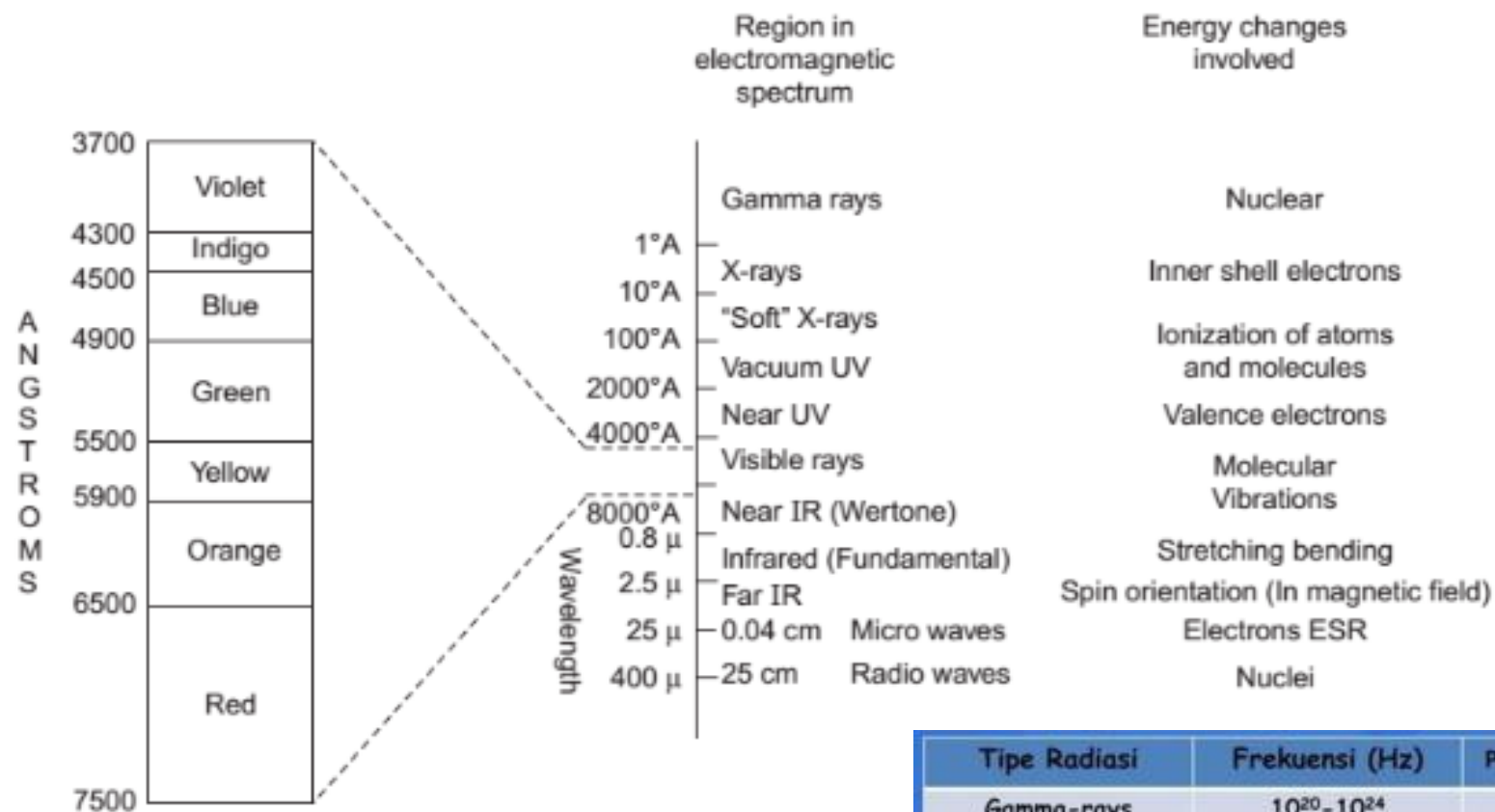
- Absorbans proporsional terhadap konsentrasi spesi absorbans (Hk Beer)

Aplikasi

- Setiap molekul yang dapat menyerap radiasi UV-Vis umumnya dalam keadaan fase cair

Inovasi

- Kecepatan, sensitivitas, *ruggedness*, *portability*



Tipe Radiasi	Frekuensi (Hz)	Panjang Gelombang
Gamma-rays	$10^{20} - 10^{24}$	< 1 pm
X-rays	$10^{17} - 10^{20}$	1 nm - 1 pm
Ultraviolet	$10^{15} - 10^{17}$	400 nm - 1 nm
Visible	$4 - 7.5 \times 10^{14}$	750 nm - 400 nm
Near-infrared	$1 \times 10^{14} - 4 \times 10^{14}$	2.5 μ m - 750 nm
Infrared	$10^{13} - 10^{14}$	25 μ m - 2.5 μ m
Microwaves	$3 \times 10^{11} - 10^{13}$	1 mm - 25 μ m
Radio waves	< 3×10^{11}	> 1 mm

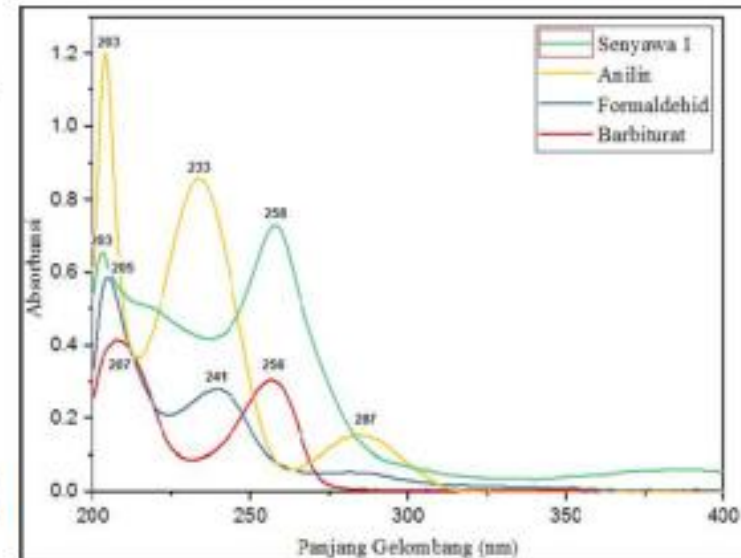
Hubungan antara warna dgn pjng gel sinar tampak

Panjang Gelombang	Warna yg diserap	Warna yg diamti
400 – 435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau Kekuningan
450 – 480 nm	Biru	Kuning
480 – 490 nm	Biru Kehijauan	Orange
490 – 500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560 nm	Hijau	Merah anggur
560 – 580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580 – 595 nm	Kuning	Biru
595 – 610 nm	Oranye	Biru kekuningan
610 – 750 nm	Merah	Hijau kebiruan

Absorpsi UV-Vis

Spesi Pengabsorbsi

- Berhubungan dengan transisi elektronik
- Akibat banyaknya keadaan vibrasi dan rotasi yang terjadi akibat penyerapan radiasi → spektra akan berbentuk **pita**
- Senyawa organik yang mengandung gugus **kromofor** dapat menyerap radiasi UV-Vis yang diberikan



Kromofor → merupakan gugus fungsional yang dapat menyerap radiasi UV-Vis, biasanya berupa sistem **ikatan rangkap terkonjugasi**.

Untuk tujuan kuantitatif jika senyawa organik tersebut tak menyerap di daerah UV-Vis maka dapat mereaksikannya dengan pereaksi kromoforik/kromogenik yang akan menghasilkan produk yang dapat menyerap radiasi UV-Vis

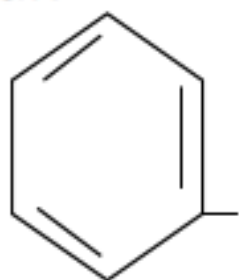
Absorpsi UV-Vis

Auksokrom

Gugus/substituen yang meningkatkan intensitas absorpsi dan menggeser λ serapan seperti:

-CH₃, -OH, -OR, -X (halogen), -NH₂, dll

Senyawa aromatik



	λ_{max1}	λ_{max2}
H	203,5 nm	254,5nm
— CH ₃	206,5 nm	261 nm
— Cl	209,5 nm	190 nm
— Br	210 nm	192 nm

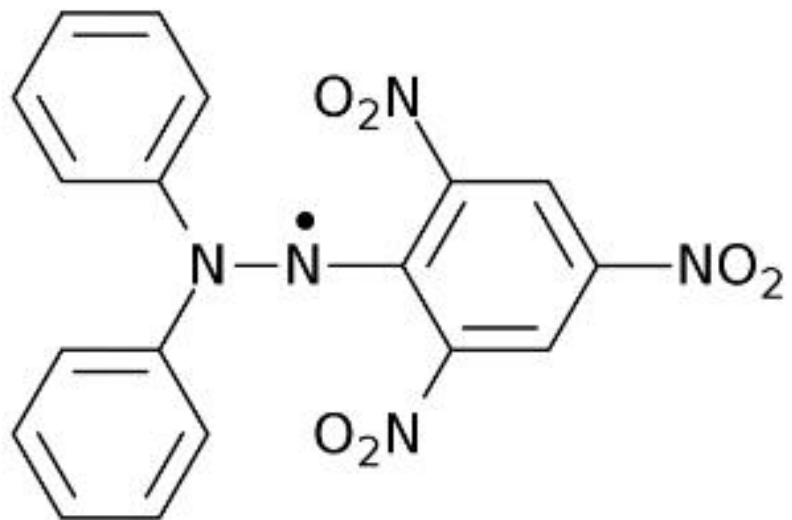
- Zat :
- Tidak harus berwarna
 - Serapan $\sim$ transisi e⁻ $\sim$ distribusi e⁻
 - Pelarut ?

Absorpsi UV-Vis

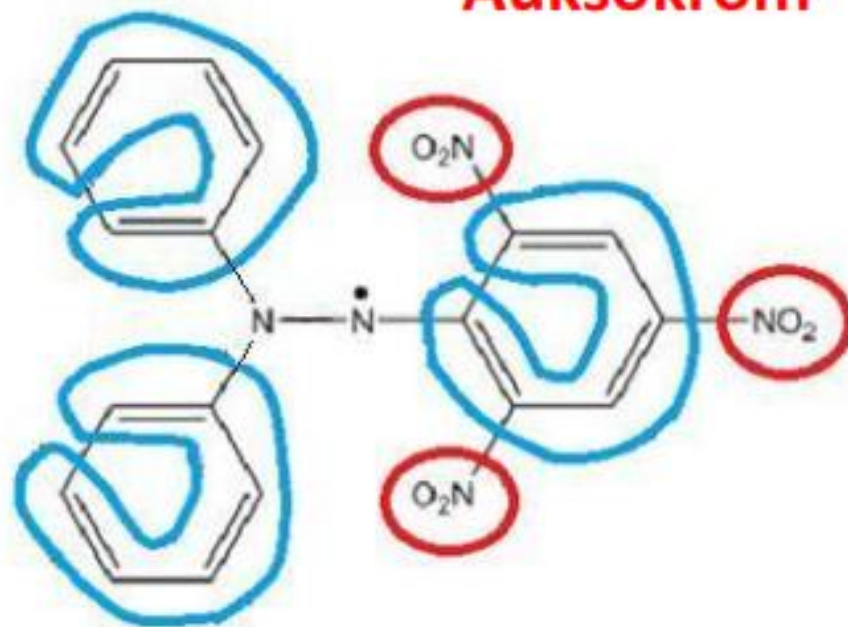
TABLE 26-1

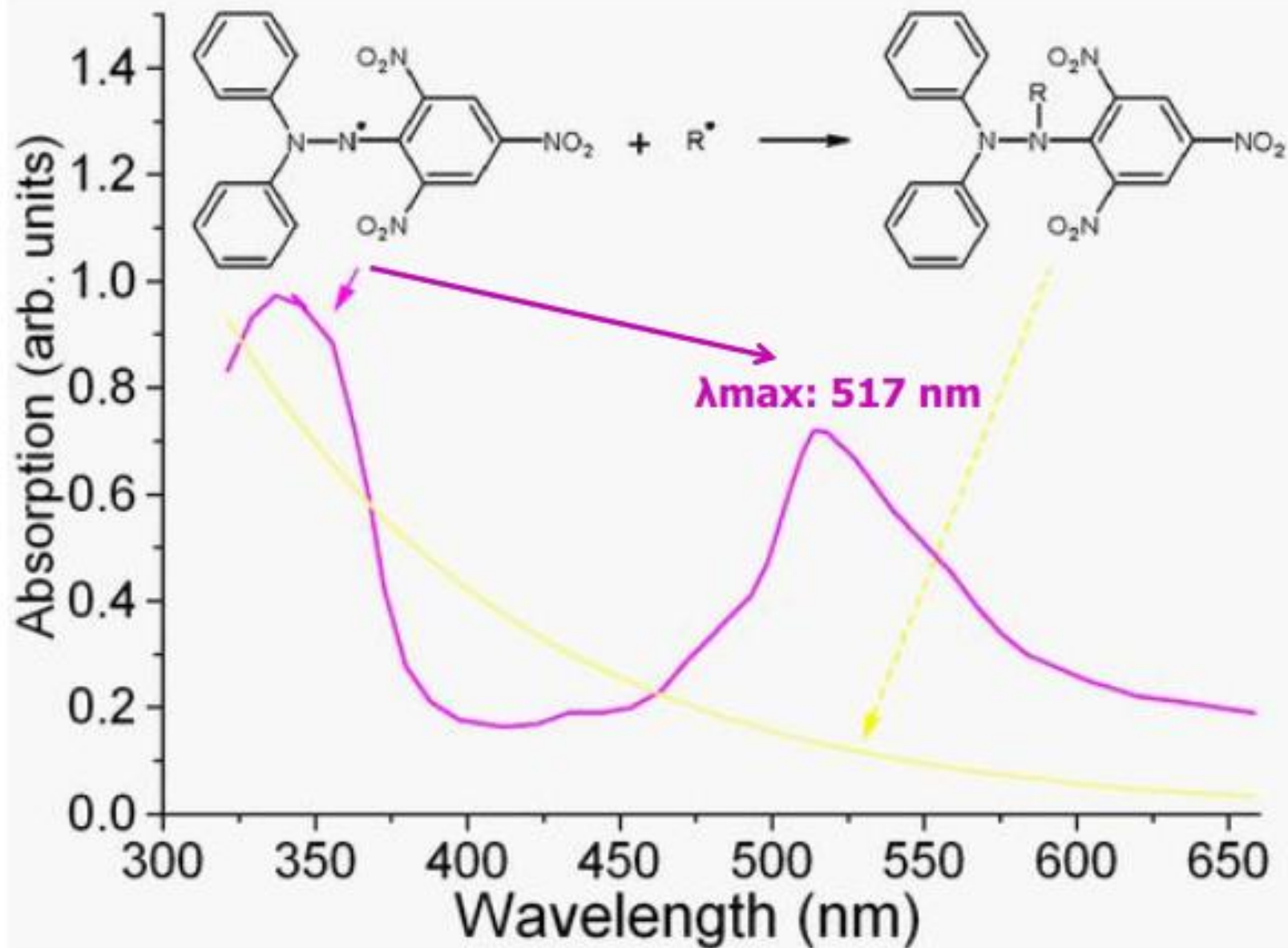
Absorption Characteristics of Some Common Organic Chromophores

Chromophore	Example	Solvent	$\lambda_{\max}$, nm	$\epsilon_{\max}$
Alkene	$C_6H_{13}CH=CH_2$	<i>n</i> -Heptane	177	13,000
Conjugated alkene	$CH_2=CHCH=CH_2$	<i>n</i> -Heptane	217	21,000
Alkyne	$C_5H_{11}C\equiv C-CH_3$	<i>n</i> -Heptane	178	10,000
			196	2,000
			225	160
Carbonyl	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3CCH_3 \end{array}$	<i>n</i> -Hexane	186	1,000
			280	16
	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3CH \end{array}$	<i>n</i> -Hexane	180	Large
			293	12
Carboxyl	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3COH \end{array}$	Ethanol	204	41
Amido	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3CNH_2 \end{array}$	Water	214	60
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Ethanol	339	5
Nitro	CH_3NO_2	Isooctane	280	22
Nitroso	C_4H_9NO	Ethyl ether	300	100
			665	20
Nitrate	$C_2H_5ONO_2$	Dioxane	270	12
Aromatic	Benzene	<i>n</i> -Hexane	204	7,900
			256	200

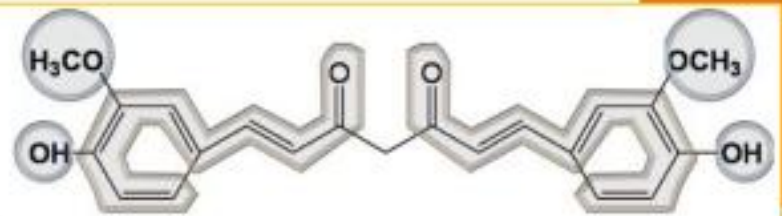


DPPH
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl





Curcumin

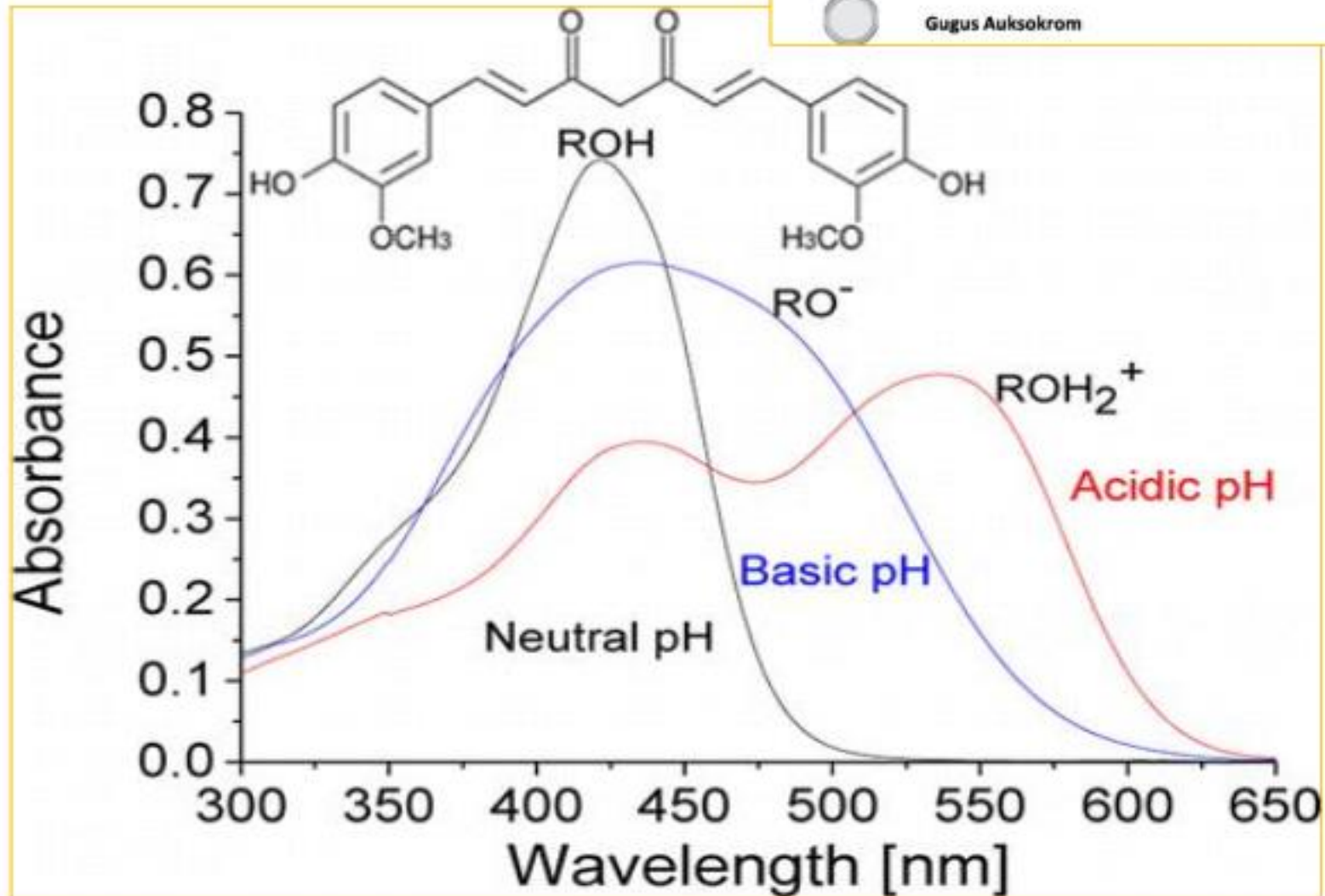


Keterangan :



Gugus Kromofor

Gugus Auksokrom



PRINSIP KERJA UV-VIS

- Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah interaksi yang terjadi antara energi yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi yang berupa molekul. Besar energi yang diserap tertentu dan menyebabkan elektron tereksitasi dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi yang memiliki energi lebih tinggi. Serapan tidak terjadi seketika pada daerah ultraviolet-visible untuk semua struktur elektronik, tetapi hanya pada sistem-sistem terkonjugasi, struktur elektronik dengan adanya ikatan π dan non bonding elektron .
- Dari 4 jenis spektrofotometri (UV, Vis, UV-Vis dan Ir) memiliki prinsip kerja yang sama yaitu "**adanya interaksi antara materi dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu**". Perbedaannya terletak pada panjang gelombang yang digunakan.

