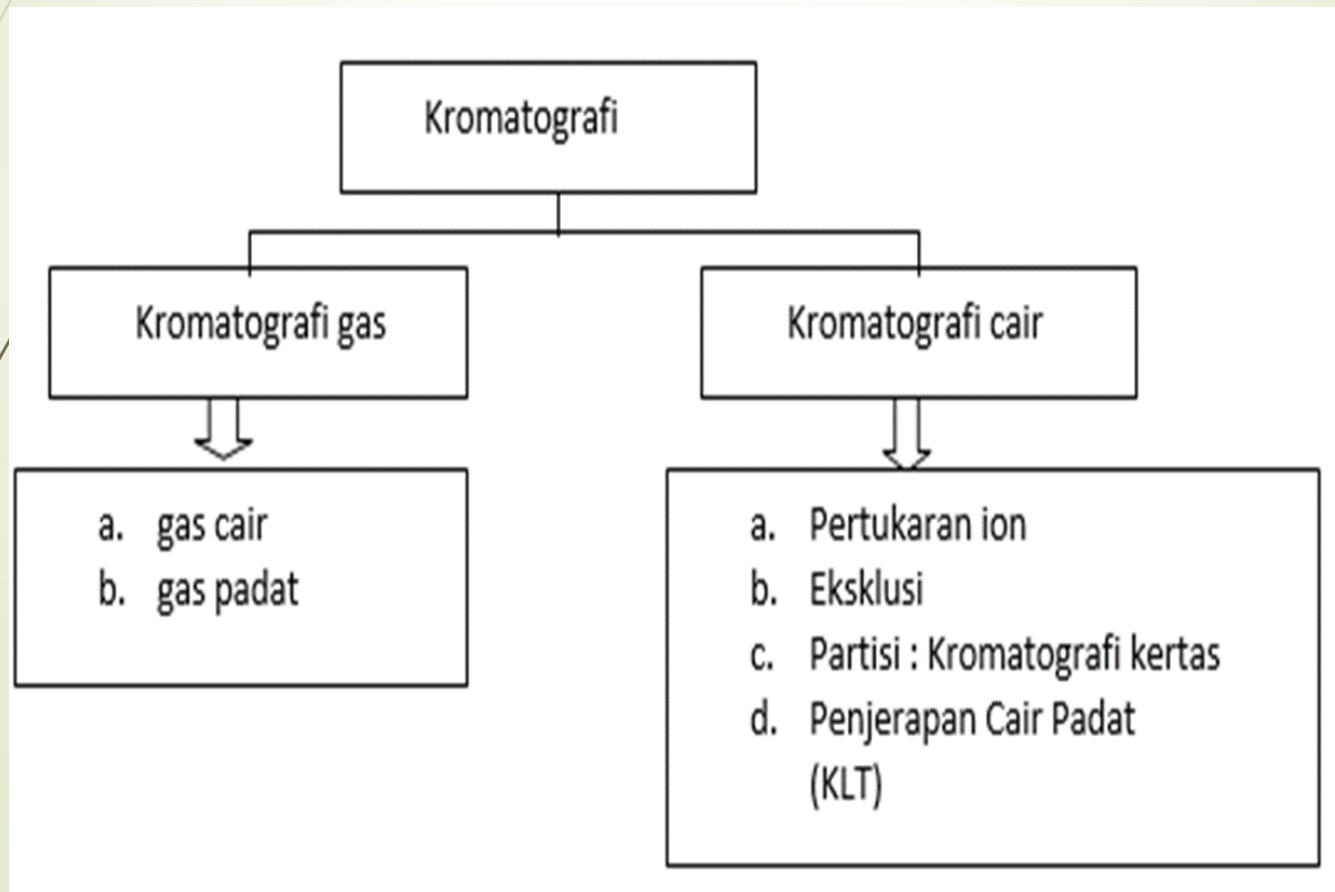




PRAKTIKUM TEKNOLOGI PEMISAHAN

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Kromatografi Kertas

Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya berdasarkan distribusi komponen tersebut pada dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak



Istilah

Kromatografi Lapis Tipis = *Thin Layer Chromatography*

Pengembangan = development = eluasi = elusi

Eluen = pelarut untuk pengembangan

Eluat = pelarut yang mengandung analit hasil pemisahan dengan kromatografi

Kromatogram = gambar hasil pemisahan

Kromatograf = alat untuk kromatografi

R_f = *retardation factor* = *ratio of front*

$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis pengembang dari titik awal}}$

$HR_f = 100 \times R_f$



Lapis Tipis terdiri dari:

- Plat: kaca, Alumunium, plastik
- Adsorben: silika gel, alumina, selulosa, dll

Macam-macam adsorben di pasaran:

