

**LABORATORIUM FARMAKOLOGI-FITOKIMIA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA**

C.5



**KELOMPOK
1**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA
MAKASSAR
2015**

BAB I

PENDAHULUAN

Prinsip Kerja Alat

Kromatotron memiliki prinsip sama seperti kromatografi klasik dengan aliran fase gerak yang dipercepat oleh gaya sentrifugal. Kromatografi jenis ini menggunakan rotor yang dimiringkan dan terdapat dalam ruang tertutup oleh plat kaca kuarsa, sedangkan lapisan penyerapnya berupa plat kaca yang dilapisi oleh silika gel. Plat tersebut dipasang pada motor listrik dan diputar dengan kecepatan 800rpm. Pelarut pengelusi dimasukkan ke bagian tengah pelarut melalui pompa torak sehingga dapat mengalir dan merambat melalui lapis tipis karena gaya sentrifugal. Untuk mengetahui jalannya proses elusi dimonitor dengan lampu UV (Hostettmann, 1995).

Gas Nitrogen dialirkan kedalam ruang plat untuk mencegah pengembunan pelarut pengelusi dan mencegah oksidasi sampel. Pemasukan sampel itu diikuti dengan pengelusan menghasilkan pita2 komponen berupa lingkaran sepusat. Pada tepi plat, pita2 akan terputr keluar dengan gaya sentrifugal dan ditampung dalam botol fraksi, cek dg KLT (Hostettmann, 1995).

Sampel yang akan digunakan dipisahkan sebagai larutan, dekat pusat disk yang berputar dilapisi dengan penyerap lapisan tipis. Elusi dengan bentuk pelarut melingkar band dari komponen terpisah yang berputar

keluar dari tepi rotor bersama-sama dengan pelarut. Sebuah sistem pengumpulan baru membawa eluat ke sebuah tabung yang diluar.

Kapasitas : mencapai 500 mg per komponen, 1-2 g total, misalnya dimetil dan dietil ftalat dalam heksana - etil asetat 9: 1 pada lapisan 4 mm silika gel.

Sorbents : Silica gel, alumina dan silika gel - perak nitrat; tidak berguna dengan RP sorben.

Pelarut : Kompatibel dengan semua pelarut kromatografi, termasuk asam asetat; tidak cocok untuk digunakan dengan mineral asam.

(Asian Journal of Pharmacy and Life Science, 2011).

Suatu metode pemisahan komponen kimia yang berdasarkan prinsip partisi dan absorpsi, komponen kimia bergerak berdasarkan perbedaan kelarutan dan kepolaran tiap-tiap komponen dalam cairan pengembang yang pemisahannya dipercepat dengan gaya sentrifugal, dengan menggunakan lempeng kaca bundar dengan diameter 24 cm. hasil pemisahan ditampung dalam vial sebagai fraksi, dan fraksi tersebut dapat pula dikumpulkan melalui pengerukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Alat

1. Uraian kromatotron

Sentrifugal kromatografi lapis tipis adalah teknik kromatografi preparatif yang menggunakan gaya sentrifugal untuk pemisahan sistem multi-komponen. Sebuah instrumen yang biasa digunakan dalam teknik ini diberi nama sebagai kromatotron (Asian Journal of Pharmacy and Life Science, 2011).

Ciri khas penyiapan kromatotron adalah sentrifugal dipercepat, radial, kromatografi lapis tipis. Sampel yang akan dipisahkan digunakan, sebagai larutan, dekat dari pusat disk yang berputar dilapisi dengan lapisan tipis dari sorben. Elusi dengan bentuk pelarut band dari komponen terpisah yang berputar melingkar keluar dari tepi rotor bersama-sama dengan pelarut. Sebuah sistem pengumpulan baru membawa eluat untuk satu output tabung (Asian Journal of Pharmacy and Life Science, 2011).

2. Keuntungan

Keuntungan khusus (Asian Journal of Pharmacy and Life Science, 2011):

- Tidak ada "bercak" sampel atau gesekan band.
- Pemisahan selesai dengan cepat, biasanya dalam 20 menit.
- Sebuah UV tutup transparan memungkinkan pengamatan langsung dari UV menyerap atau berwarna senyawa selama pemisahan.
- Ketebalan lapisan 1, 2, 4 atau 8 mm memberikan tinggi daya tampung. Lapisan penyerap mudah diregenerasi di situ untuk digunakan kembali.
- Pelarut yang digunakan hemat. Elusi gradien mudah. Suasana nitrogen mencegah oksidasi sampel.
- Compact (mudah dipindahkan dari laboratorium ke laboratorium), beberapa kontrol, tidak ada tekanan tinggi.
- Senyawa tanpa kromofor terdeteksi di fraksi dielusi dengan TLC konvensional.
- Koneksi ke indeks dan UV monitor bias tidak direkomendasikan.
- Bisa digunakan dengan kolektor fraksi meskipun tangan Koleksi memadai.