PRINSIP

Prinsip kerja spektrofotometer berdasarkan hukum Lambert Beer. Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan linier antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan. Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan, yaitu :

- ✓ Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- ✓ Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang yang sama
- ✓ Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- ✓ Tidak terjadi fluorensensi atau fosforisensi
- ✓ Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sbb :

$$A = e.b.c$$

dimana :

A = absorban

e = absorptivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Struktur Kimia dan Absorpsi Visible

Larutan yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer visible → senyawa yang berwarna

Contoh : KMnO_4

Apabila senyawa tersebut tidak berwarna, maka perlu ditambahkan pengompleks yang dapat membentuk warna

Contoh : analisis logam Pb

Struktur kimia dan absorpsi UV

Larutan yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV → senyawa yang mempunyai gugus kromofor

Gugus kromofor : gugus molekul yang mengandung sistem elektronik yang dapat menyerap energi pada daerah UV

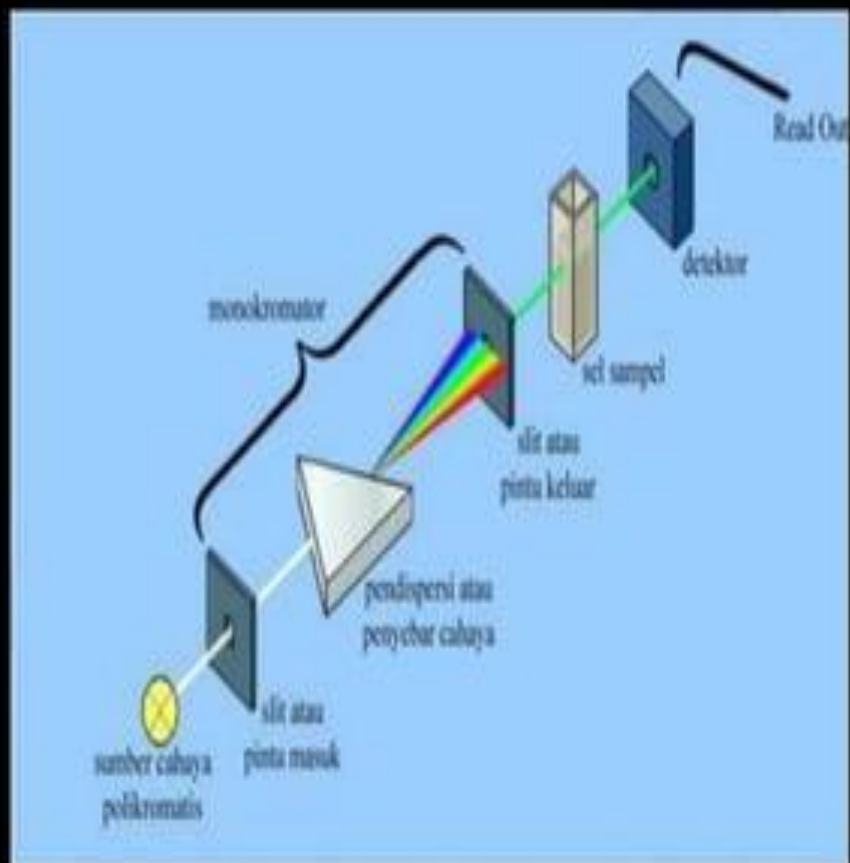


So...

Zat yang dapat dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis yaitu zat dalam bentuk larutan dan zat yang tampak berwarna maupun berwarna dan memiliki gugus kromofor.

CARA KERJA UV-VIS

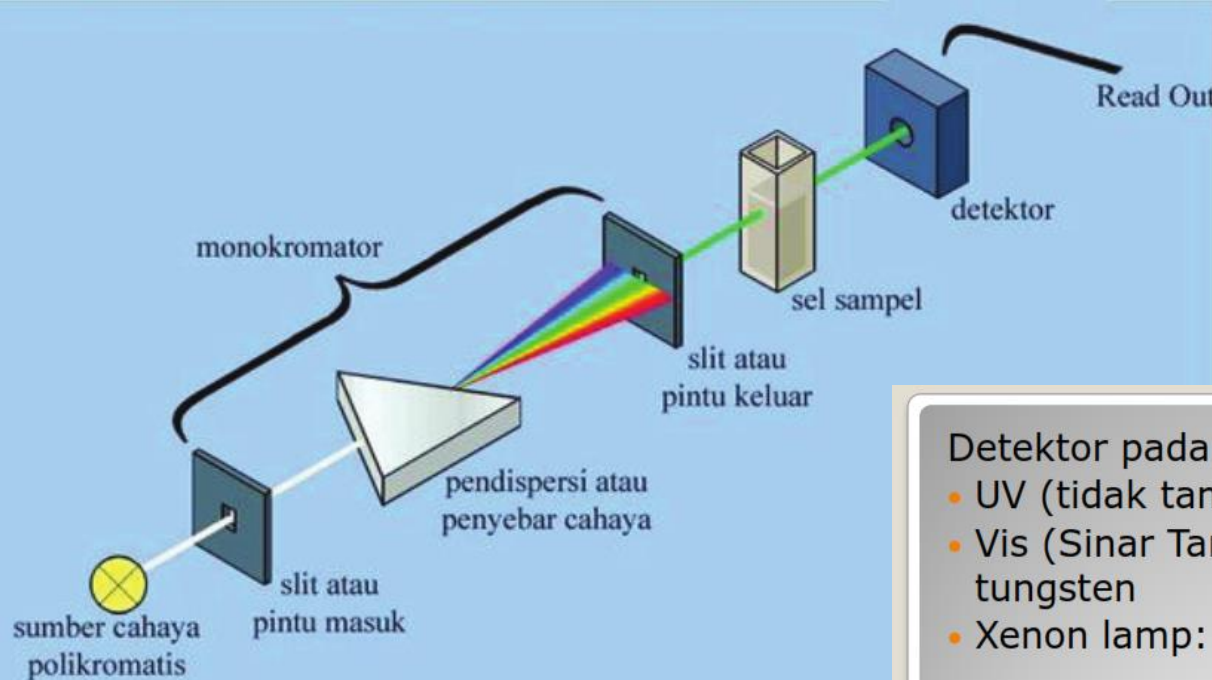
Cara kerja alat spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber radiasi diteruskan menuju monokromator. Cahaya dari monokromator diarahkan terpisah melalui sampel dengan sebuah cermin berotasi. Detektor menerima cahaya dari sampel secara bergantian secara berulang-ulang. Sinyal listrik dari detektor diproses, diubah ke digital dan dilihat hasilnya, selanjutnya perhitungan dilakukan dengan komputer yang sudah terprogram.



Prinsip Spektrofotometri

Larutan sampel dikenai radiasi elektromagnetik, sehingga menyerap energi / radiasi → terjadi interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi (atom/molekul)

Jumlah intensitas radiasi yang diserap oleh larutan sampel dikonversi dengan konsentrasi analit → data kuantitatif



Detektor pada spektrofotometri berupa :

- UV (tidak tampak) : Deutrium
- Vis (Sinar Tampak) : halogen dan tungsten
- Xenon lamp: 190 – 1100 nm

Instrumen Spektrofotometer UV-Vis



Sumber sinar

- Lampu deuterium atau hidrogen-daerah UV
- Filamen tungsten – daerah sinar tampak hingga inframerah dekat
- Lampu busur xenon



Wadah sampel / Kuvet

- Material – kuarsa/ *fused silica* untuk UV dan kaca silikat untuk sinar tampak
- Bentuk – permukaan yang flat , silindris
- Ukuran – umumnya 1 cm

FUNGSI MASING-MASING BAGIAN

- **Sumber sinar polikromatis** berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
- **Monokromator** berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis.
- **Sel sampel** berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel.
- **Detektor** berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
- **Read out** merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

- Semua molekul mempunyai energi(translasi (E bergerak), vibrasi, elektronik dan rotasi).
- Molekul bergerak dr tingkat energi yg lebih rendah, maka beberapa energi dilepaskan.
- Energi hilang : radiasi (prosesnya emisis radiasi).
- Sinar UV dan Vis meberikan energi yg cukup u/ tjdnnya transisi elektronik, dikatakan spektra elektronik.

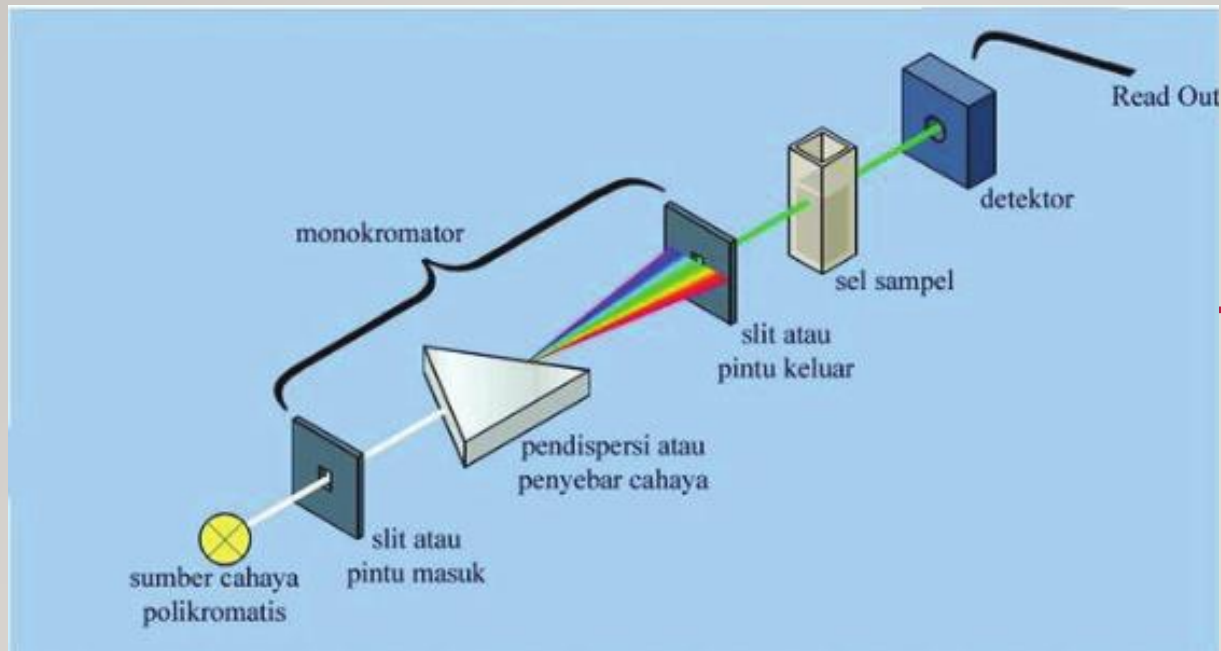
Spektrofotometri dibagi menjadi 2 macam:

1. Singel Beam

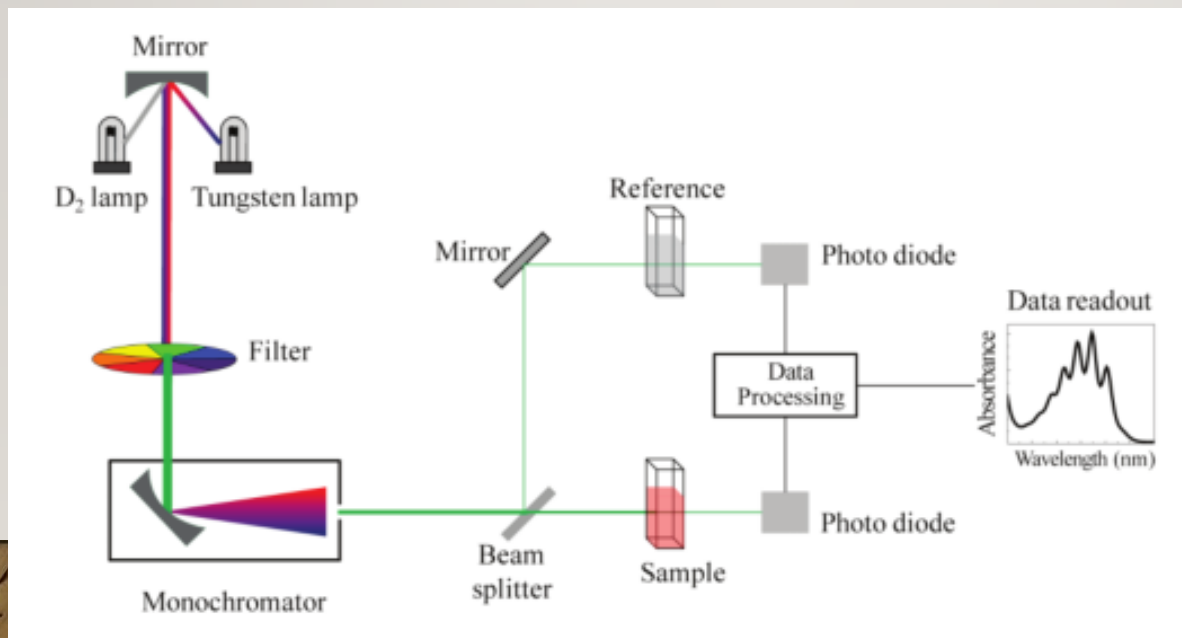
cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan.

2. Doubel Beam

nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama. Prinsipnya adalah dengan adanya chopper yang akan membagi sinar menjadi dua, di mana salah satu melewati blanko (disebut juga *reference beam*) dan yang lainnya melewati larutan (disebut juga *sample beam*)



SINGLE BEAM



DOUBLE BEAM

SINGLE BEAM INSTRUMENTS

Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm

DOUBLE BEAM INSTRUMENTS

Double-beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. Double-beam instrument dimana mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel, mencocokkan fotodetektor yang keluar menjelaskan perbandingan yang ditetapkan secara elektronik dan ditunjukkan oleh alat pembaca

SINGLE BEAM **VERSUS** DOUBLE BEAM

Perbedaan kedua jenis spektrofotometer tersebut hanya pada pemberian cahaya, dimana pada single-beam, cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukan.

Berbeda dengan single-beam, pada spektrofotometer double-beam, nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama.

Dari kedua jenis spektrofotometer tersebut, spektrofotometer double-beam memiliki keunggulan lebih dibanding single-beam, karena nilai absorbansi larutannya telah mengalami pengurangan terhadap nilai absorbansi blanko. Selain itu, pada single-beam, ditemukan juga beberapa kelemahan seperti perubahan intensitas cahaya akibat fluktuasi voltase.

UV-VIS DI LABORATORIUM



SINGLE BEAM



DOUBLE BEAM

UV-VIS SINGLE BIM

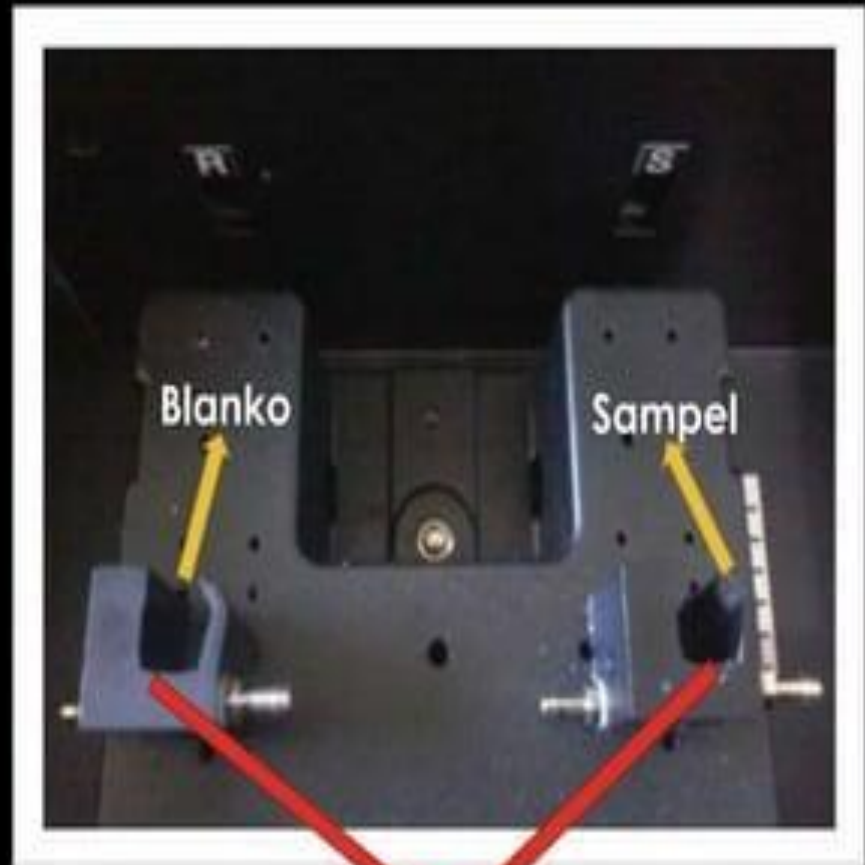


Kuvet



Kompartemen
1 sampel

UV-VIS DOUBLE BEAM



Kompartemen

- Kompartemen ini digunakan sebagai tempat diletakkannya kuvet. kuvet merupakan wadah yang digunakan untuk menaruh sampel yang akan dianalisis. Pada spektrofotometer double beam, terdapat dua tempat kuvet. Satu kuvet digunakan sebagai tempat untuk menaruh sampel, sementara kuvet lain digunakan untuk menaruh blanko. Sementara pada spektrofotometer single beam, hanya terdapat satu kuvet.
- Kuvet yang baik harus memenuhi beberapa syarat sebagai berikut :
 - a. Permukaannya harus sejajar secara optis
 - b. Tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat di transmisikan
 - c. Tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia
 - d. Tidak rapuh
 - e. Bentuknya sederhana

LARUTAN BLANKO

- Larutan blanko adalah larutan tidak berisi analit. Larutan blanko biasanya digunakan untuk tujuan kalibrasi sebagai larutan pembanding dalam analisis fotometri. Larutan blanko dapat dibagi menjadi 3 jenis yaitu :
 - ± Kalibrasi blanko (larutan yang digunakan untuk membuat titik nol konsentrasi dari grafik kalibrasi; larutan ini hanya berisi pengencer digunakan untuk membuat larutan standar)
 - ± Reagen blanko (larutan berisi reagen yang digunakan untuk melarutkan sampel, pembacaan absorbansi untuk larutan ini biasanya dikurangi dari pembacaan sampel)
 - ± Metode blanko (larutan yang diperlakukan sama dengan sampel, ditambah dengan reagen yang sama, mengalami kontak dengan alat yang sama dan diperlakukan dengan prosedur yang sama)