- Silika gel G, silika gel GF, silika gel H
- Alumina H, Alumina HF
- Selulosa

SILIKA GEL: SiOH, SiO₂

➤ Sifat polar

- Silika gel G (mengandung pengikat gipsum CaSO₄: 5-15%)
- Silika gel S (mengandung pengikat starch =pati)
- Silika gel GF254 (mengandung pengikat gipsum & indikator fluoresensi timah kadmium sulfida/mangan timah silikat aktif, yang berfluoresensi pada 254 nm)
- Silika gel H/silika gel N (tanpa mengandung pengikat) biasanya untuk kromatografi vakum
- Silika gel F254 (tanpa pengikat, tp mengandung indikator floresensi)
- Silika gel PF 254 & 366 (untuk pemisahan preparatif & mengandung indikator floresensi)

Penampak Bercak:

1. Visual => analit berwarna
2. Penampak bercak kimia

Misalnya: Uap Iodium, Asam sulfat pekat, ninhidrin

3. Lempeng diberi fluoresensi

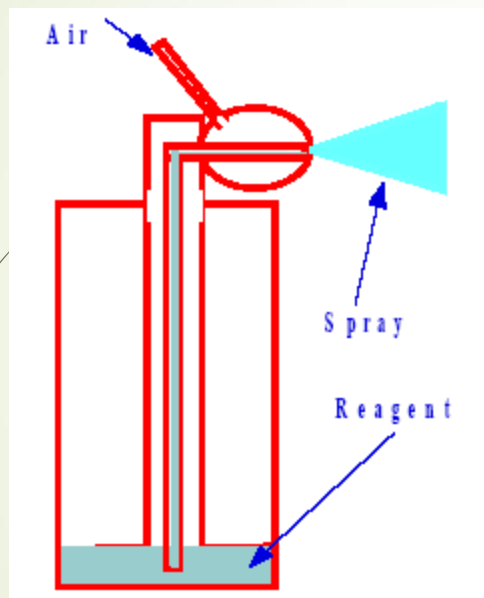


Penampak Bercak kimia, berdasarkan sifatnya:

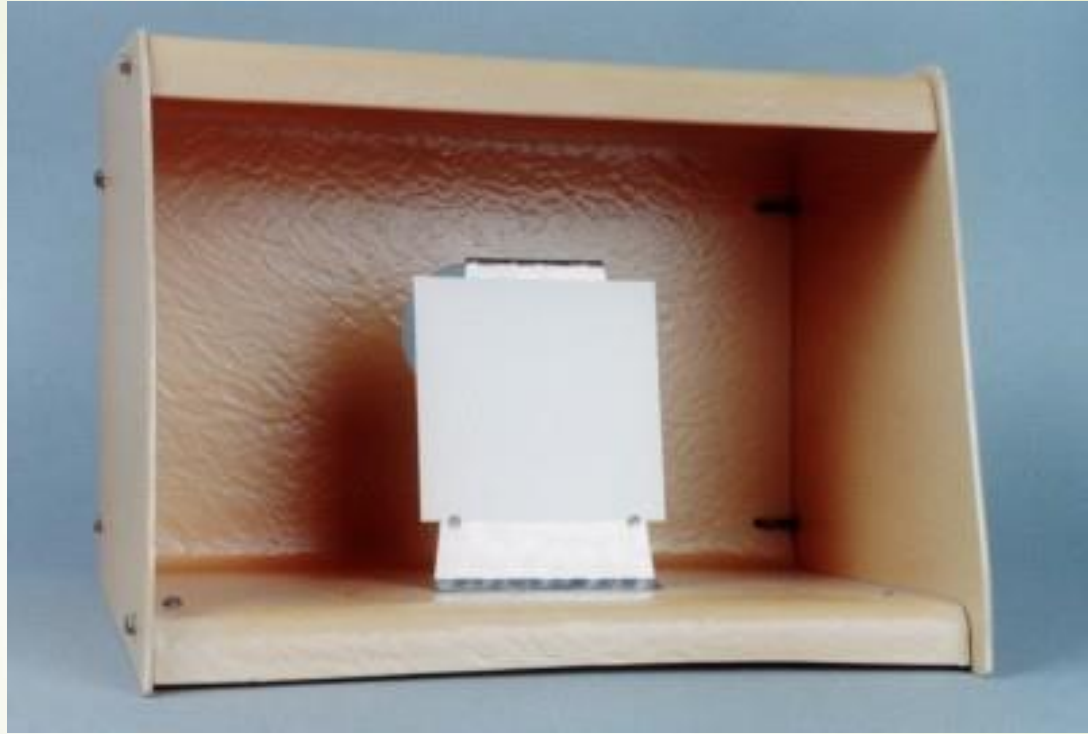
1. Permanen: Asam sulfat pekat, ninhidrin
2. Sementara: Uap Iodium

Penampak Bercak kimia, berdasarkan spesifisitasnya:

1. Spesifik:
ninhidrin: untuk zat dengan atom N (protein, alkaloid dll)
2. Umum:
Uap Iodium, asam sulfat pekat (hampir semua zat)



