

MODUL PEMBELAJARAN

PRAKTIKUM TEKNOLOGI PEMISAHAN

KROMATOGRAFI CAIR VAKUM dan KROMATOGRAFI KOLOM

KROMATOGRAFI CAIR VAKUM

Kromatografi cair vakum merupakan kromatografi kolom yang dikemas kering biasanya dengan penjerap mutu kromatografi lapis tipis (10-40 μm) dalam keadaan vakum.

- Memisahkan crude extract menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana
- Berguna untuk fraksinasi kasar yang cepat terhadap suatu ekstrak. Kondisi vakum adalah alternatif untuk mempercepat aliran fase gerak dari atas ke bawah. Metode ini sering digunakan untuk fraksinasi awal dari suatu ekstrak non polar atau ekstrak semipolar

Prinsip KCV

Prinsip : adsorpsi dan partisi yang dipercepat dengan bantuan pompa vakum.

Keuntungan : prosesnya cepat dan senyawa tertarik secara sempurna.

Kerugian :

pemisahanya tidak sempurna karena senyawa yang ditampung bercampur dalam suatu penampungan tidak seperti pada kolom konvensional yang dipisahkan berdasarkan warna, sehingga pemisahannya lebih maksimal

KROMATOGRAFI KOLOM

Kromatografi kolom adalah kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran

Ukuran kolom tergantung dari banyaknya sampel.

Secara umum perbandingan diameter: panjang kolom= 1:10 - 1:30.

Perbandingan jumlah sampel dan penjerap umumnya 30 mg/gram penjerap.

Banyak digunakan dalam pemisahan senyawa-senyawa organik dan konstituen-konstituen yang sukar menguap

Tujuan:

Memisahkan zat menggunakan kromatografi kolom dan mendapatkan fraksi- fraksi

Contoh fase diam : silica gel 60

Cara mengisi kolom

- a. Cara kering
- b. Cara basah
- c. Kemas basah

a. Cara kering

Selapis pasir diletakkan ke dalam kolom, penjerap dituangkan ke dalam tabung sedikit demi sedikit. setelah semua penjerap dimasukkan, di atasnya diletakkan kertas saring dan ditambah lagi selapis pasir (sand) sehingga jika ditambahkan pelarut permukaan penjerap tidak terganggu. Kemudian pelarut pengelusi dibiarkan mengalir ke bawah melalui penjerap dengan kolom terbuka sampai permukaan pelarut tepat sedikit di atas bagian atas kolom.

b. Cara basah

Selapisan pasir dimasukkan ke dalam kolom dan tabung diisi sepertiganya dengan pelarut. Pelarut yang dipakai pada proses pengemasan mungkin sama dengan pelarut yang akan dipakai 20 untuk kromatografi atau pelarut yang kepolarannya lebih rendah. Penjerap dibuat lumpuran dengan bagian lain dari pelarut dan lumpuran ini dituangkan ke dalam pelarut di dalam tabung. Lumpuran dapat dimasukkan bagian demi bagian atau sekaligus. Keran dapat dibuka atau ditutup selama penambahan asal permukaan pelarut tetap di atas permukaan penjerap.

c. Kemas basah

Kolom kemas-basah dapat dibuat dengan mengisi tabung setengahnya dengan pelarut, lalu penjerap kering dimasukkan ke dalamnya berupa aliran halus melalui corong kecil. Penjerap dibiarkan mengendap, jika penjerap dimasukkan seluruhnya sekaligus biasanya diperoleh kolom yang sangat baik. Sepotong kertas saring diletakkan di atas penjerap serta ditambahkan selapis pasir yang telah dicuci untuk menutupi kertas saring.