MACAM-MACAM KUVET

No.	Penggolongan	Macam	Keterangan
1	Berdasarkan pemakaiannya	Kuvet permanen	dibuat dari bahan gelas atau leburan silika
		Kuvet disposable	dibuat dari teflon atau plastik
		Kuvet dari silika	dipakai untuk analisis kuantitatif dan kualitatif pada daerah pengukuran 190-1100 nm
2	Berdasarkan bahannya	Kuvet dari gelas	dipakai untuk analisis kuantitatif dan kualitatif pada daerah pengukuran 380-1100 nm karena bahan dari gelas dapat mengabsorpsi radiasi UV
3	Berdasarkan penggunaannya	Kuvet bermulut sempit	untuk mengukur kadar zat dalam pelarut yang mudah menguap
		Kuvet bermulut lebar	untuk mengukur kadar zat dalam pelarut yang tidak mudah menguap

THE BUTTONS IN SINGLE BIM UV-VIS



Home key



Calibration Key



Direct Key



Printer Key

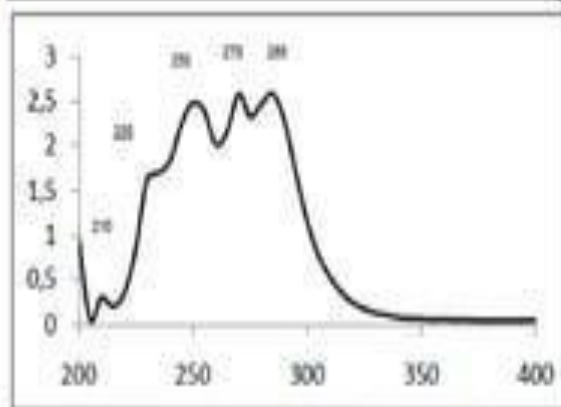


Screen display



Wave Key

TAMPILAN PANJANG GELOMBANG



Gambar 3. Spektrum UV isolat B5 (metanol)

HAL-HAL YANG PERLU DIPERHATIKAN SAAT ANALISIS SAMPEL

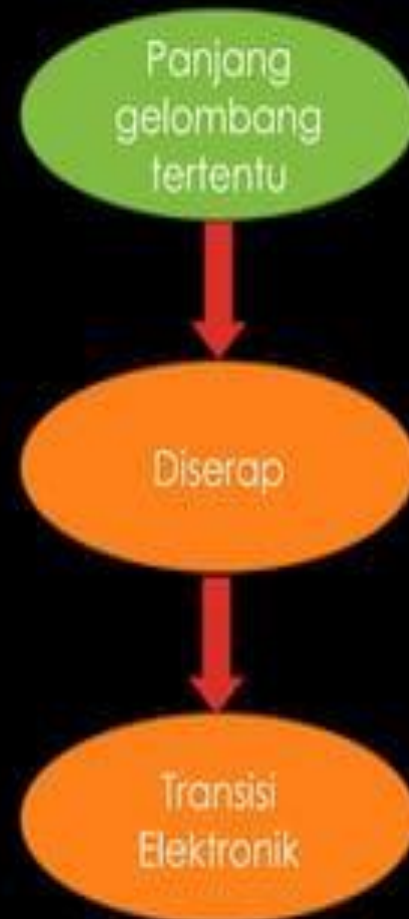
- Larutan yang dianalisis merupakan larutan berwarna
- Apabila larutan yang akan dianalisis merupakan larutan yang tidak berwarna, maka larutan tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi larutan yang berwarna. Kecuali apabila diukur dengan menggunakan lampu UV.
- Panjang gelombang maksimum
- Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Hal ini dikarenakan pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang tersebut, perubahan absorbansi untuk tiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Selain itu disekitar panjang gelombang maksimal, akan terbentuk kurva absorbansi yang datar sehingga hukum Lambert-Beer dapat terpenuhi. Dan apabila dilakukan pengukuran ulang, tingkat kesalahannya akan kecil sekali.
- Kalibrasi Panjang gelombang dan Absorban
- Spektrofotometer digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan dan cahaya yang diabsorpsi. Hal ini bergantung pada spektrum elektromagnetik yang diabsorb oleh benda. Tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa yang terbentuk. Oleh karena itu perlu dilakukan kalibrasi panjang gelombang dan absorban pada spektrofotometer agar pengukuran yang di dapatkan lebih teliti.

PROSES ABSORPSI CAHAYA PADA SPEKTROFOTOMETRI

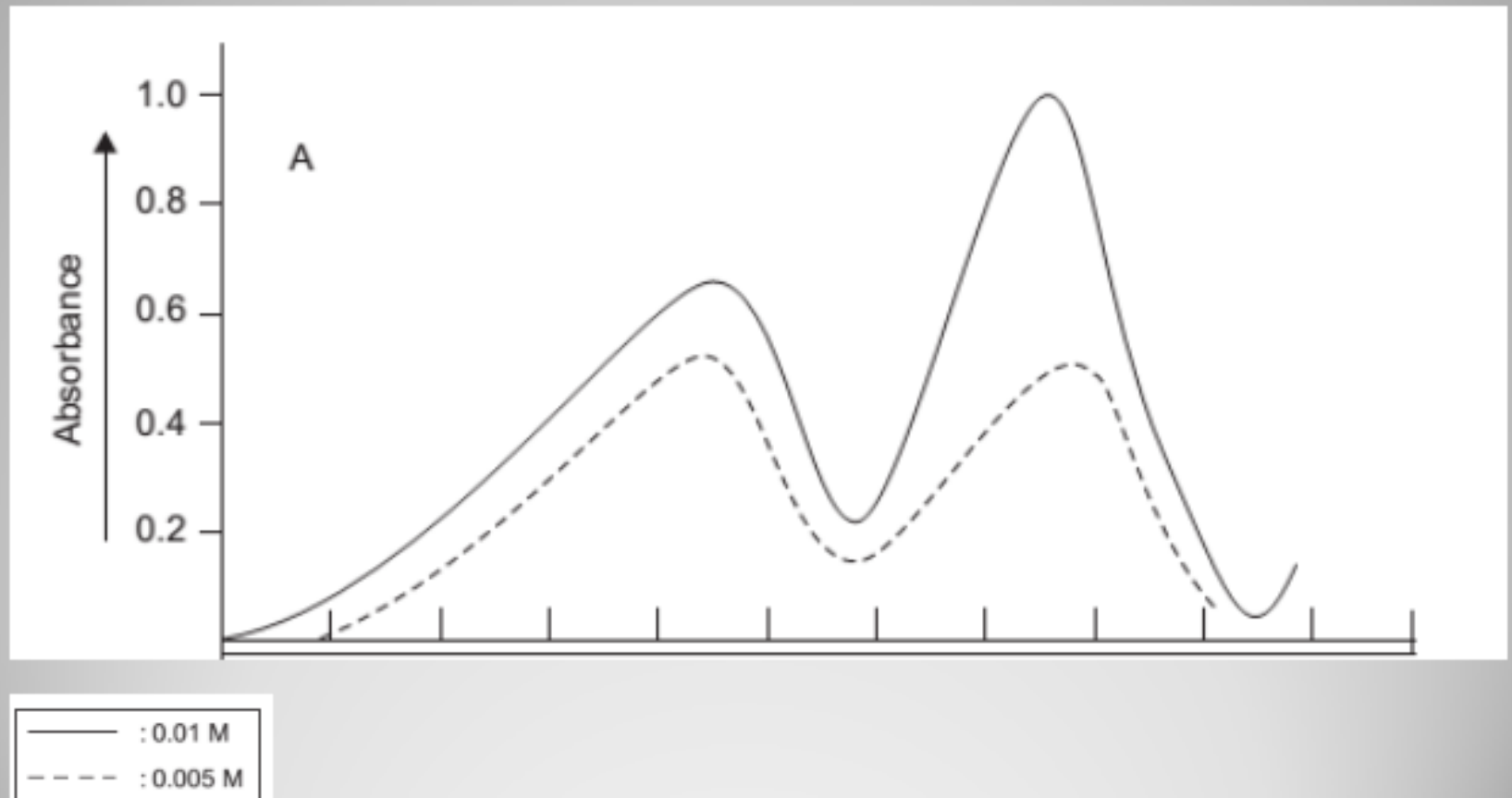


Ketika cahaya dengan panjang berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu zat, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Di dalam suatu molekul yang memegang peranan penting adalah elektron valensi dari setiap atom yang ada hingga terbentuk suatu materi. Elektron-elektron yang dimiliki oleh suatu molekul dapat berpindah (eksitasi), berputar (rotasi) dan bergetar (vibrasi) jika dikenai suatu energi.

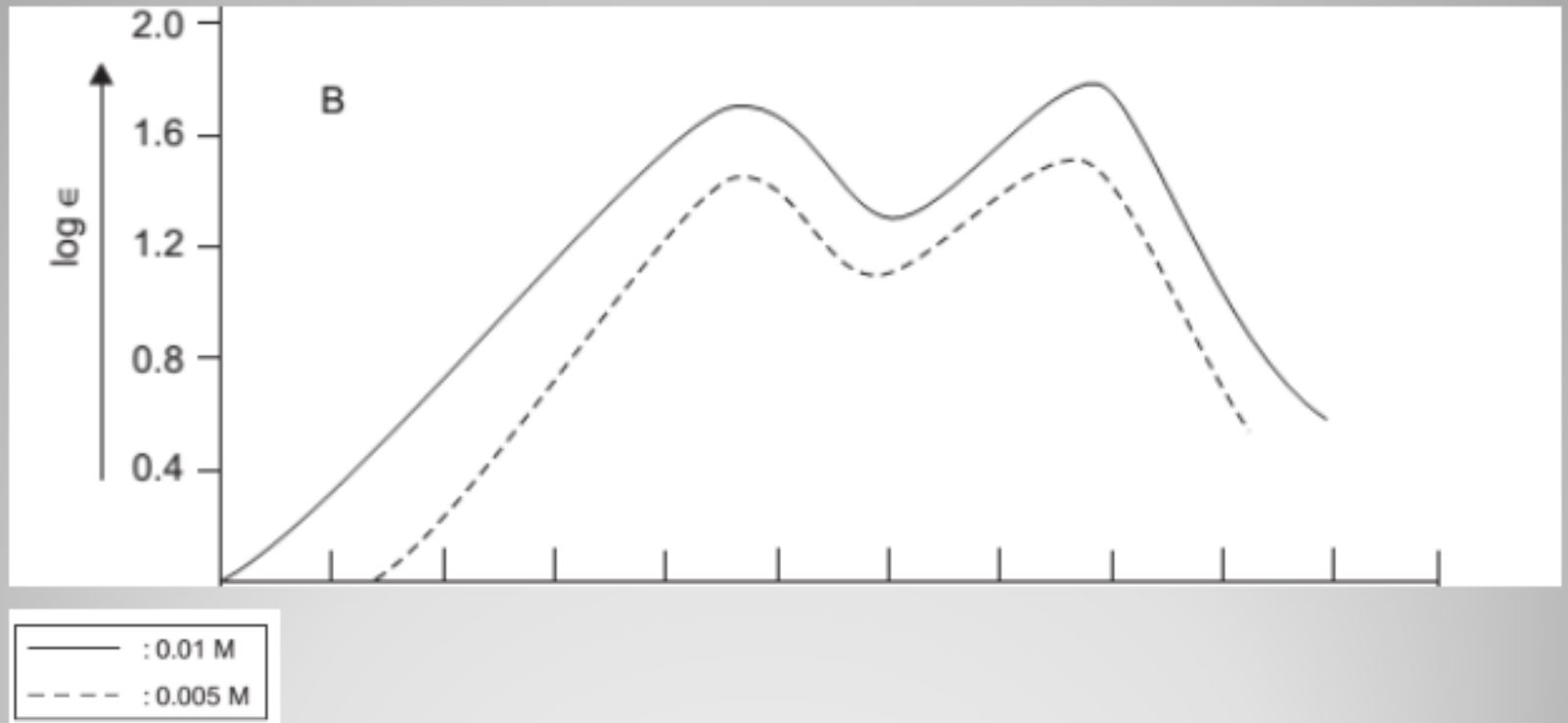
- Jika zat menyerap cahaya tampak dan UV maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut **transisi elektronik**. Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul dapat hanya akan bergetar (vibrasi). Sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi misalnya pada gelombang radio.



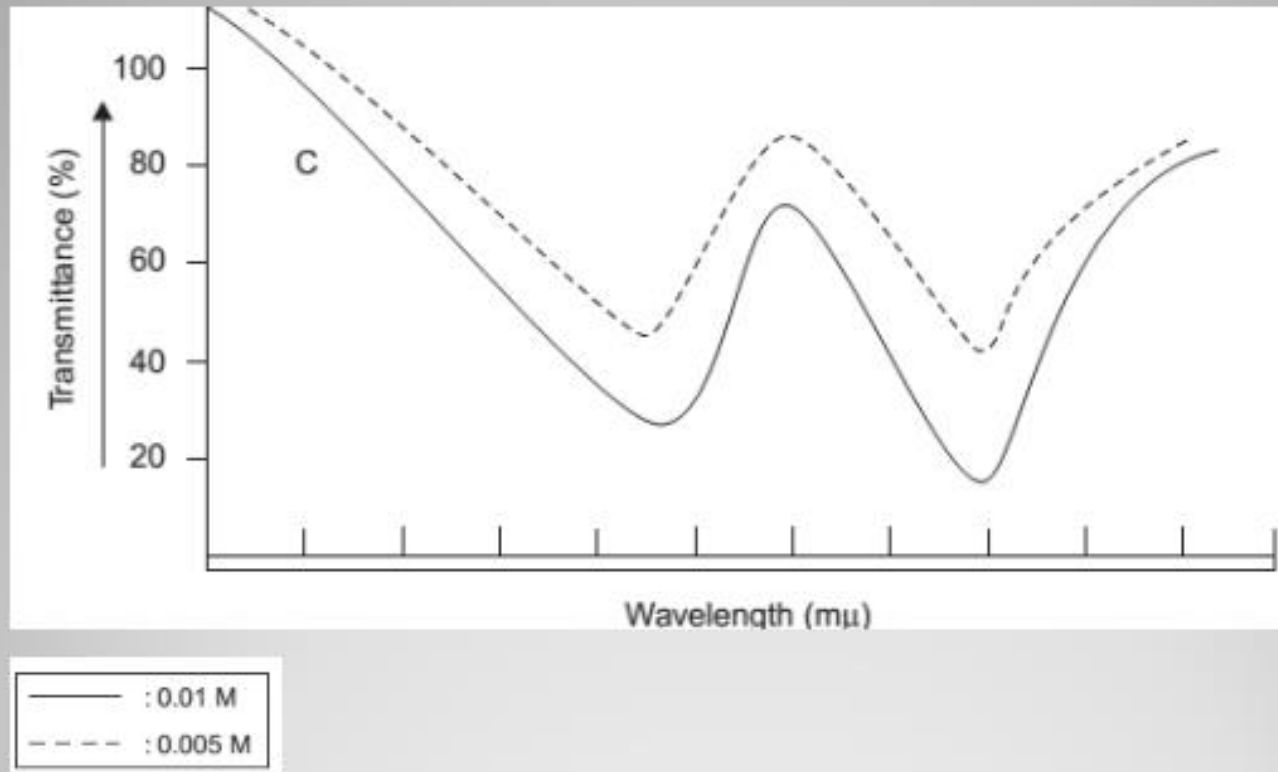
- Hasil spektrofotometri berupa :
A. Panjang gelombang Vs Absorbansi



- Panjang gelombang Vs Molaritas



- Panjang Gelombang Vs Transmittan



- Senyawa bisa dibaca dikarenakan mempunyai gugus kromofor dan ausokrom.
- Gugus kromofor: semua gugus atau atom dlm senyawa organik yg mampu menyerap sinar UV dan Vis.
- Gugus ausokrom: gugus fungsional yg mempunyai elektron bebas.contoh: hidroksi, metoksi dan amina
- Gugus ausokrom berikatan dengan gugus kromofor membuat panjang gelombang semakin besar

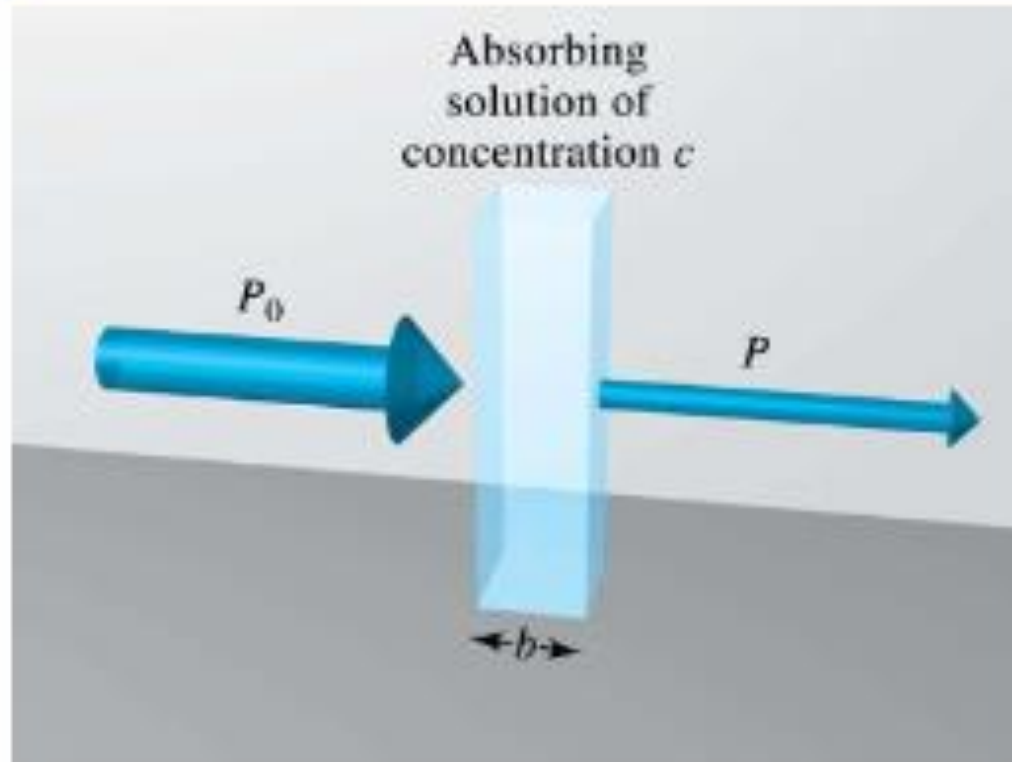
Table 21.1 : Absorption Bands for Representative Chromophores with Examples :

S.No.	Chromophore	System	λ_{max}	ϵ_{max}	λ_{max}	Examples
1.	Acetylide	$-\text{C} \equiv \text{C}-$	175-180	6000	—	Acetylene
2.	Azo	$-\text{N} = \text{N}-$	285-400	3-25	—	Azomethane
3.	Aldehyde	$-\text{CHO}$	210	strong	280-300	Acetaldehyde
4.	Carboxyl	$-\text{COOH}$	200-210	50-70	—	Acetic acid
5.	Nitrile	$-\text{C} \equiv \text{N}$	160	—	—	Acetonitrile
6.	Nitro	$-\text{NO}_2$	210	strong	—	Nitromethane
7.	Thioketone	$\text{C} = \text{S}$	205	strong	—	Thiobenzophenone
8.	Esters	$-\text{COOR}$	205	50	—	Ethyl acetate
9.	Ether	$-\text{O}-$	185	1000	—	Diethyl ether
10.	Amine	$-\text{NH}_2$	195	2800	—	Methyl amine
11.	Thiol	$-\text{SH}$	195	1400	—	Thiophenol
12.	Iodide	$-\text{I}$	260	400	—	Methyl iodide
13.	Bromide	$-\text{Br}$	208	300	—	Ethyl bromide
14.	Sulphone	$-\text{SO}_2-$	180	—	—	Dapsone
15.	Nitroso	$-\text{N} = \text{O}$	302	100	—	<i>p</i> -Nitroso phenol