The TLC Reagent Spray



A Spray Cupboard Suitable for Sulfuric Acid Spray

Iodine Chamber

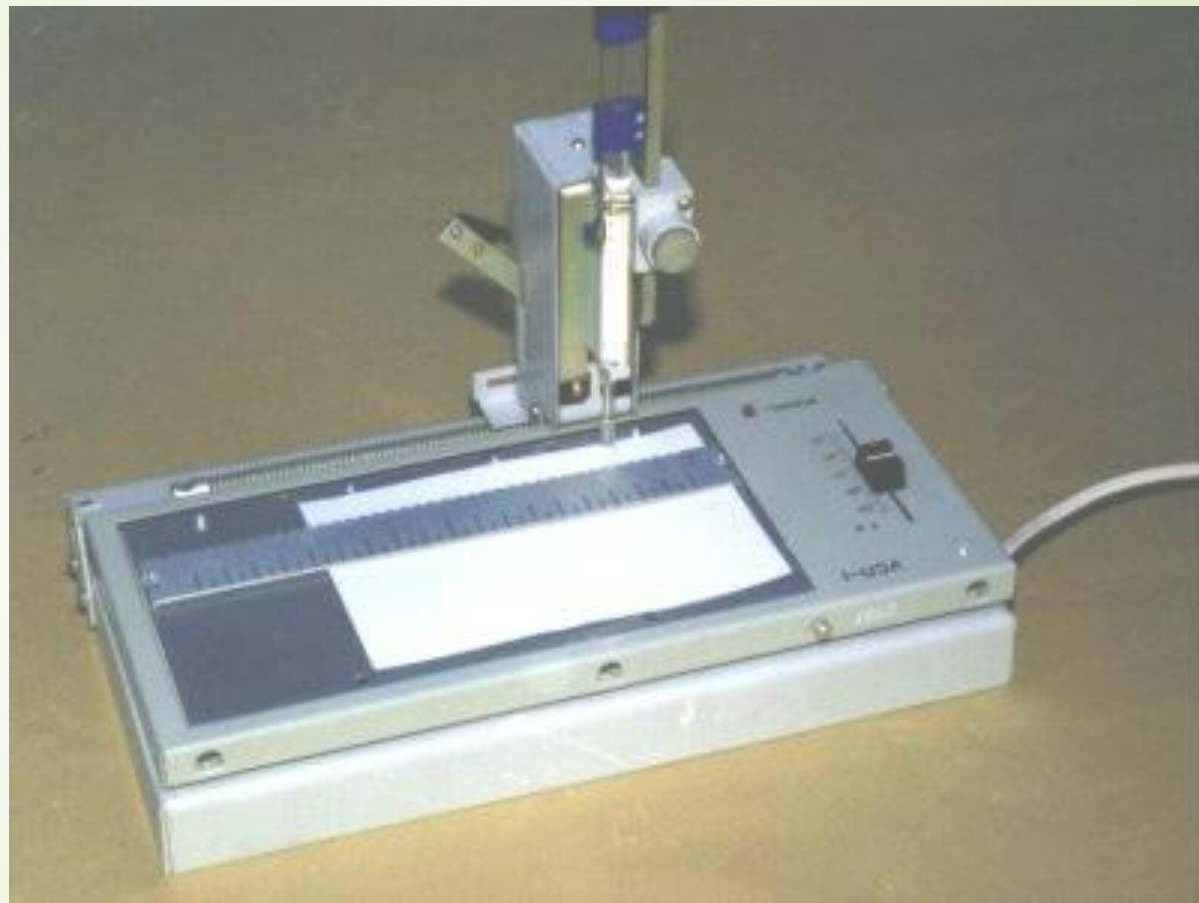
Developing Chamber
supplies



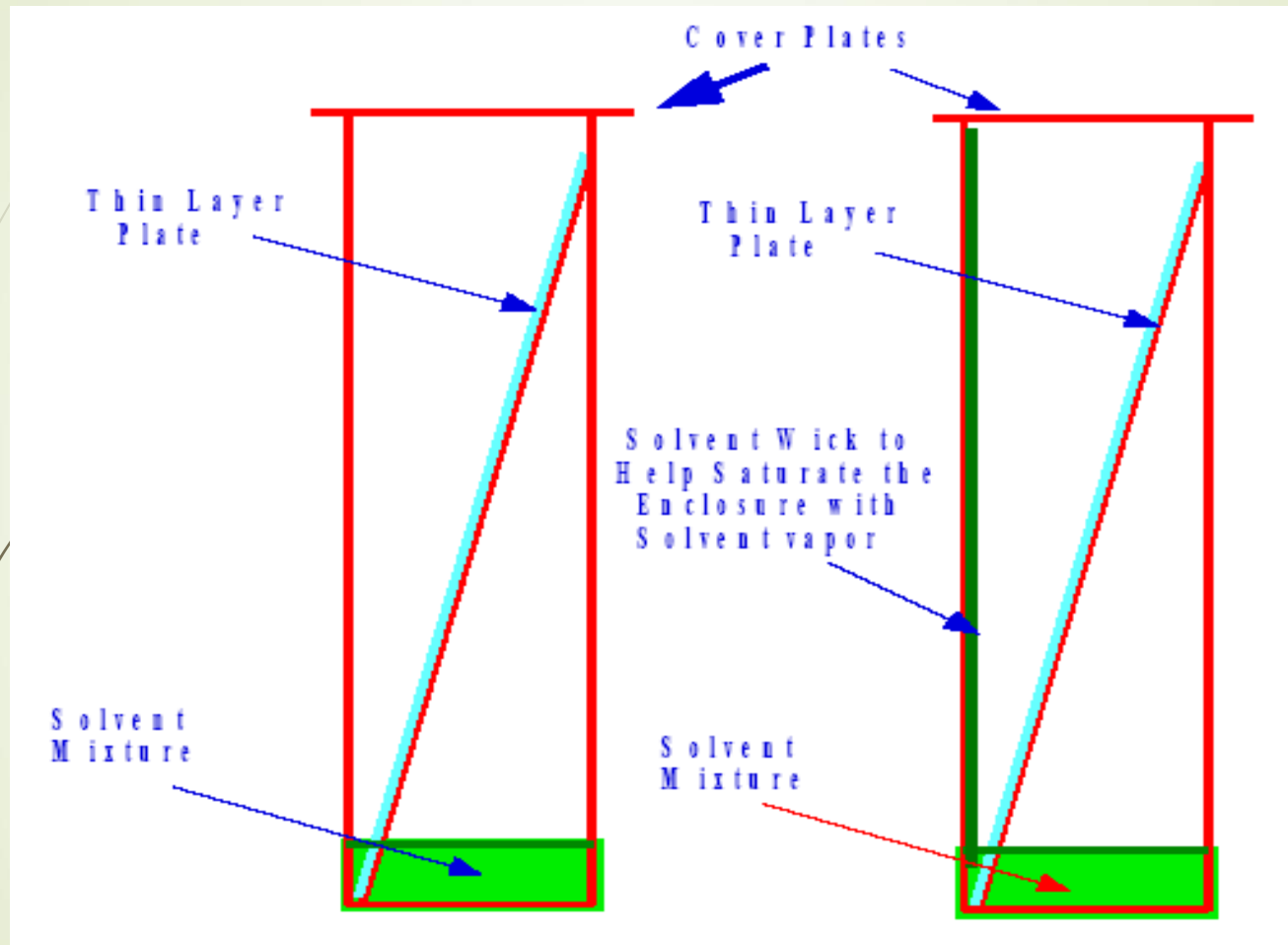
UV lamp

TLC Plates and microcapillary
tubes for spotting

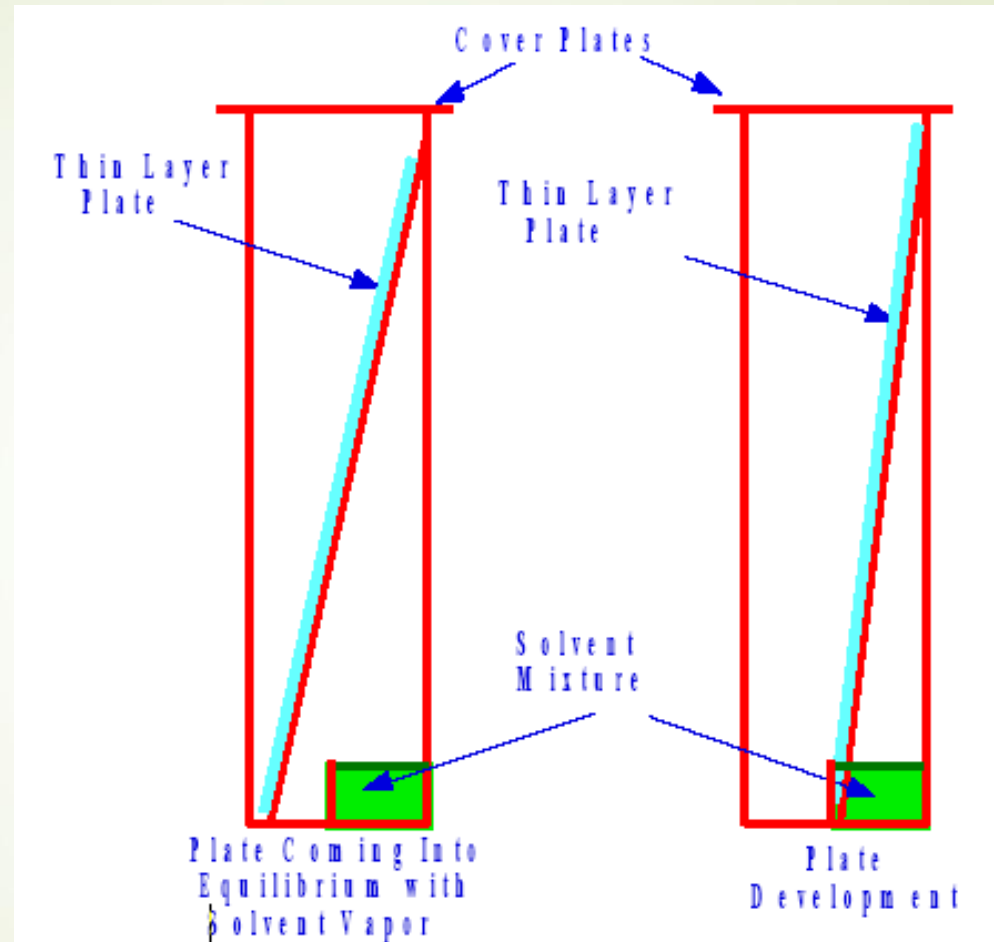




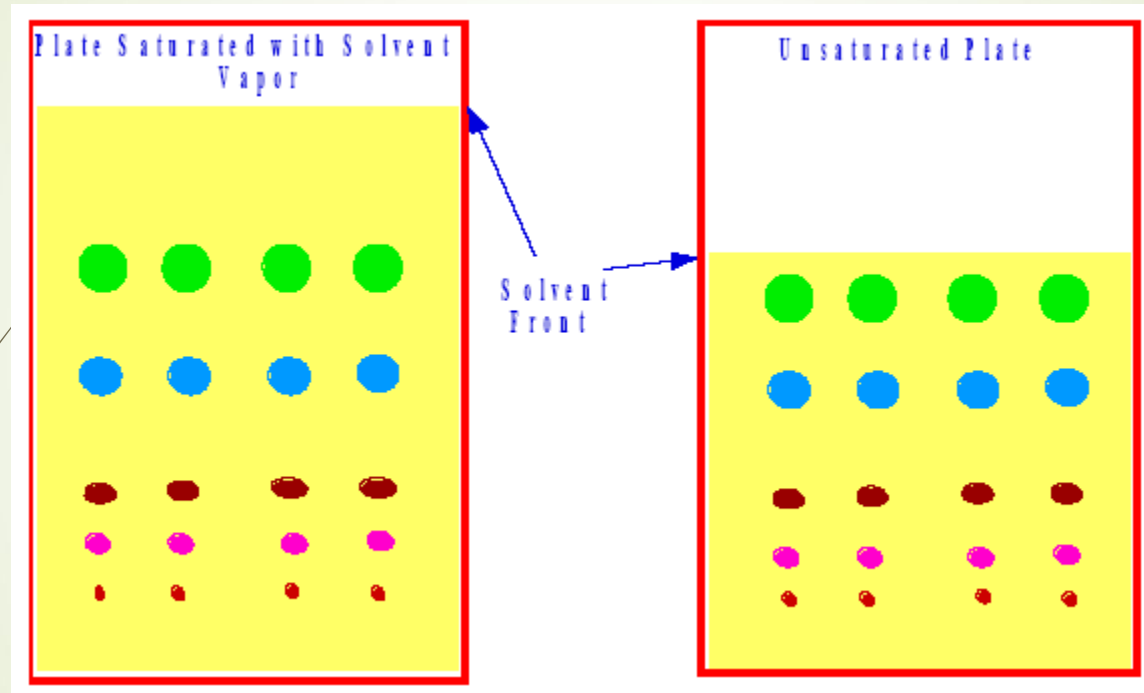
An automatic TLC Plate Sampler



Metode normal Pengembangan plat KLT



peralatan untuk penjenuhan plat KLT



Efek Penjenuhan plat pengembangan plat

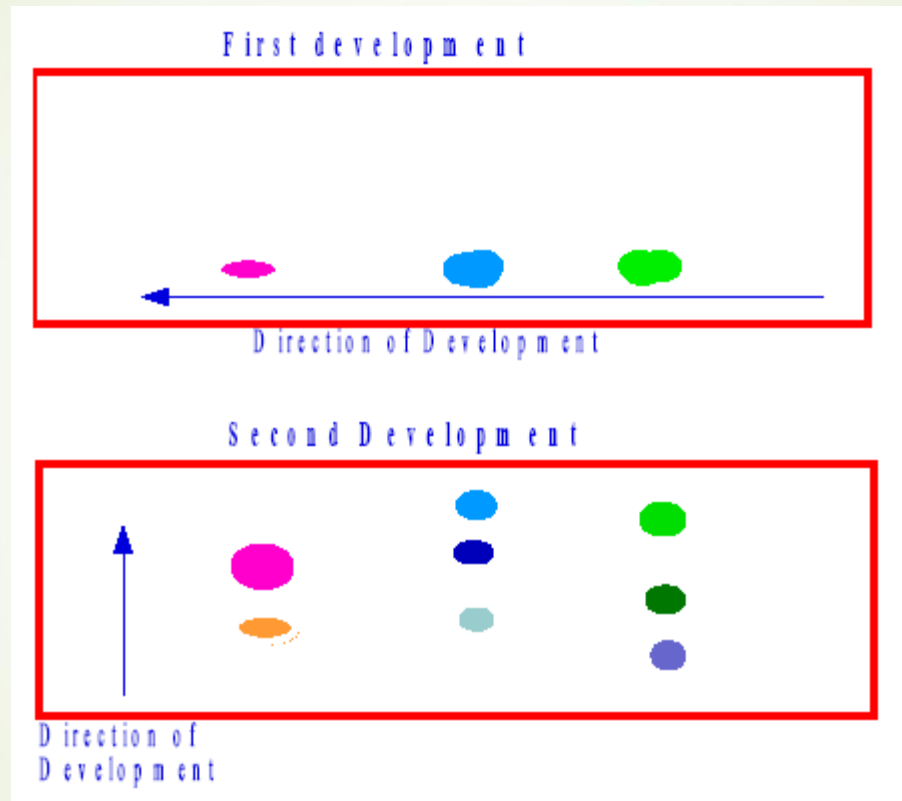
Metode Pengembangan pada KLT

Berdasar arah pengembangan

- Menaik
- Menurun

Berdasarkan Dimensi

- Pengembangan 1 dimensi
 - > 1 tahap
 - > lebih dari 1 tahap
- Pengembangan 2 dimensi



Pemisahan KLT 2 dimensi

Penggunaan KLT