Keuntungan:

- Cara kerja sederhana.
- Cepat pemisahan biasanya selesai dalam 30 menit.
- Tidak perlu mengerok pita.
- Pemakaian pelarut tidak boros.

- Rotor yang sudah dilapisi dapat diregenerasi.
- Pencemar yang terekstraksi dari penjerap lebih sedikit daripada yang terekstraksi pada KLT preparatif.
- Penotolan sampel mudah.
- Dapat dilakukan pengembangan landaian bertahap.
- Kemungkinan oksidasi senyawa yang peka lebih kecil daripada pada cara KLT preparatif.
- Perolehan kembali senyawa yang dipisah lebih besar daripada KLT preparatif.

3. Kerugian

- Fase diam yang dapat dipilih terbatas.
- Rotor yang sudah dilapisi tidak ada dalam perdagangan.
- Daya pisah terbatas.
- Cara pendeteksian terbatas.
- Sistem pengumpul mungkin tercemari

4. Pembuatan plat kromatotron

Table 1. Composition of recipes used to prepare rotors using different experiments.

Recipe/ Expt. #	Sorbent layer, mm	C-18 Silica gel (g)	C-8 Silica gel (g)	Binder 1 Elmer's (g/mL)	Binder 2 Silicate (g/mL)	UV 254 (g)	UV 366 (g)	Solvent 1 Water (mL)	Solvent 2 CH ₃ CN (mL)	Solvent 3 Acetone (mL)
1	1	30		2.5 / 10 ^a	-	-	-	30	-	50
2	2	60		-	2 / 10	0.9	0.6	30	60	-
3	1	35		4 / 10 ^b	0.5 / 5	-	-	10	40	-
4	2	45		5.5 / 10 ^b	1 / 10	0.45	0.45	20	50	-
5	1	40		5 / 10 ^b	0.8 / 10	0.4	0.4	20	40	-
6	4	100		11 / 15 ^a	2 / 10	1	1	40	100	-
7	2	50		6 / 10 ^a	1 / 10	0.85	0.5	20	50	-
8	1		45	5.5 / 10 ^a	1 / 10	0.8	0.45	20	50	-

^a 10 mL water.

^b 5 mL acetonitrile and 5 mL water.

(United States Patent Application Publication, Illias et al, 2014).

Pemisahan dengan kromatografi radial menggunakan plat kaca yang berbentuk bundar dilapisi dengan bubuk silika gel 60 *PF254* dan akuades dingin. Ketebalan silika gel yang dipakai sesuai dengan banyaknya sampel yang akan dipisahkan yaitu: 1 mm, 2 mm dan 4 mm. Perbandingan antara silika gel dengan akuades dingin yang ditetapkan yaitu untuk 1 mm (45:90), 2 mm (65:130) dan 4 mm (115:200) (Repostury universitas of Riau, 2013).

Pembuatan plat kaca dilakukan dengan mencampurkan silika gel dan akuades dingin sesuai perbandingan yang telah ditentukan. Bubur tersebut diratakan pada pelat kaca, pada bagian pinggir atau tepi plat diberi selotip agar bubuk silika gel tidak tumpah kemudian bubuk diratakan dengan suatu alat dengan cara memutar plat pada satu arah secara perlahan. Setelah plat selesai dibuat, plat dapat dikeringkan selama ± 24

jam atau dapat dikeringkan dalam oven pada suhu 60-70°C (Repostury universitas of Riau, 2013).

Plat kromatografi radial (kromatotron) yang telah dibuat dipasang pada poros listrik dan diputar pada 800 rpm. Ketebalan fasa diam 1-4 mm dan sampel yang dapat dipisahkan sebanyak 0,1-1 g. Pada awal pemisahan pelarut yang digunakan mulai dari kepolaran rendah kemudian ditingkatkan kepolaran secara bergradien. Rotor terdapat dalam ruang yang tertutup dengan plat kaca kuarsa. Penutup ini memungkinkan kita mengamati bercak tak berwarna tetapi dapat menyerap sinar UV dengan memakai lampu UV. Hasil pemisahan kromatografi radial ditampung didalam vial (Repostury universitas of Riau, 2013).

Resep baru ini menggantikan resep 1 yang didasarkan pada gel silika PF (Merck 7749). Saat ini sudah ada persyaratan untuk melindungi lapisan dari angin selama pengeringan (Harrison Research, 2014).

Lapisan baru dapat dikeringkan dengan salah satu dari beberapa metode:

1. Exposure ke udara dengan atau tanpa kipas angin.
2. Heating dengan lampu 60 watt di atas rotor
3. Oven pengeringan pada suhu tidak lebih tinggi dari 50 ° C .