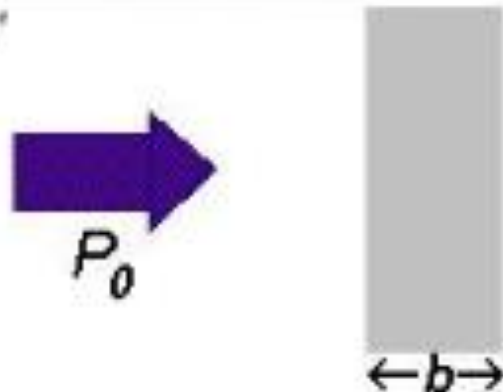
- Spektro UV-Vis digunakan untuk kuantitatif, untuk kualitatif digabung dengan detektor IR (Infra Red), MS (Massa Selective)
- Untuk kuantitatif : intensitas sinar (absorbansi) dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap.
Persamaan u/ intensitas sinar dengan menggunakan persamaan hukum Lambert-Beer

PRISNSIP PENGUKURAN DAN TEORI YANG DIGUNAKAN

Pengukuran Transmittans dan Absorbans



© 2004 Thermo



$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P}$$

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

P: radiant power

P_0 : radiasi sumber

P: radiasi yang menembus sampel

b: jarak sampel yang dilewati radiasi

A: Absorban

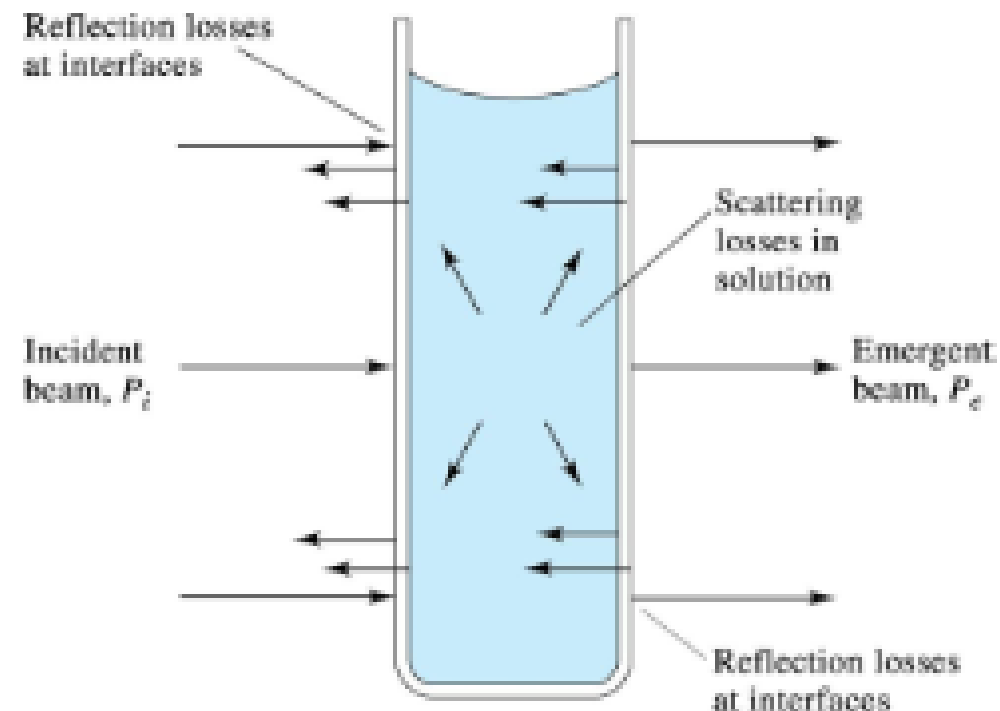
T: Transmittan, rasio P/P_0

Pengukuran Transmittans dan Absorbans

Efek lainnya yang dapat mereduksi intensitas sumber energi:

- Penghamburan cahaya
 - ☑ Pemantulan pada permukaan
 - ☑ Dihamburkan dalam larutan
 - ▶ molekul besar
 - ▶ gelembung udara
- Absorpsi energi oleh pelarut. Maka perlu normalisasi dengan membandingkannya terhadap sel referens (setting blanko).
 - ☑ Hanya mengandung pelarut
 - ▶ pengukuran transmittans dibandingkan dengan hasil dari sel referens

Maka sampel harus dalam kondisi larut sempurna.



Pengukuran Transmittans dan Absorbans

TABLE 13-1 Important Terms and Symbols for Measurement of Absorption

Term and Symbol*	Definition	Alternative Name and Symbol
Radiant power P, P_0	Energy of radiation (in ergs) impinging on a 1-cm ² area of a detector per second	Radiation intensity I, I_0
Absorbance A	$\log \frac{P_0}{P}$	Optical density D ; extinction E
Transmittance T	$\frac{P}{P_0}$	Transmission T
Path length of radiation† b	—	l, d
Absorptivity† a	$\frac{A}{bc}$	Extinction coefficient k
Molar absorptivity‡ ϵ	$\frac{A}{bc}$	Molar extinction coefficient

*Terminology recommended by the American Chemical Society (*Anal. Chem.*, 1990, 62, 91).

† c may be expressed in g/L or in other specified concentration units; b may be expressed in cm or in other units of length.

‡ c is expressed in mol/L; b is expressed in cm.

Hukum Lambert-Bouger

Lambert & Bouger menemukan bahwa intensitas energi tertransmisi menurun eksponensial jika **panjang lintasan (b)** yang dilewati energi radiasi tersebut meningkat

$$dP = -k P db$$

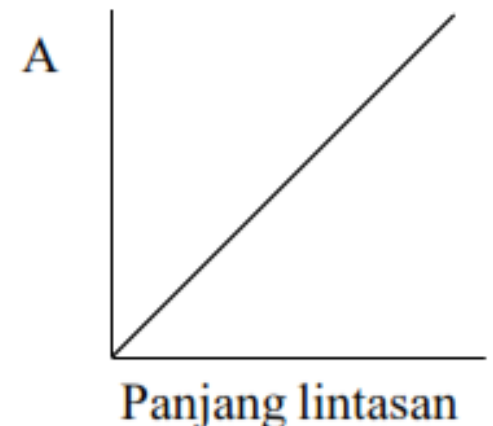
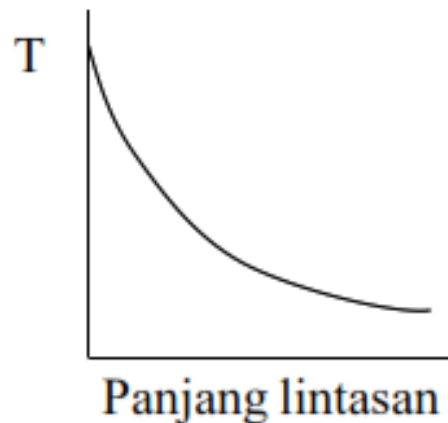
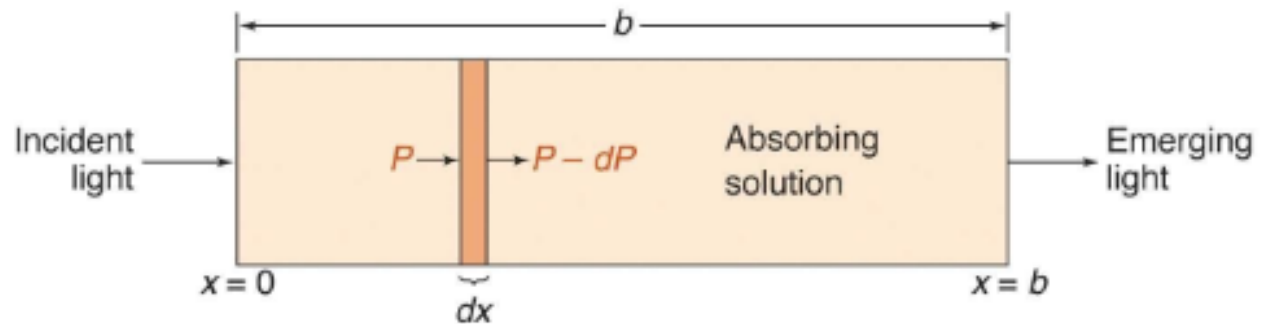
$$dP/P = -k db$$

$$\int dP/P = -k \int db$$

$$\ln P/P_0 = -k b$$

$$\log P/P_0 = -(k/2.303) b$$

$$A = -\log P/P_0 = (k/2.303) b$$



Efek panjang lintasan terhadap transmitans dan absorbans

Hukum Beer

Beer (1852) menemukan bahwa **konsentrasi (C)** merupakan fungsi timbal balik eksponensial dari transmitans dan absorbans (proporsional langsung dengan konsentrasi)

$$dP = -\alpha P dC$$

$$dP/P = -\alpha dC$$

$$\int dP/P = -\alpha \int dC$$

$$\ln P/P_0 = -\alpha C$$

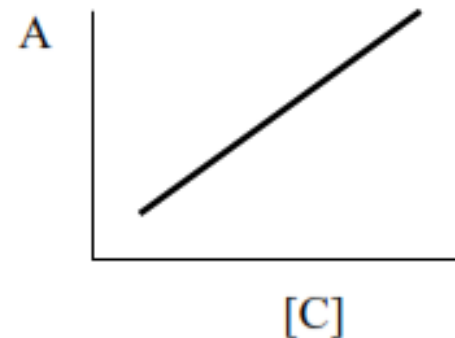
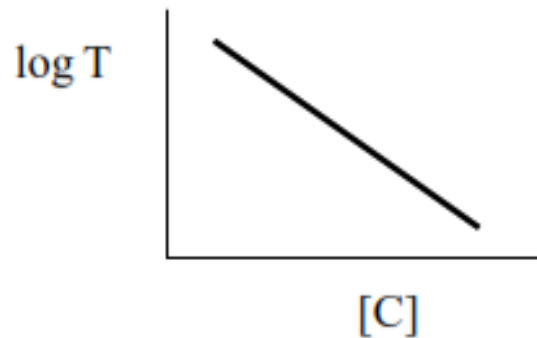
$$\log P/P_0 = -(\alpha/2.303) C$$

$$A = -\log P/P_0 = (\alpha/2.303) C$$

Hukum Beer

Hukum Beer

$$A = \epsilon bC \rightarrow \epsilon: \text{absorptivitas molar}$$



Efek konsentrasi analat pada nilai transmitans dan absorbansnya

Molar absorptivity: how strong a chemical species absorbs light at a particular wavelength

CONTOH SOAL

Sebotol sikloheksana tercemar oleh benzena. Pada 260 nm, benzena mempunyai absorbtivitas molar 230, dan absorbtivitas molar sikloheksana adalah nol. Spektrum sikloheksana ini menunjukkan suatu absorbans sebesar 0,030 ($b = 1,0$ cm). Berapakah konsentrasi benzena ?

Jawab:

$$\begin{aligned} c &= A/\varepsilon \cdot b \\ &= 0,030 / 230 \times 1,0 = 0,00013 \text{ M} \end{aligned}$$

Hukum Beer

EXAMPLE 10.4

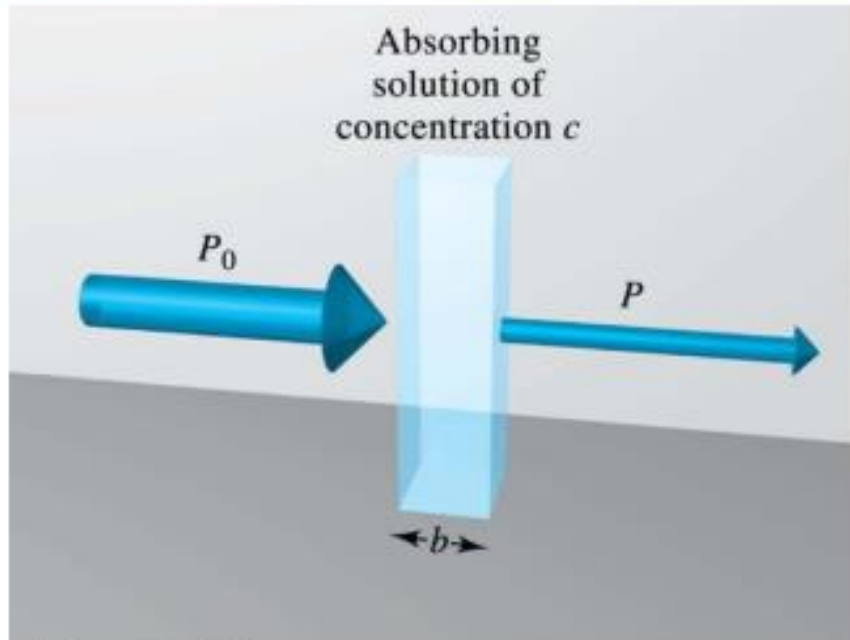
A 5.00×10^{-4} M solution of an analyte is placed in a sample cell that has a pathlength of 1.00 cm. When measured at a wavelength of 490 nm, the absorbance of the solution is found to be 0.338. What is the analyte's molar absorptivity at this wavelength?

SOLUTION

Solving equation 10.5 for ϵ and making appropriate substitutions gives

$$\epsilon = \frac{A}{bC} = \frac{0.338}{(1.00 \text{ cm})(5.00 \times 10^{-4} \text{ M})} = 676 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$$

Hukum Lambert-Beer



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Hukum Lambert-Beer:

“Jumlah radiasi cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi suatu zat dan tebal larutan.”

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

P: radiant power

Po : radiasi sumber

P: radiasi yang menembus sampel

b: jarak sampel yang dilewati radiasi

A: Absorban (tidak ada satuan)

T: Transmittan, rasio P/P_0

ϵ : absorptivitas molar (/cm.M)

C : konsentrasi (M)

$$-\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A$$

Hukum Lambert-Beer: $A = \varepsilon \underline{b} C$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor

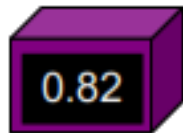
Sumber



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} C$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

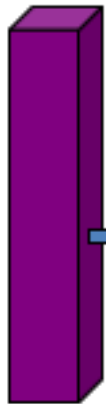
Pembaca
Transmitan



Sumber



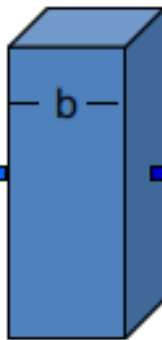
Detektor



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

Pembaca
Transmitan



Sumber

Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

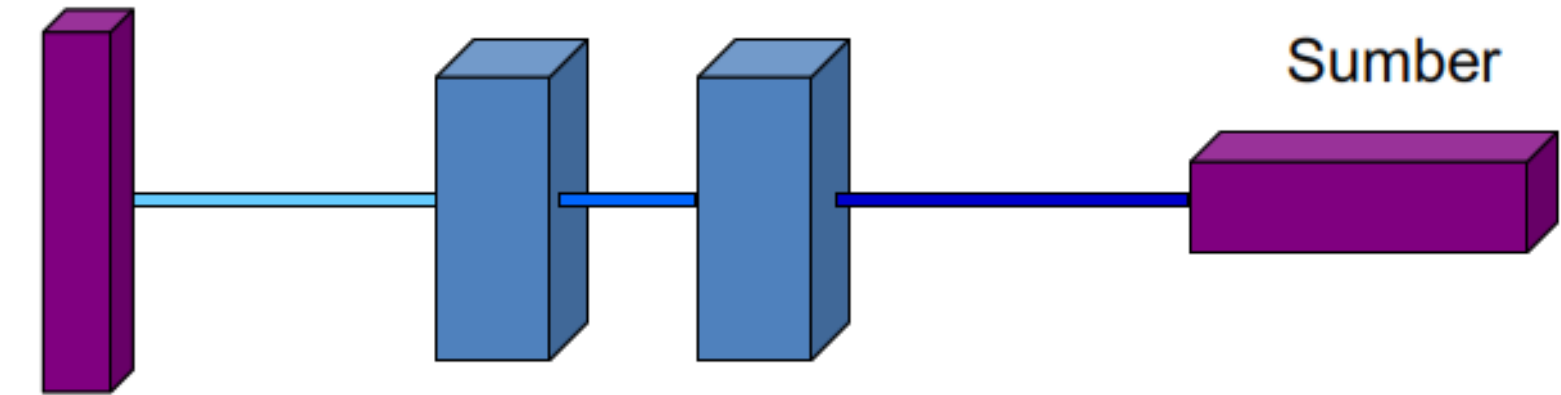
Pembaca
Transmitan

0.42

Sumber

Detektor

Sampel



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon \underline{b} c$

1. Pengaruh ketebalan/panjang lintasan sampel

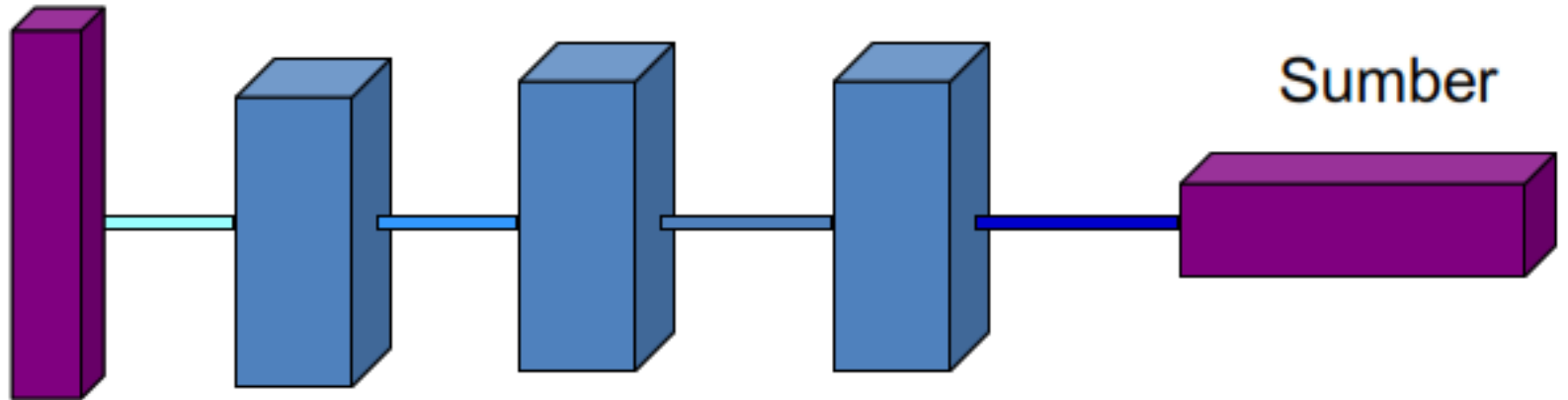
Pembaca
Transmitan

0.22

Sumber

Detektor

Sampel



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

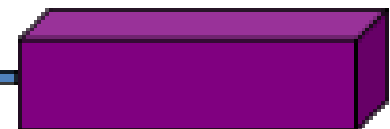
2. Pengaruh konsentrasi sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor

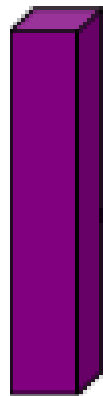
Sumber



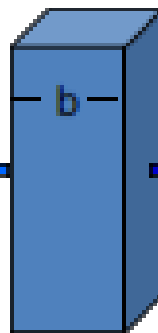
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

2. Pengaruh konsentrasi sampel

Pembaca
Transmitan

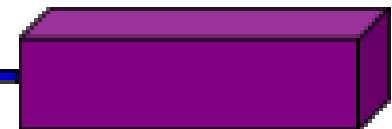


Detektor



Sampel A
konsentrasi X

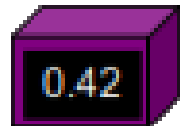
Sumber



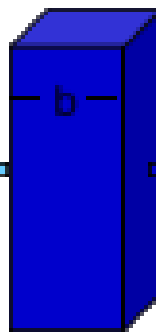
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

2. Pengaruh konsentrasi sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor



Sampel A
konsentrasi XX

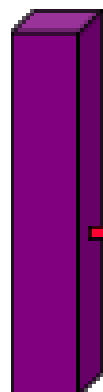
Sumber



Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan



Detektor

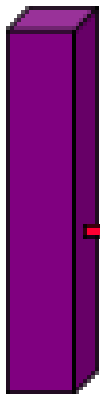
Sumber



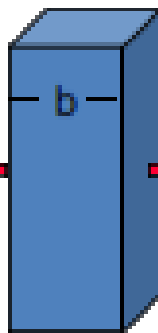
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan

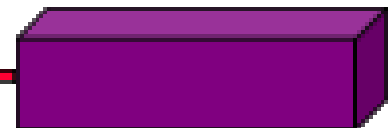


Detektor



Sampel A
Konsentrasi Y

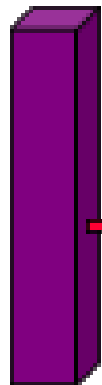
Sumber



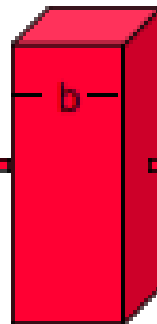
Hukum Lambert-Beer: $A = \epsilon b c$

3. Pengaruh absorptivitas molar sampel

Pembaca
Transmitan

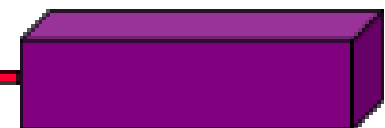


Detektor



Sampel B
Konsentrasi Y

Sumber

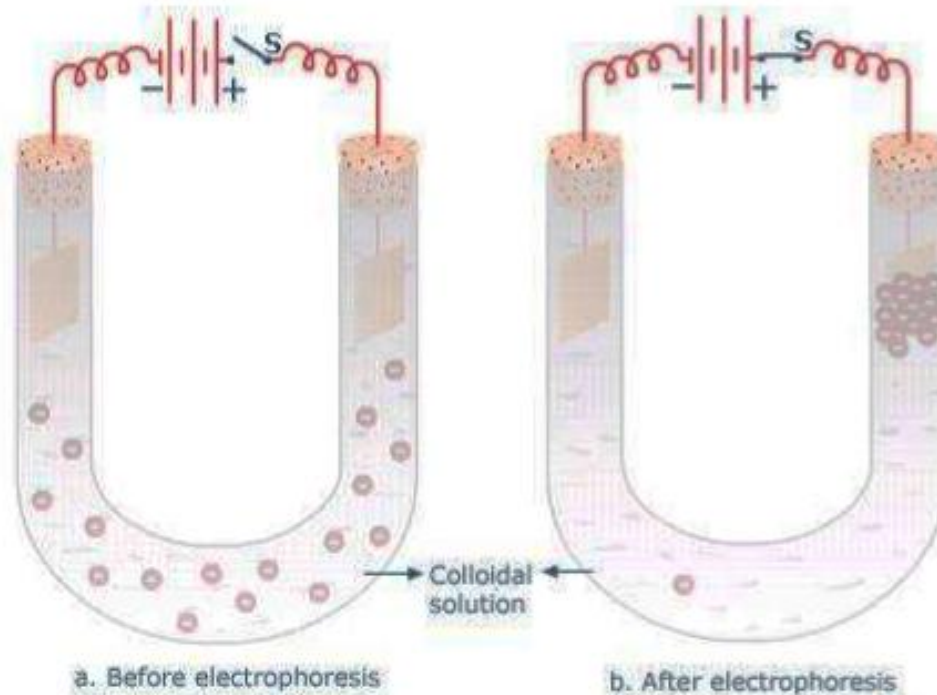


ELEKTROFORESIS



Pengertian

- Elektroforesis adalah teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik.