1. Untuk penentuan jumlah komponen dalam campuran.
2. Untuk penentuan identitas antara dua campuran.
3. Untuk memonitor perkembangan reaksi.
4. Untuk penentuan keefektifan pemurnian.
5. Untuk penentuan kondisi yang sesuai untuk pemisahan pada kromatografi kolom.
6. Untuk memonitor kromatografi kolom .



Bagaimana mendapatkan komposisi fase gerak yang baik untuk KLT?

1. Cari di pustaka (jika ada)
2. Jika tidak ada, cari yang sifatnya mirip
3. Jika tidak ada yang mirip lakukan percobaan
 - a. Lakukan eluasi dengan fase gerak paling non polar
 - b. Lakukan kenaikan kepolaran secara gradien
 - c. Evaluasi hasil, dan tentukan komposisi yang paling baik



Contoh Peningkatan Kepolaran secara Gradien

Metanol:diklorometana: (1:10)

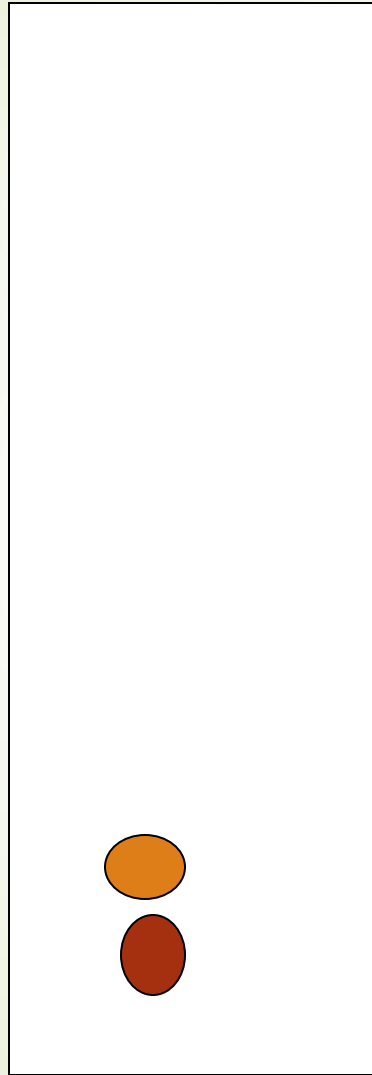