Ukuran dan Komposisi Pembuatan Plat Kromatotron

Ketebalan Lapisan	1mm	2mm	4mm	8mm
Silika Gel (KLT standar)	33 g	45 g	75 g	137 g
CaSO₄ hemihidrat	13 g	18 g	30 g	55 g
Air (0-10 °C)	82 mL	112 mL	187 mL	343 mL

Silica gel TLC kelas standar (berisi 254 nm indikator neon) adalah Sigma - Aldrich item no . 288586. Kalsium hemihydrate sulfat (plester dari Paris, gypsum kering) tersedia dari berbagai pemasok bahan kimia tetapi bahan dari toko hardware biasanya dari kualitas yang lebih baik .

Tutup lapisan dan memungkinkan untuk mengatur selama setidaknya 1 jam sebelum pengeringan .

Ukuran Wadah

Ketebalan Lapisan	1mm	2mm	4mm	8mm
Ukuran Wadah	250-400 mL	300-400 mL	400-600 mL	750-1100 mL

Untuk pencampuran mudah, tabung harus tidak lebih dari 70 % penuh dengan sorben kering .

5. Faktor pertimbangan

Ada dua faktor yang dipertimbangkan dalam sentrifugal TLC: laju fase gerak dan laju rotasi.

a. Laju fase gerak

Seiring dengan resolusi, waktu pemisahan tergantung pada tingkat fase gerak mengalir. Tingkat aliran tinggi mempercepat Proses pemisahan tetapi membutuhkan volume yang lebih besar dari pelarut.

b. Laju rotasi

Laju elusi serta faktor pemisahan tergantung pada tingkat rotasi dari sistem kromatografi. Itu pemisahan maksimum / resolusi dicapai pada tingkat rendah rotasi sistem kromatografi. Resolusi tertinggi dapat diperoleh pada laju alir menengah dan kecepatan putaran.

B. Gambar Alat

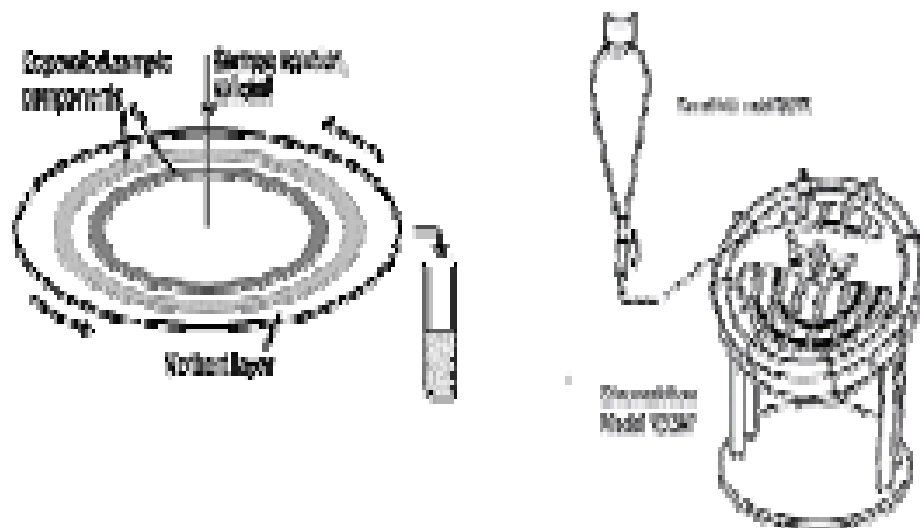


Figure 1: The Chromatotron



Fase stasioner digunakan adalah penyerap dilapisi sebagai lapisan tipis pada rotor yang digerakkan oleh motor. Sampel solusi untuk menjadi dipisahkan diterapkan pada rotor melalui inlet dan sumbu. Pada Saat elusi dilakukan dengan menggunakan fase gerak, band konsentris zat terpisah terbentuk. Seperti pembangunan berlangsung, band konsentris zat dipisahkan datang ke tepi rotor dan meninggalkan rotor. Saluran mengumpulkan eluat yang dan membawanya ke tabung keluaran. Berbagai komponen instrumentasi termasuk wadah utama, pompa pelarut, rotor, tutup teflon, sumbu dan pembuluh koleksi (Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015).

Bagian-bagian alat dan fungsinya (Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2015):

1. Wadah Utama

wadah utama terdiri dari polimer asetal. Setelah kromatografi selesai, pelarut yang melunakkan atau membengkak asetal harus dicuci dengan heksana. Asam asetat, trimetil amina dan amonia dapat digunakan sebagai aditif fase mobile. Kerusakan pada bagian plastik kapal dapat dikurangi dengan melewati nitrogen.