Elektroforesis merupakan salah satu teknik analisis DNA, RNA, protein, karbohidrat dan lain-lain yang berdasarkan pada Bobot Molekul menggunakan muatan listrik.

1. Elektroforesis Kertas

Elektroforesis kertas merupakan jenis elektroforesis yang terdiri dari kertas sebagai fase diam dan partikel bermuatan yang terlarut sebagai fase gerak, terutama ion-ion kompleks

2. Elektroforesis Gel

Elektroforesis gel merupakan elektroforesis yang menggunakan gel sebagai fase diam untuk memisahkan molekul-molekul.

Elektroforesis Gel dibagi menjadi 3:

1. Elektroforesis Gel Agarosa
2. Elektroforesis Gel Poliakrilamid
- 3. Elektroforesis Gel Poliakrilamid-SDS
(SDS-PAGE)**

Fungsi Elektroforesis

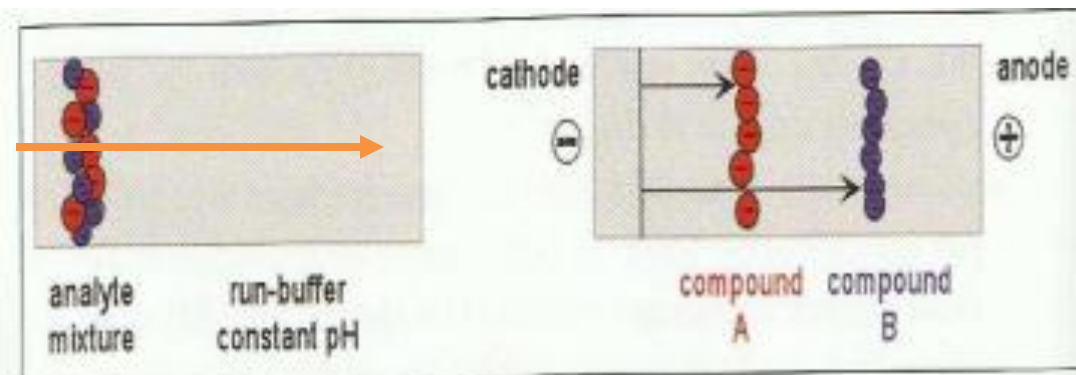
- Menyediakan informasi mengenai **ukuran, konfirmasi dan muatan** dari protein dan asam nukleat.
- Sebagai metode pemisahan yang dapat digunakan untuk **menentukan komponen** dari protein atau asam nukleat setiap individu.
- Pada bidang kepolisian teknik metode ini digunakan untuk **pemeriksaan DNA karakteristik khusus** misalnya sidik jari.
- Dalam bidang molekuler, elektroforesis merupakan salah satu cara untuk **memvisualisasikan keberadaan DNA**.

Prinsip

- Medan listrik dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan.
- Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada muatan terhadap massanya serta tergantung pula pada bentuk molekulnya. Pergerakan ini dapat dijelaskan dengan gaya Lorentz

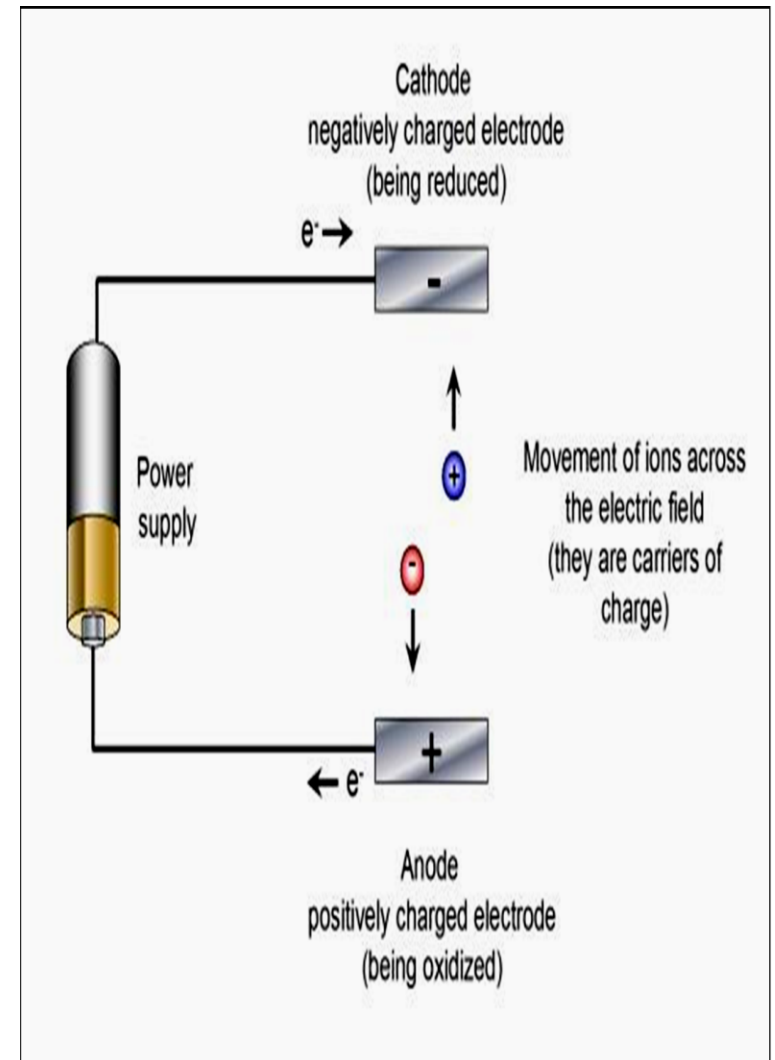
$$\bar{F}_e = q \bar{E}$$

F = gaya Lorentz,
q = muatan objek,
E = medan listrik



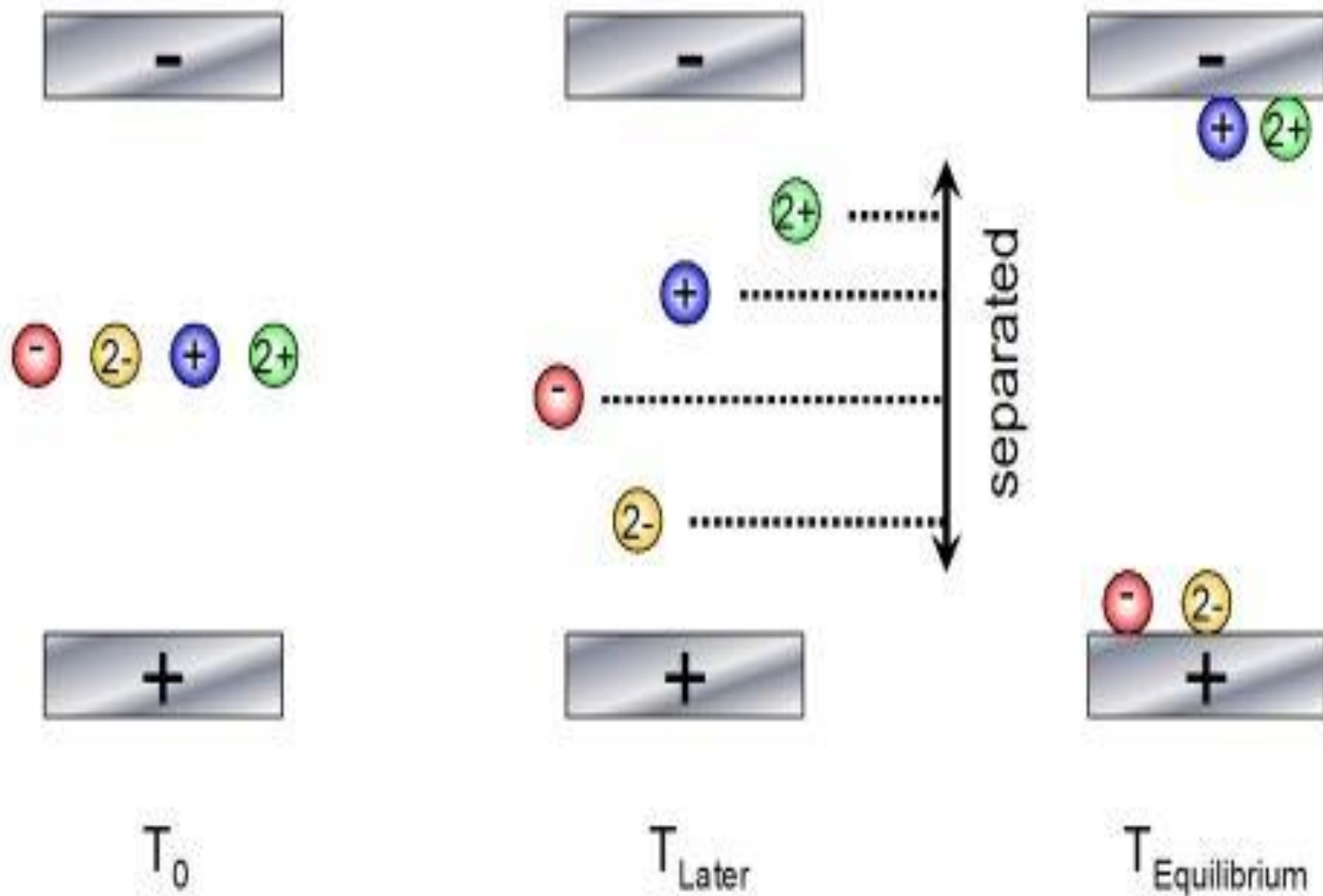
- Media yang digunakan adalah **larutan buffer**.
- Senyawa bermuatan **positif (kation)** akan bergerak **ke katoda**(kutub -) sedangkan senyawa bermuatan **negatif akan bergerak ke anoda**(kutub +).
- Kecepatan gerakannya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di sekitar molekul diantaranya **pH, hambatan fisik dan ukuran pori fase diam**.
- Untuk Pemisahaan : **ion anorganik, logam kation**, protein, **DNA**, karbohidrat dan sampel-sampel biomedik lainnya.
- partikel bermuatan akan bergerak menuju elektroda yang memiliki muatan yang **berlawanan**. Anoda (elektroda '+') menarik anion (ion negative), dan Katoda (elektroda '-') menarik kation (ion positif).

- Pemisahan memerlukan fase gerak $\rightarrow$ buffer.
- Buffer yang biasa digunakan adalah:
 - TBE = Tris borate EDTA
 - TAE = Tris acetate EDTA
- Tidak hanya menyediakan kondisi pH yang sesuai tetapi juga menyediakan ion untuk membantu konduktivitas

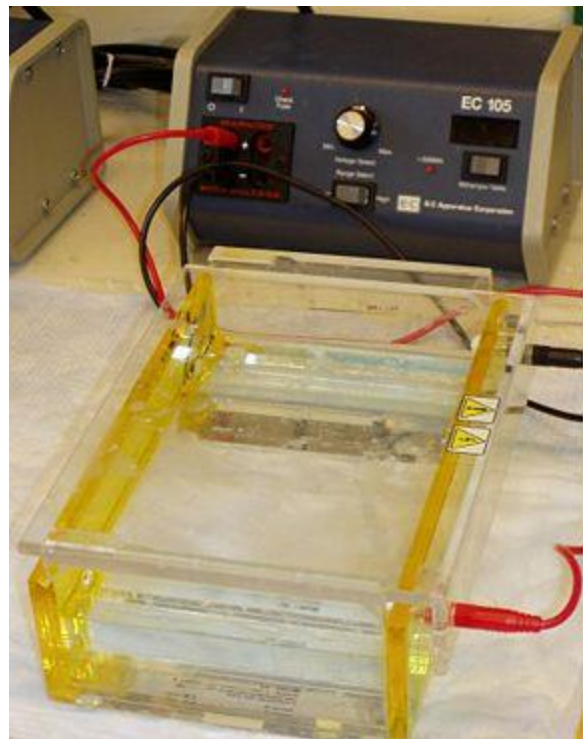


Pada kondisi ini beberapa hal yang perlu menjadi perhatian :

- Suatu proses pemisahan molekul lebih baik dihentikan ketika proses tersebut belum mencapai **titik kesetimbangannya**.
- ketika medan listrik dimatikan (power supply mati) maka molekul yang **telah terpisah akan menyebar lagi** sehingga pemisahan tidak stabil.
- → untuk itu pemisahan tidak dilakukan di dalam larutan akan tetapi menggunakan suatu **matrix**
- matrix akan menahan sampel tidak menyebar lagi dan memberikan '**frictional efect**' yang berpengaruh terhadap kecepatan migrasi sampel



- fase diam / **matrix** yang biasa digunakan adalah **gel**.
- Macam gel yang biasa digunakan dalam elektroforesis
 - **poliakrilamid**
 - agarosa
- Perambatannya:
 - **Vertikal**
 - **horizontal**



ad. 1 poliakrilamid (Raymond and Weintraub, 1959)

- **ukuran pori-pori** dapat dibuat bervariasi untuk memberikan efek penyaringan
- biasa digunakan untuk memisahkan **protein**
- konsentrasi yang biasa digunakan : **3.5 -20%** → dapat memisahkan molekul sebesar 5 – 200 kd
- lebih fleksibel dan memberikan hasil pemisahan yang lebih tajam
- lebih sulit disiapkan karena O₂ menghambat polimerasinya.

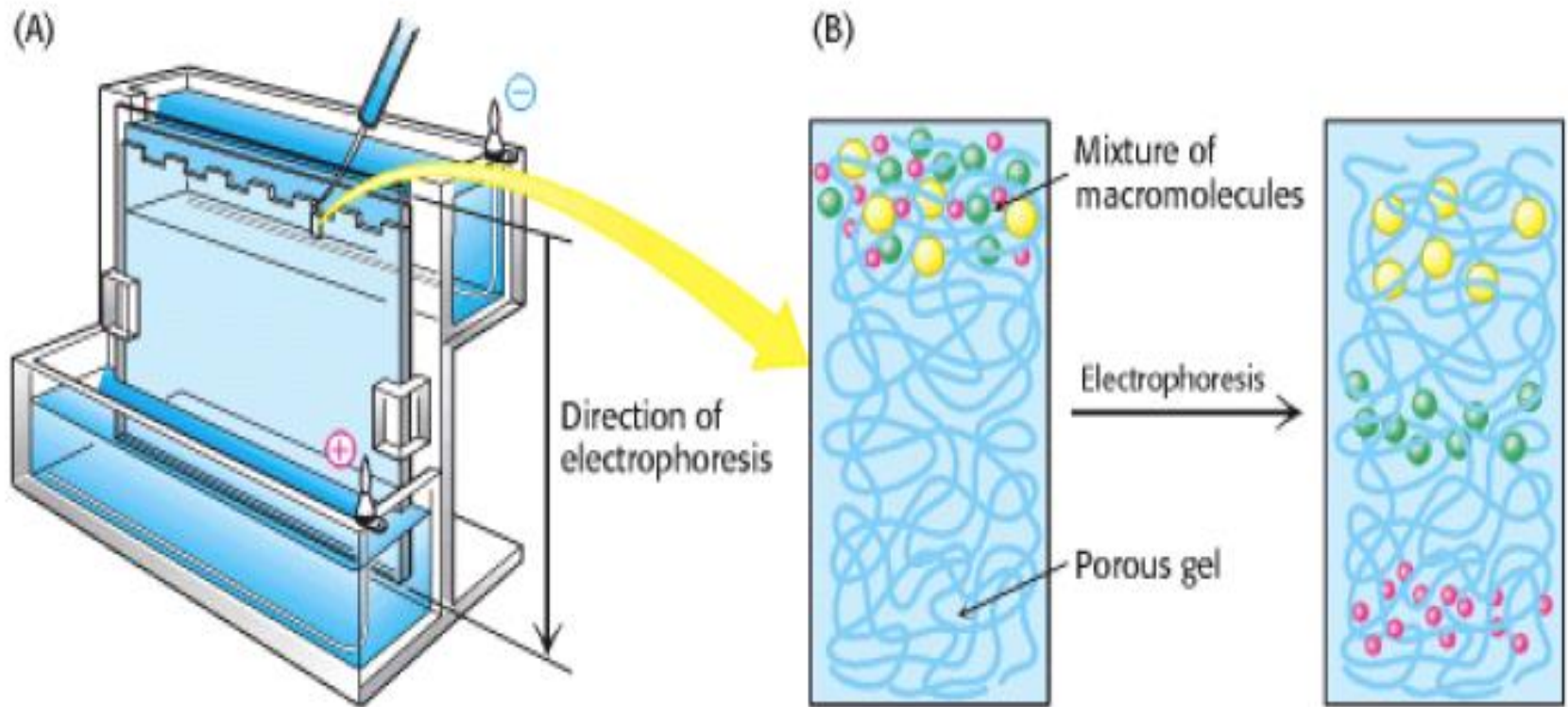
ad. 2 agarosa

- diperoleh dari **ekstraksi rumput laut**
- bersifat **mudah patah dan mudah hancur**
- mempunyai **pori yang besar** (lbh besar dr akriplamid)
- digunakan untuk memisahkan **molekul yang besar** 200-50000 bp
- penyiapan lebih mudah dibanding dgn polikrilamid, tetapi **resolusinya lebih rendah** → hasil pemisahan kurang tajam
- konsentrasi yang digunakan berkisar **0.5 – 2%**