Metanol: diklorometana : (2:10)

Metanol: diklorometana : (3:10)

Metanol: diklorometana : (4:10)

Metanol: diklorometana : (5:10)

Dst.



Tingkatkan kepolaran

R_f sebaiknya 0,5



Turunkan kepolaran

R_f sebaiknya 0,5

KLT untuk Identifikasi

- Umumnya parameter yang digunakan Rf
 - Totolkan, Jika ada senyawa pembanding
 - Gunakan lebih dari satu sistem eluen / fase gerak
 - Jika perlu gunakan fase diam yang berbeda
 - Jika mungkin gunakan penampak bercak yang khas
- Anda dapat gunakan data Rf dari pustaka sebagai pembanding
- Anda dapat menggunakan KLT Scanner untuk melihat identitas analit
- Jika perlu, anda dapat kerok dan dilakukan iden secara fisikokimia



KLT untuk Kuantitatif

- Totolkan senyawa pembanding yang diketahui kadarnya
- Gunakan pipet kapiler terukur volumenya / microsiringe
- Hitung luas zona, atau intensitas dari sampel dan bandingkan dengan senyawa pembanding
- Untuk menghitung intensitas anda bisa gunakan KLT scanner atau dikerok dan gunakan spektrofotometer

KROMATOGRAFI KERTAS

- Kromatografi kertas merupakan salah satu metode untuk menguji kemurnian suatu senyawa atau mengidentifikasi suatu zat, dapat digunakan untuk memisahkan suatu komponen dalam sampel, terutama komponen zat warna, berdasarkan distribusi komponen di antara fasa diam dan fasa gerak.
- fasa diam adalah air yang disokong oleh selulosa dari kertas kromatografi. Sedangkan fasa gerak merupakan campuran dari beberapa pelarut organik dan air.
- Contoh fase gerak: n-butanol-asam asetat-air (4:1:5)