2. Pompa Solvent

Aliran fase gerak dapat diatur dengan pompa. Di Selain itu, dapat digunakan untuk pengenalan larutan sampel. Laju aliran fase gerak dapat bervariasi untuk berbagai ketebalan fase diam seperti yang diberikan dalam tabel 1.

Tabel 1: Laju aliran di ketebalan sorben yang berbeda Ketebalan Sorbent Layer (mm) Flow Rate (ml / menit)

Thickness of Sorbent Layer (mm)	Flow Rate (ml/min)
1	2-3
2	4-6
4	8-10
6 & 8	10-15

3. Rotor

Fase diam yang terdiri dari disk melingkar dilapisi dengan Lapisan penyerap disebut sebagai rotor. Rotor memiliki lubang di pusat sehingga bisa diperbaiki pada motor instrumen. Rotor dengan

berbagai ketebalan lapisan sorben yang tersedia dan berdasarkan ketebalan lapisan sorben; jumlah sampel yang akan diambil bervariasi (Tabel 2).

Tabel 2: Contoh beban untuk ketebalan sorben yang berbeda.

Sorbent Lapisan Tebal (mm) Contoh Beban (mg)

Sorbent Layer Thickness (mm)	Sample Load (mg)
1	250
2	750
4	1500
6 & 8	2500-4000

4. Teflon tutup

Sebuah UV transparan Teflon tutup tertutup di kapal utama yang memungkinkan pengguna untuk mengawasi bergerak Band.

5. Wick

Fungsi utama dari sumbu adalah untuk membawa solusi sampel ke rotor. Sumbu umumnya terdiri dari berbulu tipis tali polyester. Kapas jahit atau benang tidak direkomendasikan.

6. Koleksi wadah

Saluran koleksi yang dirancang khusus di pinggiran rotor mengumpulkan fase gerak eluting. Sebagai kapal utama adalah dipasang agak miring, gravitasi memainkan peran dalam pengeringan eluen.

C. Cara Penggunaan Alat

Pembuatan plat kaca dilakukan dengan mencampurkan silika gel dan akuades dingin sesuai perbandingan yang telah ditentukan. Bubur tersebut diratakan pada pelat kaca, pada bagian pinggir atau tepi plat diberi selotip agar bubur silika gel tidak tumpah kemudian bubur diratakan dengan suatu alat dengan cara memutar plat pada satu arah secara perlahan. Setelah plat selesai dibuat, plat dapat dikeringkan selama ± 24 jam atau dapat dikeringkan dalam oven pada suhu 60-70°C (Repostury universitas of Riau, 2013).

Plat kromatografi radial (kromatotron) yang telah dibuat dipasang pada poros listrik dan diputar pada 800 rpm. Ketebalan fasa diam 1-4 mm dan sampel yang dapat dipisahkan sebanyak 0,1-1 g. Pada awal pemisahn pelarut yang digunakan mulai dari kepolaran rendah kemudian ditingkatkan kepolaran secara bergradien. Rotor terdapat dalam ruang yang tertutup dengan plat kaca kuarsa. Penutup ini memungkinkan kita mengamati bercak tak berwarna tetapi dapat menyerap sinar UV dengan memakai lampu UV. Hasil pemisahan kromatografi radial ditampung didalam vial (Repostury universitas of Riau, 2013).

BAB II

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Kromatotron merupakan suatu alat kromatografi yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen kimia yang ada dalam suatu sampel menggunakan gaya sentrifugal dgn kecepatan 800rpm.
2. Prinsip metode ini dgn pemisahan komponen kimia yang berdasarkan prinsip partisi dan absorpsi, komponen kimia bergerak berdasarkan perbedaan kelarutan dan kepolaran tiap-tiap komponen dalam sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Asian Journal Of Pharmacy And Life Science, Naval Kulkarni Et Al, 2011, "*Centrifugal Thin Layer Chromatography*" Diakses Pada Tanggal 8 April 2015.
- Harrison Research, 2014, <http://www.sbwave.com/chromatotron/index.html>
- Repostury universitas of Riau, 2013, Perpustakaan Universitas Riau, Diakses Pada Tanggal 8 April 2015.
- United States Patent Application Publication, Illias Et Al, 2014, "*Preparation Of Pre-Coated Rp-Rotors And Universal Chromatorotors, Chromatographic Separation Devices And Methods For Centrifugal Preparative Chromatography*" Diakses Pada Tanggal 8 April 2015.
- Varsha Agrawal Et al, 2015, "*Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry, Centrifugally Accelerated Thin Layer Chromatography For Isolation Of Marker Compounds And Bioactives*" Diakses Pada Tanggal 8 April 2015.