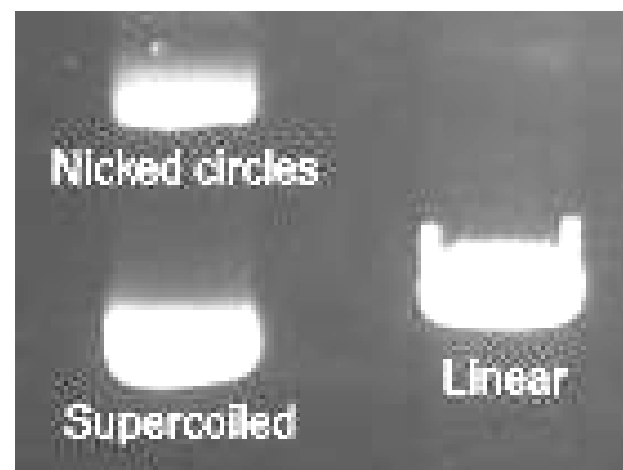
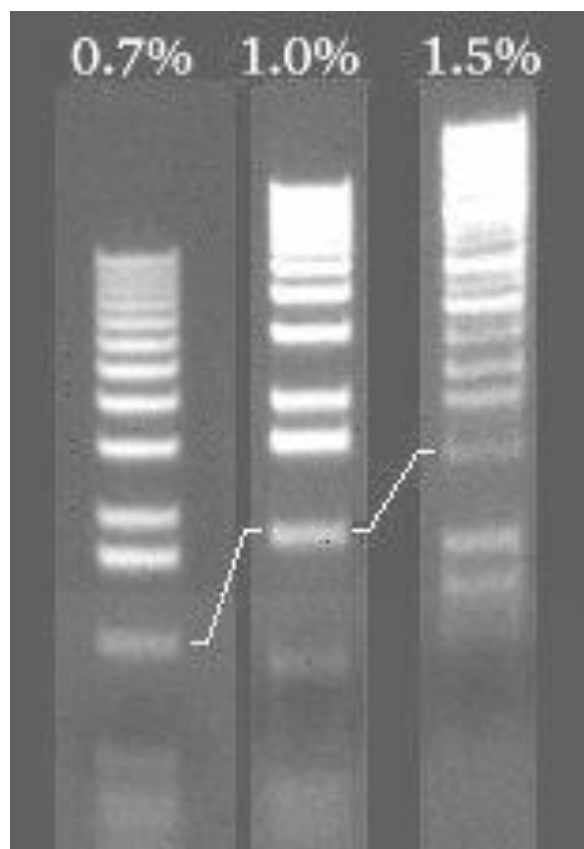
Beberapa faktor **mempengaruhi kecepatan migrasi** dari molekul protein

1. **Ukuran** molekul protein
 - Migrasi molekul protein berukuran besar lebih lambat daripada migrasi molekul berukuran kecil.
2. **Konsentrasi** gel
 - Migrasi molekul protein pada gel berkonsentrasi rendah lebih cepat daripada migrasi molekul protein yang sama pada gel berkonsentrasi tinggi.
3. **Bufer (penyangga)** dapat berperan sebagai penstabil medium pendukung dan dapat mempengaruhi kecepatan gerak senyawa karena ion sebagai pembawa protein yang bermuatan.

- 4. Medium penyangga
 - Medium pendukung ideal untuk elektroforesis adalah bahan kimia inert yang bersifat relatif stabil, mudah ditangani dan mempunyai daya serap yang baik, sebagai migrasi elektron atau penyaringan berdasarkan **ukuran molekul** seperti gel poliakrilamid
- 5. Kekuatan voltase
 - Voltase yang dipakai rendah (100-500) V, **kecepatan migrasi molekul sebanding dengan tingginya voltase yang digunakan.**
 - Voltase yang dipakai tinggi (500-10000) V, mobilitas molekul meningkat secara lebih tajam dan digunakan untuk memisahkan senyawa dengan BM rendah serta **jenis arus yang dipakai selalu harus searah** (bukan bolak balik).
- 6. Temperatur medium disaat proses elektroforesis berlangsung. Jika temperatur tinggi akan mempercepat proses bermigrasinya protein dan sebaliknya jika temperatur rendah akan mengurangi kekuatan bermigrasinya protein.



(Stryer, 2005)



Konsentrasi gel harus disesuaikan dengan ukuran sampel yang akan dipisahkan.

Acrylamide	Range of separation of Polypeptides (length in amino acids)
8%	25-200 kDa (225-1800 a.a.)
10%	15-100 kDa (135-900 a.a.)
12.5%	10-70 kDa (90-630 a.a.)
15%	6-60 kDa (55-550 a.a.)
20%	4-40 kDa (36-360)

The velocity of migration (v) of a protein (or any molecule) in an electric field depends on :

- a. the electric field strength (E),
- b. the net charge on the protein (z),
- c. the frictional coefficient (f).

$$v = \frac{Ez}{f}$$

The frictional coefficient f depends on :

- a. both the **mass** and **shape** of the migrating molecule and the **viscosity** (η) of the medium.
- b. For a sphere of radius r ,

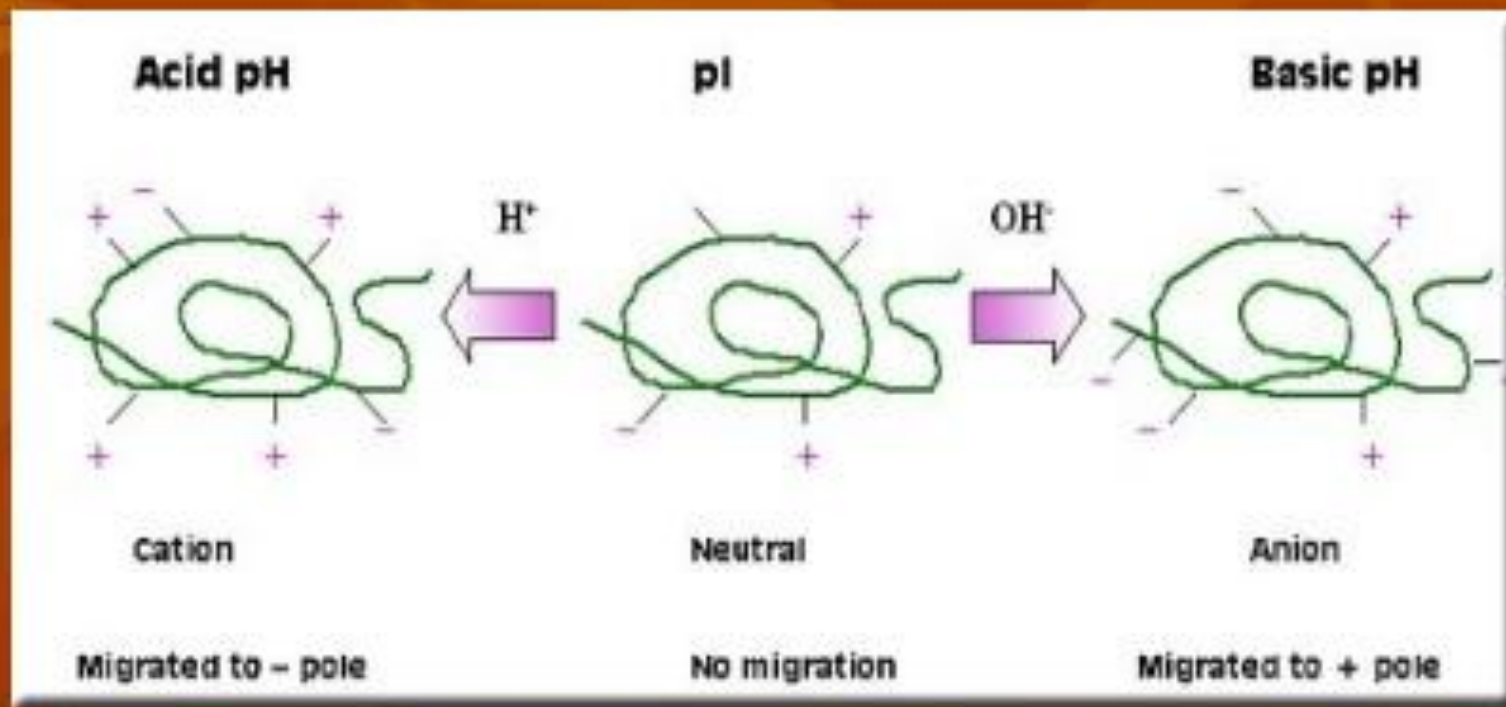
$$f = 6\pi\eta r$$

SDS-PAGE

- Pemisahan protein berdasarkan massa dan muatan keseluruhan protein tsbt
- untuk penentuan BM protein → protein harus mempunyai muatan yang sama
- digunakan **SDS = sodium dodecyl sulfate / laurel sulfate**
- SDS terikat pada protein dgn ikatan hidrofobik sesuai dgn ukuran (besar kecilnya) molekul protein tersebut
- SDS akan memberi **muatan negative** pada semua kondisi pH kecuali pada kondisi yg sangat asam
- Elektroforesis dilakukan dibawah kondisi denaturasi
- Murah
- reproduksibel
- metode cepat untuk kuantitasi, membandingkan dan mengkarakterisasi protein

Principles of Separation :

1. Charge on the Proteins

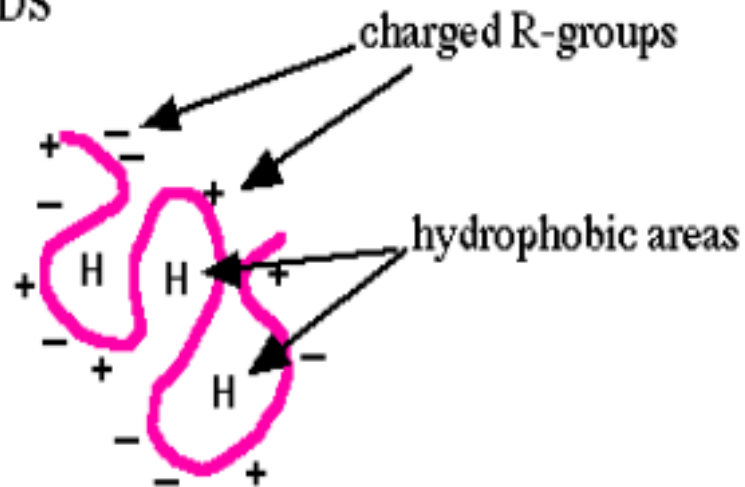


- At the pI of a specific protein, the protein molecule carries no net charge and does not migrate in an electric field.
 - At pH above the pI, the protein has a net negative charge and migrates towards the anode.
 - At pH below the pI, the protein obtains a net positive charge on its surface and migrates towards the cathode.

SDS

- If we want to separate many different protein molecules of a variety of shapes and sizes, we first want to get them to be linear so that the proteins no longer have any secondary, tertiary or quaternary structure (i.e. we want them to have the same linear shape).

BEFORE SDS



AFTER SDS



- **Analogy:**

Consider two proteins that are each 500 amino acids long but one is shaped like a closed umbrella while the other one looks like an open umbrella. If you tried to run down the street with both of these molecules under your arms, which one would be more likely to slow you down, even though they weigh exactly the same? This analogy helps point out that not only the mass but also the shape of an object will determine how well it can move through an environment. So we need a way to convert all proteins to the same shape - we use SDS.

Fungsi sds

- SDS (juga disebut Lauril Sulfat) adalah suatu deterjen anionik, yang apabila dilarutkan, molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas (kecuali terlalu asam).
- Suatu rantai polipeptida dapat berikatan dengan sejumlah tertentu SDS sesuai ukuran molekul (*molecular mass*).
- Muatan negatif SDS akan **menghancurkan sebagian besar struktur kompleks protein** dan secara kuat tertarik ke arah anoda (+) apabila ditempatkan pada suatu medan listrik

Cell



Incubated with SDS



membranes will be dissolved, the proteins will be solubilized, all the proteins will be covered with many negative charges



- all proteins contain only primary structure
- all proteins have a large negative charge which means they will all migrate towards the positive pole when placed in an electric field

SDS

- Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) is an anionic detergent that denatures proteins by wrapping the hydrophobic tail around the polypeptide backbone.
- For almost all proteins, SDS binds at a ratio of approximately 1.4 g SDS per gram of protein, thus conferring a net negative charge to the polypeptide in proportion to its length.
- The SDS also disrupts hydrogen bonds, blocks hydrophobic interactions, and substantially unfolds the protein molecules, minimizing differences in molecular form by eliminating the tertiary and secondary structures.

PAGE

- If the proteins are denatured and put into an electric field, they will all move towards the positive pole at the same rate, with no separation by size. So we need to put the proteins into an environment that will allow different sized proteins to move at different rates. The environment of choice is polyacrylamide, which is a polymer of acrylamide monomers. When this polymer is formed, it turns into a gel and we will use electricity to pull the proteins through the gel so the entire process is called polyacrylamide gel electrophoresis (**PAGE**).

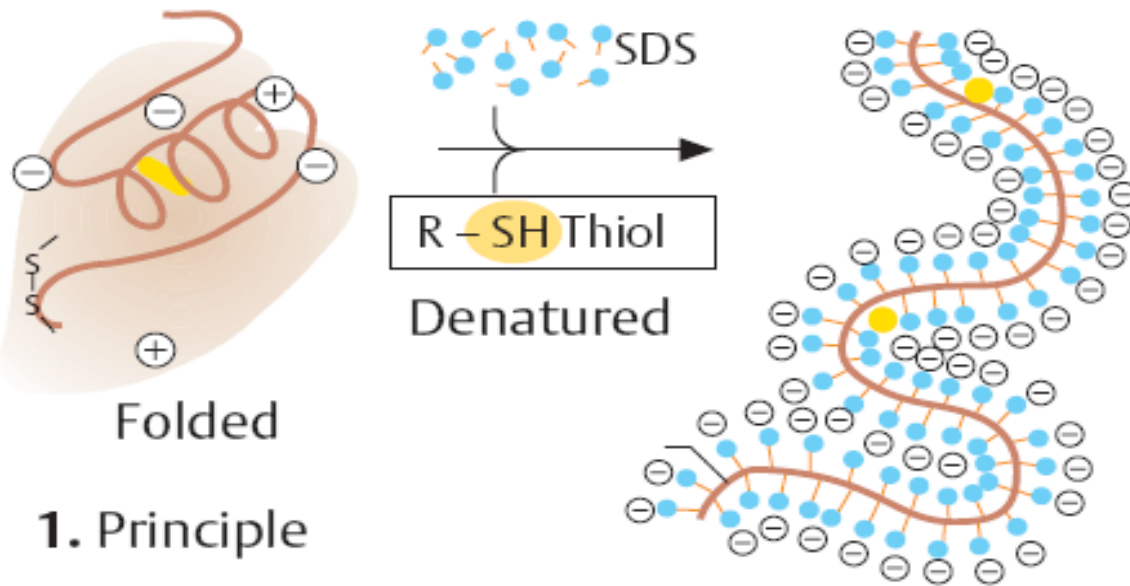
Elektroforesis protein

- Metode yang paling umum digunakan untuk memisahkan protein adalah dengan cara elektroforesis menggunakan *discontinuous polyacrylamide gel* sebagai *medium penyangga (buffer)* dan *sodium dodecyl sulphate (SDS)* untuk mendenaturasi protein.
- Metode ini disebut *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)*.
- Metode ini juga disebut “Laemmli Method” sesuai dengan nama penemunya yaitu U.K. Laemmli, yang menggunakan metode SDS-PAGE pertama kali.

SDS digunakan terutama untuk tujuan:

- Penentuan ukuran protein
- Penentuan kemurnian protein
- Kwantitasi protein
- Analisis jumlah dan ukuran sub unit

Protein native + β merkaptoetanol ditambah SDS kemudian dipanaskan

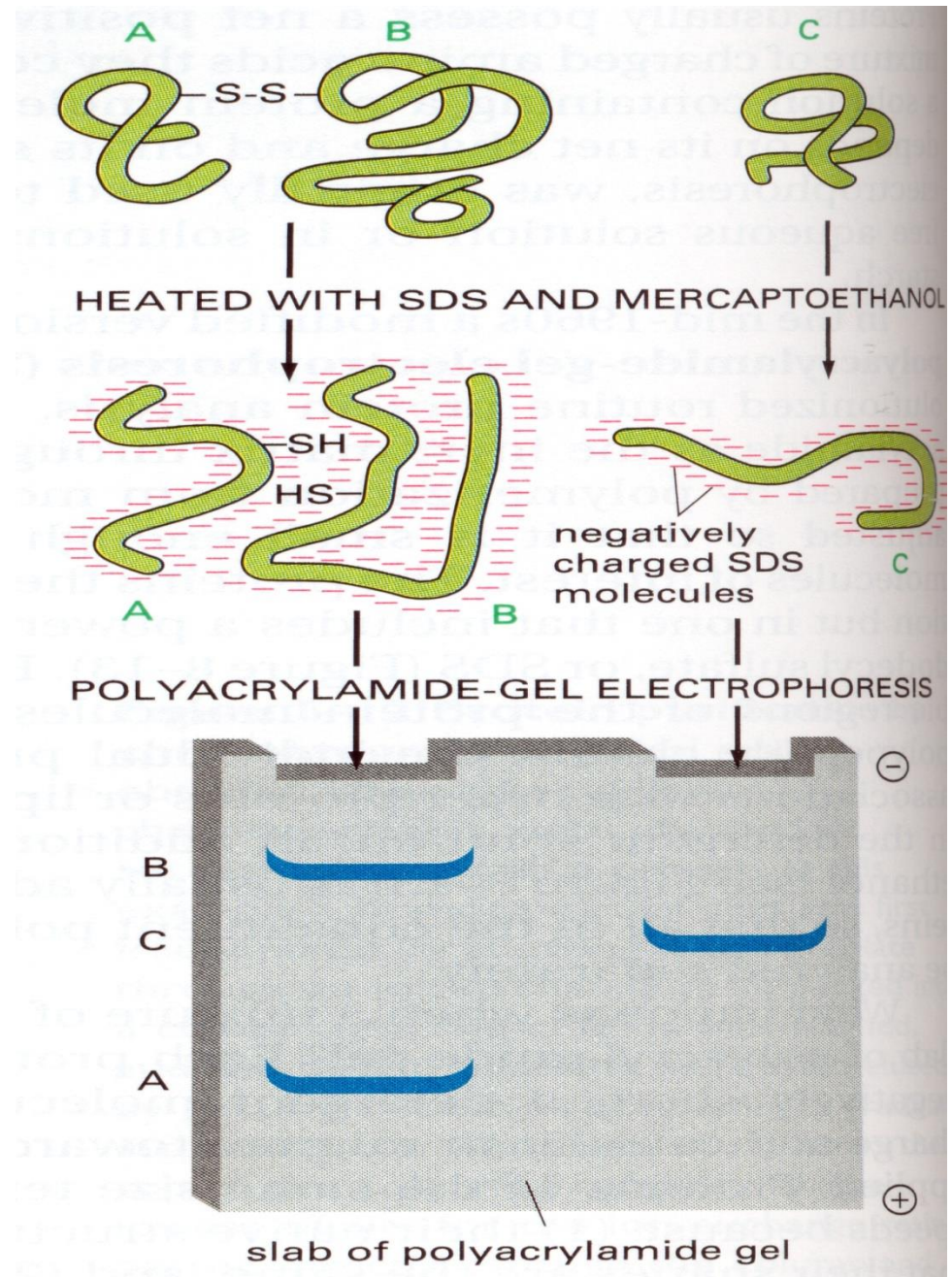


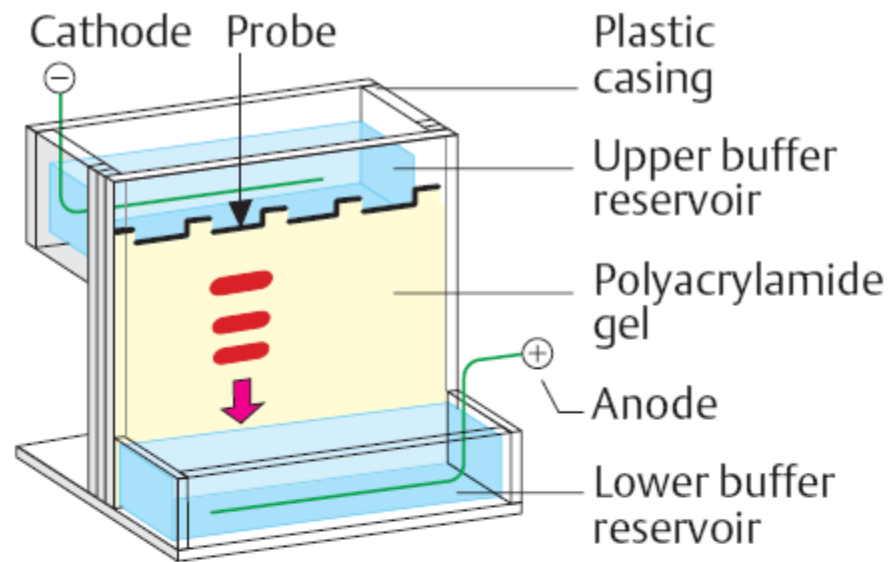
- SDS digunakan untuk melarutkan dan mendenaturasi protein.
- merkaptoetanol untuk memecah ikatan disulfide.
- Gliserol (urean atau sukrosa) untuk menambah densiti larutan sampel.
- Bufer untuk menjamin nilai pH
- Bromfenol blue & untuk melacak pergerakan protein