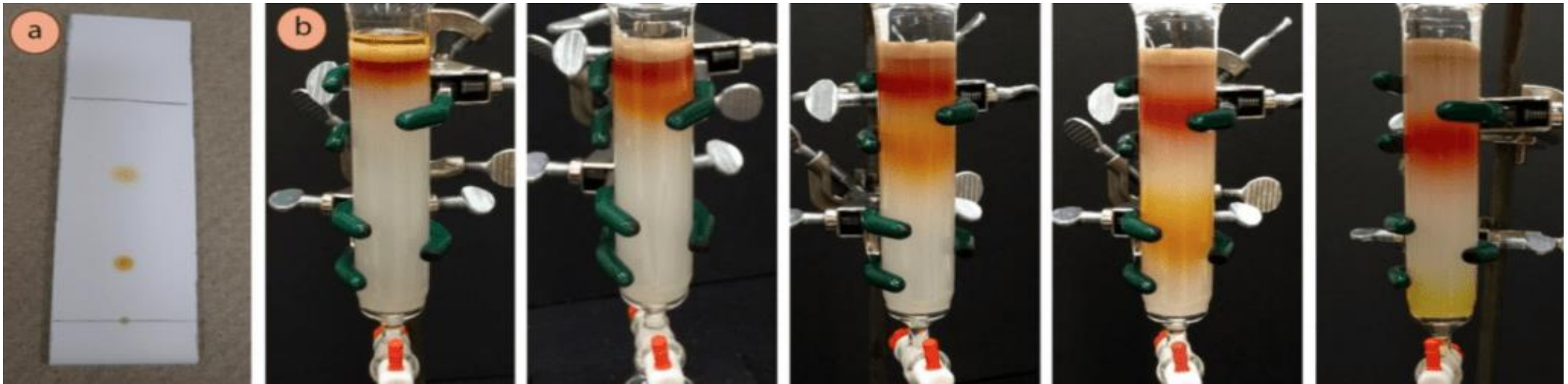
Manfaat

1. Pemisahan dan pemurnian ekstrak tanaman
2. Pemisahan dan pemurnian protein, enzim, karbohidrat

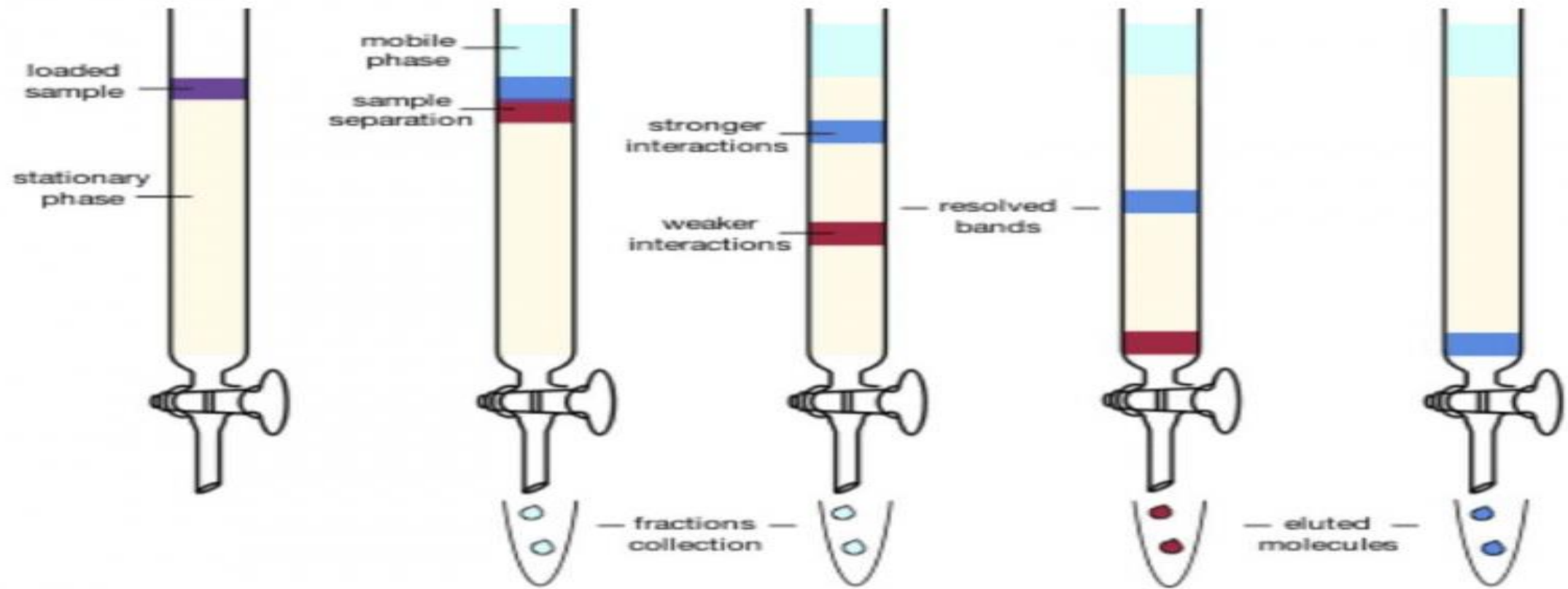
Cara elusi berdasarkan komposisi fase gerak

1. Isokratik
2. gradien

Keterkaitan KLT dengan kromatografi kolom



- a. Kromatogram Lapis Tipis untuk menjajagi fase gerak yang sesuai untuk kromatografi kolom
- b. Kromatografi kolom menggunakan fase gerak hasil KLT



Kromatografi kolom untuk pemurnian

Kelebihan dan kekurangan kromatografi kolom

Kelebihan:

1. Cukup selektif terutama untuk senyawa-senyawa organik multi komponen.
2. Murah dan sederhana karena umumnya tidak memerlukan alat yang mahal dan rumit.

Kekurangan kromatografi kolom :

1. Manual
2. Memerlukan kemampuan teknis untuk mempersiapkan kolom
3. Memerlukan waktu yang lama (*time consuming*).

Buka link berikut untuk video pembelajaran

- <https://www.youtube.com/watch?v=IBNhu4kJ4Mc>
- <https://bit.ly/VideoPembelajaranPrakTekPem>