<---Start Finish--->



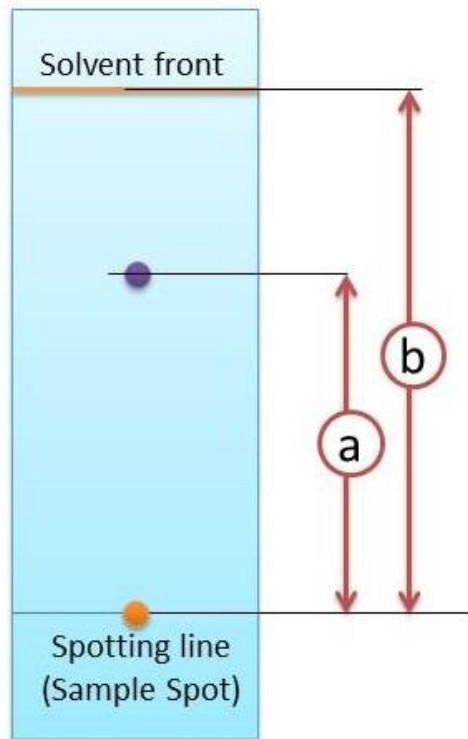
Komponen sampel sebelum dan setelah pemisahan

Pemilihan Kertas

- Pemilihan kertas sangat berpengaruh pada pemisahan dengan kromatografi kertas karena ukuran pori-pori kertas mempengaruhi kecepatan aliran pelarut
- Kertas kromatografi merupakan kertas berpori dari selulosa murni, memiliki afinitas besar terhadap air dan pelarut polar lain dengan membentuk ikatan hidrogen.
- Kertas yang banyak digunakan saat ini adalah kertas saring Whatmann No. 1

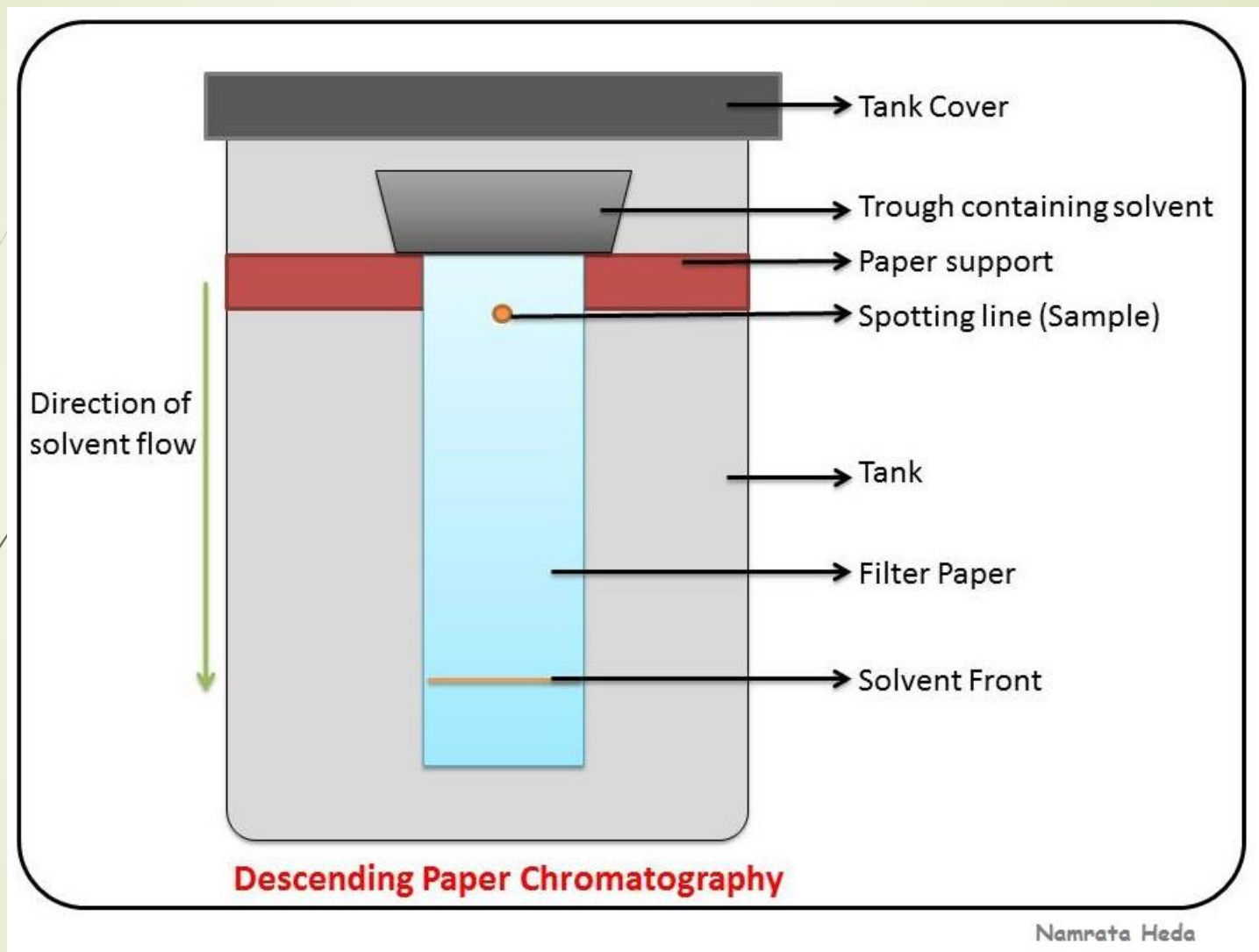
Pelarut organik yang sering digunakan sebagai fasa gerak pada kromatografi kertas