β merkaptoetanol akan membantu denaturasi protein dengan mereduksi seluruh ikatan disulfide. Kompleks SDS-protein akan bergerak dalam medan listrik dipengaruhi oleh BM

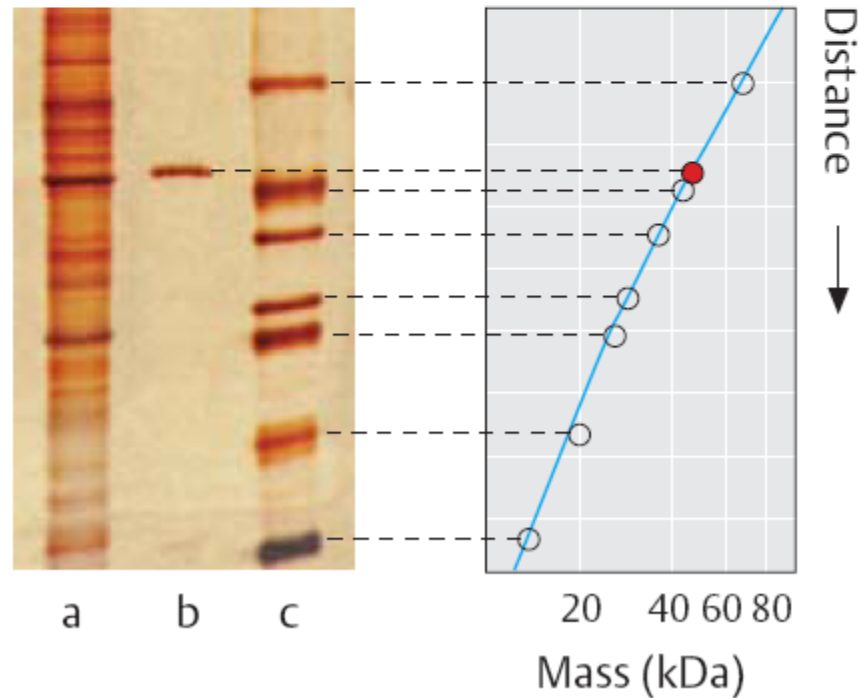
karena itu rasio antara berat molekul dgn muatan menjadi konstan → protein migrasi sesuai dengan massanya → menuju anoda → Dapat dibedakan massa dari protein tersebut

Protein dalam kondisi terdenaturasi





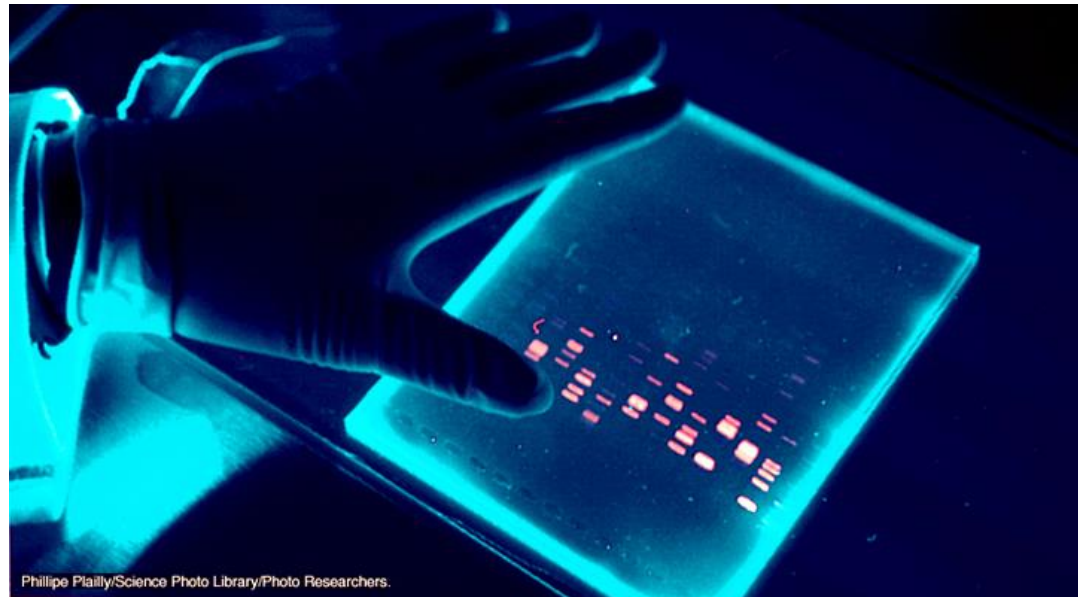
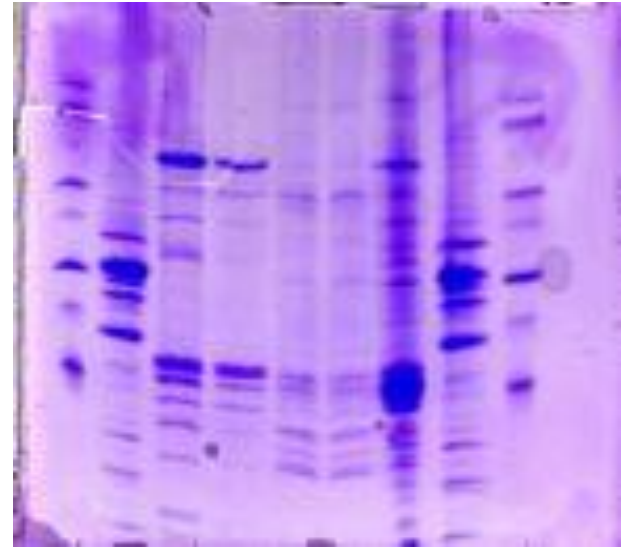
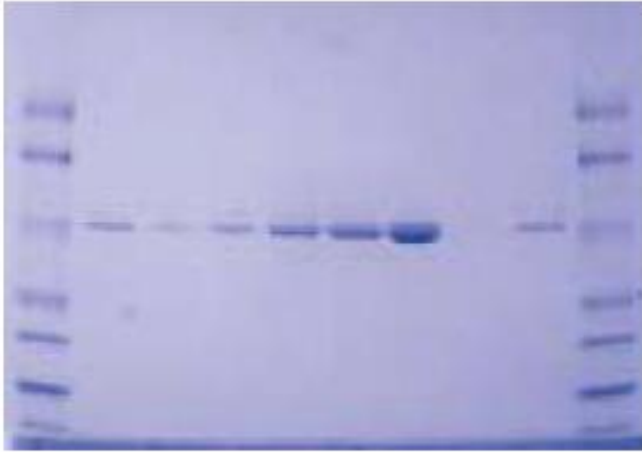
2. Apparatus



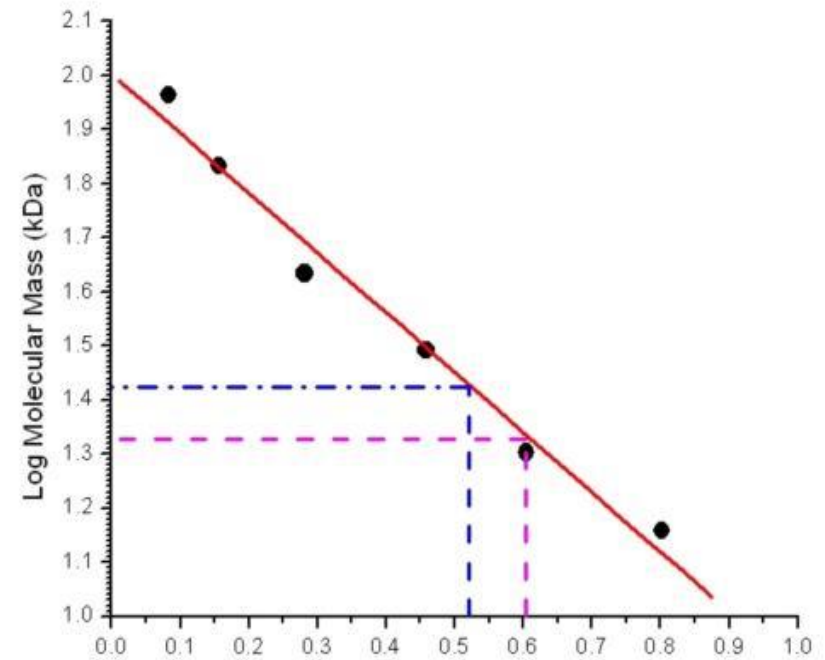
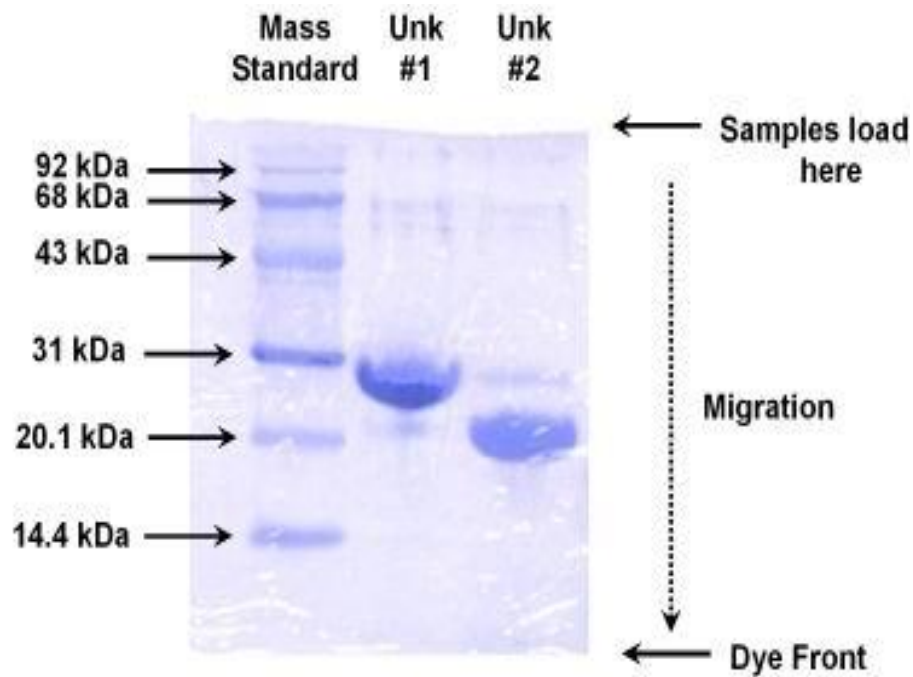
3. Stained gel

4. Analysis

- Ketika kita memisahkan sampel dengan gel elektroforesis → tidak tahu kapan berhenti → perlu penanda untuk mengetahui kapan harus menghentikan elektroforesisnya.
- Pewarna → molekul kecil, dapat menyerap sinar tampak, mempunyai muatan yang sama dengan sampel yang dipisahkan. → migrasi lebih cepat dari sampel → bromphenol blue
- Visualisasi hasil pemisahan elektroforesis
 - Untuk DNA dan RNA → ethidium bromide
→ *silver staining*
 - Untuk protein → *Coomassie Brilliant Blue*



Kompleks DNA –EtBr → cahaya flouresensi → uv



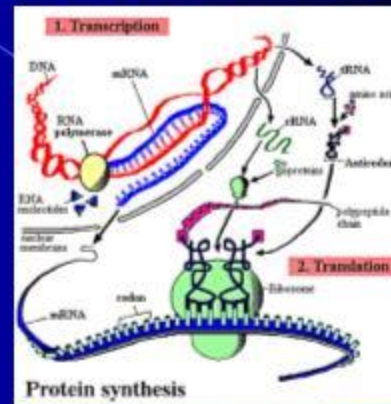
Protein	Molecular Mass (kDa)
Phosphorylase B	94
Bovine Serum Albumin	67
Ovalbumin	43
Carbonic Anhydrase	30
Soybean Trypsin Inhibitor	20.1
α -Lactalbumin	14.4

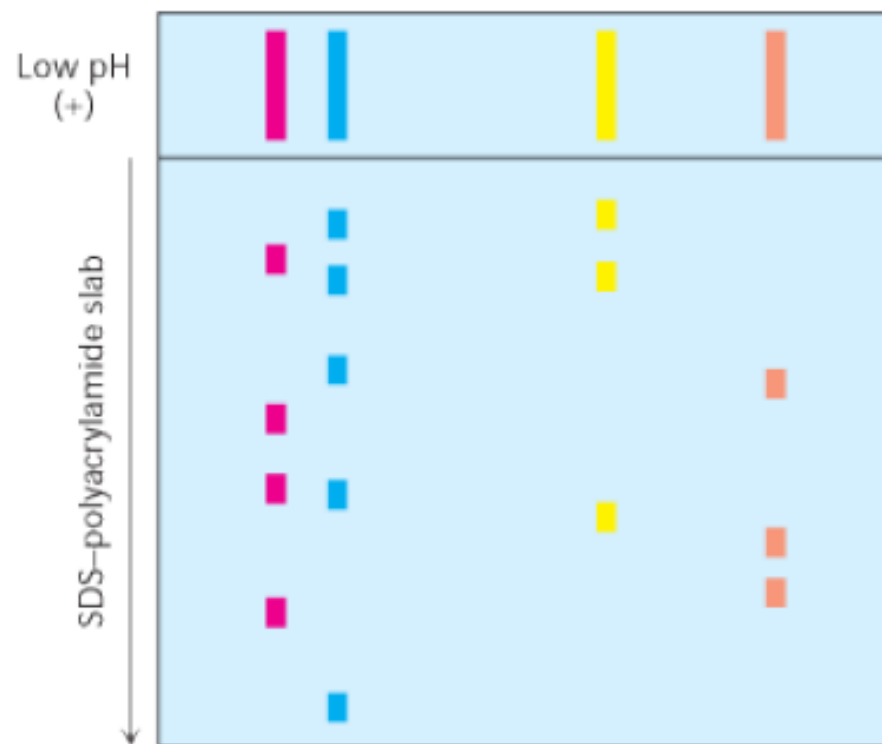
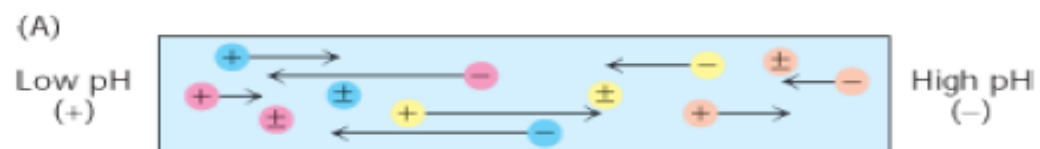
Basic Proteome Research Activities

cell/tissue
↓
proteins
↓
2-D PAGE
↓
image analysis
↓
spot excission
↓
protein characterization

Manual

Computer
Aided





(B)

Isoelectric focusing

(B)

Isoelectric focusing

SDS-PAGE



KELEBIHAN DAN KEKURANGAN ELEKTROFORESIS

- ▶ **KELEBIHAN** : Metode pemisahan elektroforesis cukup dengan peralatan sederhana, digunakan untuk memisahkan suatu sampel molekul besar seperti protein, asam nukleat, asam amino dan karbohidrat, dan dalam proses pengerjaan yang mudah dan sederhana.
- ▶ **KEKURANGAN** : Memiliki keterbatasan dalam hal yang efisiensi yang rendah , waktu pemisahan yang relative lama, dan berlaku untuk senyawa yang berwarna saja. Factor penyebabnya biasanya karena kuat arus searah yang relative rendah, kecepatan pemisahan tergantung pada penamabahan tegangan listrik yang searah. Selain itu tegangan listrik yang searah dapat menyebabkan noda hasil pemisahan menjadi tidak jelas akibat kerusakan noda oleh panas yang dihasilkan tegangan listrik searah yang tinggi sehingga noda-noda hasil pemisahan elektroforesis menjadi tidak terlalu jelas memisah.

	SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA	
	UJIAN AKHIR SEMESTER GENAP (II) TA 2024/2025	
	PROGRAM STUDI S-1 FARMASI	
	Mata Kuliah	: KIMIA ANALISIS
	Dosen	:
	Hari/Tanggal	: , Juli 2025
	Waktu	: 120 menit
	Tingkat/semester	: II / genap

Soal pilihan ganda (Nilai 2 masing-masing nomor)

- Panjang gelombang sinar tampak yang umumnya digunakan untuk analisa dengan spektrofotometer Vis yaitu rentang...
 - 0 - 200 nm
 - 200 - 400 nm
 - 400 - 800 nm
 - 800 - 1200 nm
- Panjang gelombang yang umumnya digunakan untuk analisa dengan spektrofotometer UV yaitu rentang...
 - 0 - 200 nm
 - 200 - 400 nm
 - 400 - 800 nm
 - 800 - 1200 nm
- Secara sederhana instrument spektrofotometri UV-Vis terdiri dari...
 - sumber cahaya – monokromator – sel sampel – detektor – read out (pembaca)
 - monokromator – sumber cahaya – sel sampel – detektor - read out (pembaca)
 - sel sampel – sumber cahaya – monokromator – detektor - read out (pembaca)
 - sumber cahaya – sel sampel – monokromator – detektor – read out (pembaca)
- Syarat dari kuvet yang digunakan adalah...
 - Menyerap cahaya
 - Bereaksi terhadap cuplikan
 - Berwarna
 - Tidak menyerap sinar Cahaya
- Fungsi dari monokromator adalah...
 - Sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis.

- b. Sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar monokromatis menjadi cahaya polikromatis.
- c. Sebagai pengatur panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis.
- d. Sebagai pengatur panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar monokromatis menjadi cahaya polikromatis.

6. Prinsip pemisahan dalam kromatografi?

- a. Senyawa dipisahkan berdasarkan suhu
- b. Senyawa dipisahkan berdasarkan ukuran molekulnya
- c. Senyawa dapat dipisahkan menggunakan kromatografi berdasarkan perbedaan kecepatan pergerakan senyawa dalam fase gerak dan fase diam.
- d. Senyawa dipisahkan berdasarkan warna

7. Apa peran fase diam dalam kromatografi?

- a. Fase diam berperan sebagai pemisah dalam kromatografi.
- b. Fase diam berperan sebagai pengencer dalam kromatografi.
- c. Fase diam berperan sebagai perekat dalam kromatografi.
- d. Fase diam berperan sebagai penghasil warna dalam kromatografi.

8. Apa yang dimaksud dengan fase diam polar dalam kromatografi?

- a. Fase diam polar menggunakan logam berat
- b. Fase diam polar dalam kromatografi mengacu pada penggunaan fase diam yang memiliki sifat polar, seperti silika atau alumina.
- c. Fase diam polar menggunakan karbon aktif
- d. Fase diam polar menggunakan senyawa kompleks

9. Apa yang dimaksud dengan elusi dalam kromatografi?

- a. Elusi dalam kromatografi adalah proses pengukuran konsentrasi senyawa dalam fase diam
- b. Elusi dalam kromatografi adalah proses pembakaran senyawa dalam fase diam
- c. Elusi dalam kromatografi adalah proses pemisahan senyawa menggunakan pelarut/fase gerak yang dilewatkan dalam fasa diam.
- d. Elusi dalam kromatografi adalah proses pencampuran senyawa dari fase diam

10. manakah dibawah ini yang **bukan** merupakan bahan zat padat untuk fase diam?

- a. Silika
- b. Aluminium
- c. bubuk selulose
- d. kieselguhr

11. Berikut ini yang merupakan keuntungan menggunakan kromatografi kolom untuk pemisahan adalah ...
- Membutuhkan sampel yang sangat banyak dan mahal
 - Tidak selektif untuk senyawa organik
 - Murah dan sederhana
 - Pemisahannya sangat lama
12. Komponen utama yang selalu ada dalam kromatografi adalah ...
- fasa diam dan fasa gerak
 - fasa cairan dan padatan
 - fasa padatan dan gas
 - fasa diam dan fasa cair
13. Molekul yang menyerap IR pada bilangan gelombang **1720 cm⁻¹** adalah
- C=O aldehid
 - C=O karboksilat
 - a dan b benar semua
 - A dan b salah semua
14. Berdasarkan komposisi eluen fasa gerak HPLC dapat digunakan dielusi secara
- Gradien
 - Isokratik
 - a dan b salah semua
 - a dan b benar semua
15. Prinsip kerja Kromatografi reverse phase HPLC adalah
- Kolom bersifat non polar fase gerak polar
 - Kolom bersifat polar fase Gerak non polar
 - Kolo bersifat non polar fase gerak non polar
 - Kolom bersifat polar fase Gerak polar
16. Salah satu jenis kromatografi yang pemisahannya bekerja berdasarkan ukuran molekul zat terlarut adalah...
- kromatografi partisi
 - kromatografi adsorpsi
 - kromatografi eksklusi
 - kromatografi penukar ion

17. Proses pengembangan sampel merupakan proses
- proses perlakuan sampel dengan fasa gerak sehingga komponen yang dikehendaki terpisah
 - proses interaksi sampel dengan fasa diam
 - proses perlakuan fasa gerak dan fasa diam
 - proses perlakuan sampel dengan fasa diam sehingga komponen yang dikehendaki lepas
18. Dalam kromatografi fasa gerak (eluen) dibuat **bervariasi kepolaran**, misalnya dari fasa gerak non polar menjadi semakin polar. Maka kromatografi tersebut termasuk kromatografi
- elusi
 - elusi gradien
 - elusi isokratik
 - pergeseran
19. Salah satu jenis kromatografi dengan fasa diam berupa padatan resin dan fasa gerak berupa cairan adalah kromatografi ...
- eksklusi
 - penukar ion
 - adsorpsi
 - partisi
20. Apabila dalam suatu kromatografi, **fasa diamnya berupa cairan (di-coating dalam padatan)**, maka dalam proses pemisahannya termasuk dalam kromatografi ...
- adsorpsi
 - partisi
 - penukar ion
 - eksklusi
21. Komponen yang menjadi "Body of Method" (fungsi pemisahan) dalam HPLC adalah
- Pompa
 - Injektor
 - Kolom
 - Detektor
22. Gugus fungsi yang dapat menyerap sumber Cahaya UV-Vis adalah....
- Gugus molekul
 - Gugus atom
 - Gugus sitokrom
 - Gugus kromofor

23. Prinsip kerja spektroskopi infra merah adalah
- Gugus fungsi atau ikatan antar atom menyerap sumber Cahaya infra merah dan terjadi vibrasi.
 - Gugus fungsi atau ikatan antar atom menyerap sumber Cahaya infra merah dan terjadi eksitasi.
 - Gugus fungsi atau ikatan antar atom menyerap sumber Cahaya infra merah dan terjadi absorpsi.
 - Gugus fungsi atau ikatan antar atom menyerap sumber Cahaya infra merah dan terjadi desorpsi.
24. *time of retention (t_R)* atau waktu retensi adalah waktu yang diperlukan oleh analit dari awal pemisahan hingga akhir terjadinya pemisahan, Semakin lama analit berinteraksi dengan fase diam maka...?
- semakin lama analit keluar dari sistem, maka t_R semakin kecil
 - semakin lama analit keluar dari sistem, maka t_R semakin besar
 - semakin cepat analit keluar dari sistem maka t_R semakin besar
 - semakin cepat analit keluar dari sistem maka t_R sama
25. Perbedaan mendasar dari spektrofotometer UV-Vis single beam dengan double beam.
- Spektrofotometri UV-Vis single beam hanya menggunakan Cahaya 1 arah untuk 1 sample uji sementara double beam terdapat splitter sehingga Cahaya terbagi mengenai 2 sample sekaligus dalam sekali pengukuran.
 - Spektrofotometri UV-Vis single beam hanya menggunakan 1 jenis monokromator sementara double beam menggunakan 2 monokromator.
 - Kedua pernyataan diatas benar semua.
 - Kedua pernyataan a dan b salah semua.
26. Bagaimana cara menghitung R_f value dalam kromatografi lapis tipis?
- R_f value dihitung dengan rumus: $R_f = \text{volume sampel} / \text{volume pelarut}$
 - R_f value dihitung dengan rumus: $R_f = \text{suhu sampel} / \text{suhu pelarut}$
 - R_f value dihitung dengan rumus: $R_f = \text{berat sampel} / \text{berat pelarut}$
 - R_f value dihitung dengan rumus: $R_f = \text{jarak yang ditempuh oleh sampel} / \text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}$
27. HPLC dengan sistem fase terbalik (Reverse Phase) artinya menggunakan fase gerak (Mobile phase) yang bersifat
- non polar
 - polar
 - campuran
 - organik
28. Beberapa syarat fase gerak dalam kromatografi harus...kecuali
- Murni, tidak terdapat kontaminan

- b. Tidak bereaksi dengan wadah
- c. Melarutkan sampel
- d. Memiliki viskositas tinggi

29. Bagian dari spektrum IR yang khas untuk tiap molekul adalah

- a. Functional group region
- b. Fingerprint region
- c. Absorbent region
- d. Transmittance region
- e. Molecule region

30. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dikenal juga dengan istilah High Performance Liquid Chromatography (HPLC). KCKT merupakan perangkat peralatan yang penting dalam perkembangan dunia analisis bahan baku maupun bahan pencemar. Berikut ini bukan kelebihan KCKT adalah

- a. mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran
- b. dapat terjadi dekomposisi dengan baik
- c. kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi
- d. dapat digunakan bermacam macam detektor

31. Berikut ini merupakan urutan komponen dalam proses kerja HPLC/ KCKT yang benar adalah:

- a. Reservoir – pump – pencampuran gradien - column – injector – detector – recorder
- b. Reservoir – pump – pencampuran gradien - injector – column – detector – recorder
- c. Reservoir – pump – pencampuran gradien - column – detector - injector – recorder
- d. Reservoir – column – pencampuran gradien - pump – injector – detector – recorder

32. Pada elektrolisis, senyawa bermuatan negatif akan bergerak ke....

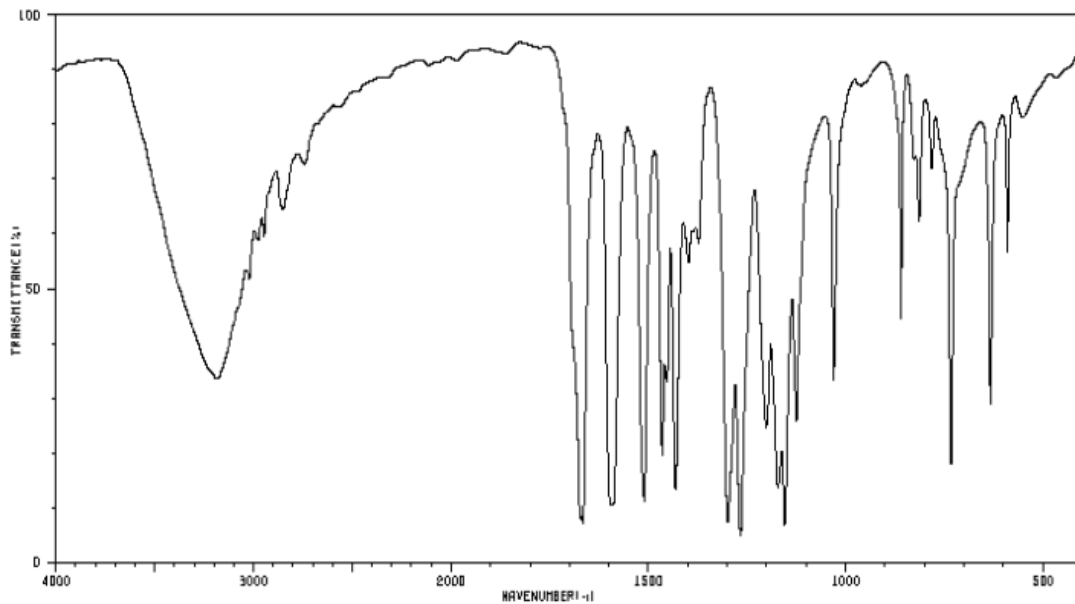
- a. Anoda (+)
- b. Katoda (+)
- c. Anoda (-)
- d. Katoda (-)

33. Pada jarak yang sama, mana yang akan mencapai kutub positif paling pertama? (Diketahui nilai bobot molekul)

- a. 60
- b. 100
- c. 200
- d. 600

34. Dalam proses elektroforesis terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi laju pergerakan dari molekul DNA yaitu
- Ukuran molekul DNA
 - Konsentrasi Gel dan Bentuk molekul
 - A dan B benar
 - A dan B salah
35. Faktor yang mempengaruhi elektroforesis adalah
- Sampel
 - Larutan buffer dan medan listrik
 - Sampel dan larutan buffer
 - Sampel, medan listrik dan larutan buffer

Soal assay (nilai masing-masing nomor adalah 5)



- Dari gambar spectrum IR diatas, prediksikan gugus apa saja dan pada bilangan gelombang berapa yang ada dalam spectrum IR gambar tersebut.
- Suatu sampel dengan konsentrasi 5×10^{-4} M diuji dengan spektrofotometri UV-Vis dan ditempatkan dalam kuvet yang memiliki lebar/panjang lintasan cuvet sebesar 1 cm. Ketika diukur pada Panjang gelombang 490nm, absorbansi yang terukur sebesar 0,388. Hitung berapa molar absorptivity (ϵ) pada panjang gelombang pengukuran tersebut?
- Jelaskan prinsip kerja dari
 - Kromatografi penukar ion
 - Kromatografi adsorpsi

c. Kromatografi ekslusi

4. Suatu obat A dan obat B mempunyai waktu retensi 16,4 dan 17,63 menit pada kolom 30 cm. Lebar puncak dasar masing-masing obat A dan B sebesar 1,11 dan 1,21 menit. Hitunglah resolusi dan H-nya.
5. Dalam analisis menggunakan HPLC, kromatogram yang ideal adalah diperoleh puncak yang sempit dan simetris. Namun adakalanya terjadi puncak yang lebar dan tidak simetris (lebar puncak bagian kanan dan kiri tidak sama). Jelaskan kemungkinan penyebab terjadinya puncak yang asimetris.
6. Untuk melakukan pemisahan atau purifikasi suatu campuran menggunakan kromatografi kolom terbuka, hal apa saja yang harus diperhatikan? Jelaskan



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SK. Menkes RI No. 12/Kep/Diknakes/II/90 Tgl 3 Februari 1990

SK Kemenristekdikti No. 739/KPT/I/2019 Tgl 20 Agustus 2019

Jl. Bener No. 26 Tegalrejo Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55243 Telp. (0274) 587402, 587208

Website : www.stikes-notokusumo.ac.id e-mail : info@stikes-notokusumo.ac.id

ISI PRESENSI MAHASISWA FARMASI 2024 GENAP

Mata kuliah : FAR6250124 - Kimia Analisis

Nama Kelas : 1A-FR

No	NIM	NAMA	TATAP MUKA														
			6 Mar 2025	13 Mar 2025	20 Mar 2025	27 Mar 2025	3 Apr 2025	10 Apr 2025	17 Apr 2025	24 Apr 2025	14 Mei 2025	21 Mei 2025	28 Mei 2025	4 Jun 2025	11 Jun 2025	18 Jun 2025	25 Jun 2025
Peserta Reguler																	
1	F52023359	APRIL KAMBU	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H
2	F52023376	GRASYA HILEN ELO	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	F52023379	LINDA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	F62024400	ABIYASHA PRIYA JANITRA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
5	F62024401	ADYA HAWANI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H
6	F62024402	Afrilia Dyah Nastiti	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
7	F62024403	Ahira Maharani Rambu Djotti	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H	H	H
8	F62024404	Aljesika Kurnia Maha	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	A	H	H
9	F62024405	Ani Murni Giawa	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	F62024406	Anisa Eka Sri Wardani	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	F62024407	BERNADETA APRILIANA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	F62024408	DELFI PUTRI ANANTA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	F62024409	Elsa Wulan Ndari	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	F62024410	Destra Maharani	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H
15	F62024411	EKA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
16	F62024412	Elena Rambu Deta Marista Wudi	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H	H	H
17	F62024413	FAIRUZ RAIDZA ANWAR	H	H	A	A	A	H	H	H	A	I	A	H	A	I	I
18	F62024414	FARAH ROIHANATUL JANNAH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	F62024416	Hafidzah Maisaroh	H	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
20	F62024417	Ika Nur Rahmawati	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
21	F62024418	Indri Sintia Lalo	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
22	F62024419	JENITA GELLMARIA SIHOMBING	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
23	F62024420	JOHANA LEONADA M DONA	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H
24	F62024421	Mimi Mince Boysina Pohwainjaan	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Dicetak oleh: ROFIQ SUNARYANTO, pada 13 Agustus 2025 14:53:38 WIB | siakad.stikes-notokusumo.ac.id/siakad/rep_isiabsensi

25	F62024422	LATIFA NUR ASYERA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
26	F62024423	LIANA TRI WAHYUNI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
27	F62024424	MARIA ANGRENI WIWIT HOMBA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
28	F62024425	MARIA NOVENA APRILLIANI RENYAAN	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
29	F62024426	Merlinda Cornelia Frestyan	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	F62024427	Nabila Putri Chantika	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SK.Menkes RI No.12/Kep/Diknakes/II/90 Tgl 3 Februari 1990

SK Kemenristekdikti No. 739/KPT/I/2019 Tgl 20 Agustus 2019

Jl.Bener No.26 Tegalrejo Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55243 Telp. (0274) 587402, 587208

Website :www.stikes-notokusumo.ac.id e-mail :info@stikes-notokusumo.ac.id

ISI PRESENSI MAHASISWA

FARMASI

2024 GENAP

Mata kuliah : FAR6250124 - Kimia Analisis

Nama Kelas : 1A-FR

No	NIM	NAMA	TATAP MUKA														
			6 Mar 2025	13 Mar 2025	20 Mar 2025	27 Mar 2025	3 Apr 2025	10 Apr 2025	17 Apr 2025	24 Apr 2025	14 Mei 2025	21 Mei 2025	28 Mei 2025	4 Jun 2025	11 Jun 2025	18 Jun 2025	25 Jun 2025
Peserta Reguler																	
31	F62024428	NADIA GRACIA ASNELIA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
32	F62024429	Nadine Devi Emanuella Salhuteru	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	A
33	F62024430	REVANINGSI	A	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
34	F62024431	Rizka Reza Yolanda	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H
35	F62024432	Safyani	I	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
36	F62024434	SEPTI MARLENA	H	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
37	F62024435	Tantri Nuryani	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
38	F62024436	THABITA PRISCILLA NATASHA VHEBA	H	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
39	F62024438	WIWIN FANCILIA MAUBANA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
40	F62024439	Yurike Gunawan	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
41	F62024440	ZAHRA RIZKI RAMADHANI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Paraf Ketua Kelas																	
Paraf Dosen																	



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SK. Menkes RI No. 12/Kep/Diknakes/II/90 Tgl 3 Februari 1990

SK Kemenristekdikti No. 739/KPT/I/2019 Tgl 20 Agustus 2019

Jl. Bener No. 26 Tegalrejo Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55243 Telp. (0274) 587402, 587208

Website : www.stikes-notokusumo.ac.id e-mail : info@stikes-notokusumo.ac.id

ISI PRESENSI MAHASISWA FARMASI 2024 GENAP

Mata kuliah : FAR6250124 - Kimia Analisis

Nama Kelas : 1B-FR

No	NIM	NAMA	TATAP MUKA													
			7 Mar 2025	14 Mar 2025	21 Mar 2025	28 Mar 2025	4 Apr 2025	11 Apr 2025	18 Apr 2025	14 Mei 2025	23 Mei 2025	26 Mei 2025	5 Jun 2025	13 Jun 2025	20 Jun 2025	24 Jun 2025
Peserta Reguler																
1	F62024441	ANISA OKTAVIANI OJE KEKE	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	F62024442	Aulia Putri Siswanto	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	F62024443	AURA NAYA OKTA MUNA	H	H	H	H	H	S	H	H	H	H	H	H	H	H
4	F62024444	Ayka Dhea Noftiana	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
5	F62024445	Aziza Dwi Adiani	H	S	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
6	F62024446	Azza Adellia Shafa Putri Armanto	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
7	F62024447	DERPI TOWOLOM	H	H	H	H	H	H	H	H	A	A	H	H	H	H
8	F62024448	Destri Putri Aulia	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	F62024450	Efriani Haingu	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	F62024451	Febriana Angreni Putri Kaka	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	F62024452	FITRAH ANINDA SABRINA	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	F62024453	HAPPYANA ERIKHA PUTRI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	F62024454	IRFAN YEWANGOE	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	F62024456	Juwita Saputri	H	H	H	H	H	S	H	H	H	H	H	H	H	A
15	F62024457	KARTIKA INDAH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
16	F62024458	Kristofel Ama Tarra Yelo	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A
17	F62024459	Lucianne Jasmine Yovina Reyaan	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
18	F62024460	MARIA STEVANI ENE	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H	H	H	H
19	F62024461	Marlin Noni Oyang Bola	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
20	F62024462	MENTARI PRINCCES AYU HONEY LANGIT PRATIWI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	A	
21	F62024463	NADIA MEILA NARENDRAWATI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	A
22	F62024464	NATALIA INYA JAKA MERE	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
23	F62024465	Novalia Anggraini	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

24	F62024466	NUR HANIFAH RIFQAN HAERİYAH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
25	F62024468	RANI SAPUTRI	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
26	F62024469	Revalina Rahmadhani	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
27	F62024470	SALSA NABILA	H	H	H	H	H	H	H	A	H	A	H	H	A	
28	F62024471	SANIA NADIYASTUTI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
29	F62024472	SESILIA AMBU KAKA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	F62024473	SITI MAESAROH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

SK. Menkes RI No. 12/Kep/Diknakes/II/90 Tgl 3 Februari 1990

SK Kemenristekdikti No. 739/KPT/I/2019 Tgl 20 Agustus 2019

Jl. Bener No. 26 Tegalrejo Yogyakarta-Indonesia Kode Pos 55243 Telp. (0274) 587402, 587208

Website : www.stikes-notokusumo.ac.id e-mail : info@stikes-notokusumo.ac.id

ISI PRESENSI MAHASISWA FARMASI 2024 GENAP

Mata kuliah : FAR6250124 - Kimia Analisis

Nama Kelas : 1B-FR

No	NIM	NAMA	TATAP MUKA													
			7 Mar 2025	14 Mar 2025	21 Mar 2025	28 Mar 2025	4 Apr 2025	11 Apr 2025	18 Apr 2025	14 Mei 2025	23 Mei 2025	26 Mei 2025	5 Jun 2025	13 Jun 2025	20 Jun 2025	24 Jun 2025
Peserta Reguler																
31	F62024474	SITI QOMARIYAH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
32	F62024475	SUSI SUSANTI GORO RAME	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	H	H	H	H
33	F62024476	Syawalluna Eminarti	H	H	S	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H
34	F62024477	SYIFA NURLAILI	H	H	H	S	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
35	F62024478	TRISSIA ANJELINA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A
36	F62024479	Vidya Khairunnisa	H	H	A	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A
37	F62024480	YOSI RAMADANI PUTRI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
38	F62024482	RESTI AYU EGYNA	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Paraf Ketua Kelas																
Paraf Dosen																