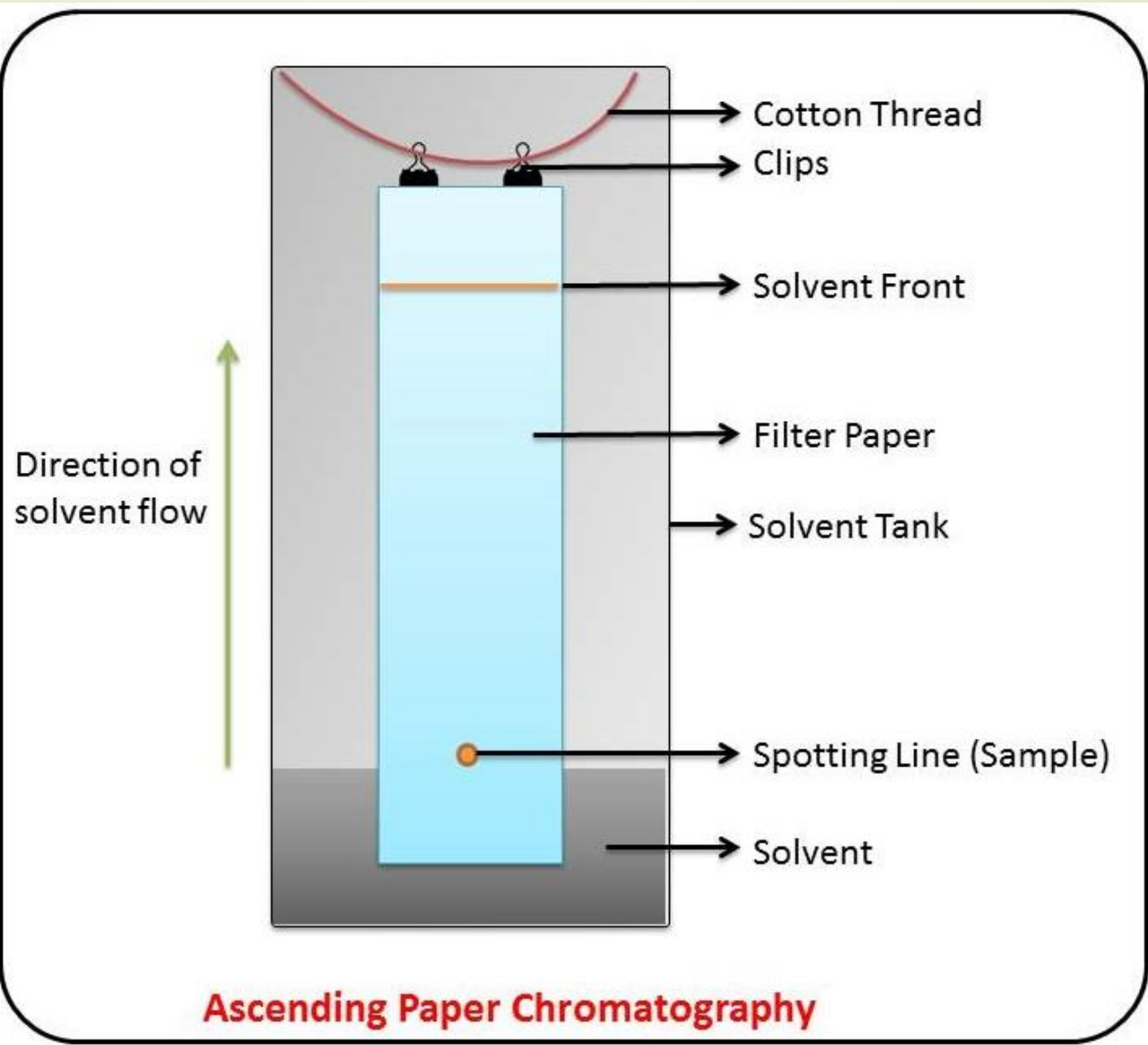
Tingkat Kepolaran	Pelarut Organik
Non polar	Parafin cair
	Petroleum eter
	Sikloheksana
	Karbon tetraklorida
	Benzena
	Toluena
	Kloroform
	Dietil eter
	Etil asetat
	Aseton
	n-propanol
	Etanol
	Asetonitril
	Methanol
Polar	Air



$$R_f = \frac{\text{distance travelled by the component}}{\text{distance travelled by the solvent}}$$
$$= \frac{a}{b}$$

Calculating the Retention Factor Value





Ascending Paper Chromatography

