

Nama : Widia Putri Rahayu

NPM : 1914121004

PS : AGT

Resume Materi Teknik Laboratorium Produk Hortikultura

- ***HPLC (High Performance Liquid Chromatography)***

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) atau KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan metode analisis sampel yang kerap digunakan dalam industri maupun laboratorium analisis farmasi. Selain itu HPLC juga merupakan alat laboratorium yang bekerja dengan metode fisikokimia, didasarkan pada teknik kromatografi dimana fase geraknya berupa cairan dan fase diamnya bisa berupa memiliki bentuk padat atau cair. Analisis HPLC yang dilakukan dengan menggunakan pompa LC-10ADvp dan ELSD, beroperasi pada 60°C dan tekanan nitrogen 230 kPa. Prinsip HPLC menggunakan prinsip kromatografi untuk mengukur sampel. Dalam kromatografi, analisis dilakukan dengan cara memisahkan molekul berdasarkan perbedaan struktur ataupun komposisinya. Pemisahan tersebut terjadi saat sampel bergerak melewati fase diam (dapat berupa zat padat atau cair) karena terbawa oleh fase gerak (dapat berupa zat cair atau gas).

Metode HPLC yang digunakan pada Jurnal Penentuan katekin, kafein, dan asam galat secara simultan dalam teh hijau, Oolong, hitam, dan pu-erh menggunakan HPLC dengan detektor array fotodiode adalah Analisis HPLC dilakukan pada kromatografi cair beckman yang dilengkapi dengan pompa pelarut ganda model 125, lalu dilakukan pemisahan selama penelitian menggunakan altech 18, panjang gelombang akuisisi PDA diatur dalam kisaran 200-400 nm, dan dilakukan pengaturan saluran keluaran analog A dan B, terakhir dilakukan elusi gradien dengan memvariasikan proporsi pelarut A. Percobaan dilakukan dengan pencampuran bahan kimia yang dibuat menggunakan air suling dan kemudian air deionisasi. Semua bahan kimia lainnya adalah kelas reagen analitis dan digunakan tanpa pemurnian lebih lanjut. Kemudian sampel teh dan persiapan ekstrak tea dan

analisis HPLC. Keberhasilan dalam menggunakan metode HPLC adalah terjadi pemisahan dalam zat cair. Selain itu, HPLC juga dapat digunakan untuk mengukur sampel.

Metode HPLC elusi gradien berhasil untuk pemisahan kuantitatif dan penentuan asam fenolik dalam jus cranberry. Hal tersebut dikarenakan adanya gradien yang sederhana, cepat, dan tepat dengan fase gerak untuk pemisahan simultan sehingga dapat mengidentifikasi serta dapat menentukan kuantisasi katekin individu, kafein, dan asam fonalik dalam teh hijau. Dengan metode HPLC yang dilakukan juga dapat mengidentifikasi asam fenolik bebas utama yaitu, asam galat. Dengan demikian, ditemukan empat katekin utama dalam jus cranberry yaitu, EGCG, EGC, EKG, dan EC. Adanya hasil tersebut menandakan bahwa metode HPLC dapat digunakan untuk pemisahan kuantitatif dalam penentuan asam fenolik dalam jus cranberry.

Secara umum, Prinsip kerja HPLC adalah melakukan pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Keuntungan menggunakan HPLC diantaranya adalah pekerjaan akan lebih mudah dilakukan dengan automasi dalam prosedur analisis dan pengolahan data, dapat menganalisis sampel dengan kuantitas yang kecil, dan mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran dengan daya pisah tinggi. Ciri khas HPLC yang membedakannya dari metode kromatografi lain adalah penggunaan pompa bertekanan tinggi yang mendorong fase gerak dan sampel melewati fase diam. Salah satu bagian komponen pada HPLC yaitu injektor yang berfungsi sebagai tempat masuknya sampel ke dalam sistem HPLC. Proses injeksi dapat dilakukan secara manual dengan syringe atau dengan menggunakan sistem injeksi otomatis. Injektor pada HPLC harus dapat menampung sampel cairan dalam kisaran volume 0.1-100 mL

- **GCMS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*)**

GCMS (Gas Chromatography Mass Spectrometry) atau juga dikenal kromatografi gas spektrometri massa merupakan metode yang mengkombinasikan kromatografi

gas (GC) dan spektrometri massa (MS) sendiri memiliki kegunaan untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. Keunggulan instrumen GCMS adalah resolusi dan sensitivitas tinggi, spesifik, fleksibel (mudah digabung dengan instrumen fisika/kimia lainnya), dapat memberikan informasi struktur, dan efisien (membutuhkan jumlah sampel sedikit, waktu pemisahan yang dibutuhkan relatif cepat). Analisis GCMS dilakukan pada jurnal Analisis Senyawa Kimia Kayu Minyak Gaharu Dari Berbeda Spesies Dengan Gas Chromatografi Mass Spectrometry (GCMS) terhadap senyawa kimia minyak gaharu dari spesies yang berbeda dilakukan dengan menggunakan sistem kromatografi gas, yaitu Agilent 7890A atau *Agilent Technologies* yang digabungkan dengan detektor quadrupole MSD 5975C. Selanjutnya pemisahan analit dengan kromatografi gas dilakukan dengan menggunakan kolom kapiler silika Hewlett Packard Hp-5MS dengan ukuran 30 mm x 0.25 mm x 0.25 mm. Inokulasi kayu gaharu dengan GC-MS dilakukan secara artifisial dengan menggunakan *A. agolla* Robx.

Langkah pertama persiapan sampel dalam penelitian senyawa kimia pada kayu minyak gaharu dengan menggunakan GC-MS dilakukan dengan memproduksi tiga jenis minyak gaharu dari sumber yang berbeda dengan teknik hidrodistilasi. Selanjutnya, masing-masing sampel diberi label A (*A. malaccensis* dari Malaysia), B (*A. sub-integrasi* dari Thailand), dan C (campuran antara *A. malaccensis* dan *A. sub-integrasi* dari Malaysia, grade C). Selanjutnya, hasil minyak esensial yang diperoleh diencerkan dengan menggunakan heksana 5% sebelum analisis GC-MS dilakukan. GC-MS lebih banyak digunakan untuk menganalisis Polutan Organik Persisten (POPs), misalnya untuk menganalisis pestisida yang terkandung dalam bahan pangan, bahan kimia industri, produk yang tidak sengaja dihasilkan PCDD (*Poly Chlorinated Dibenzop-Dioxins*), PCDF (*Poly Chlorinated Dibenzo Furans*), karakterisasi tanaman (lignin, inositol, lemak, karbohidrat, asam lemak, flavonoid, dan antioksidan), metabolomics misalnya fitohormon, dan untuk analisa flavor.

Secara umum, GCMS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan kromatografi gas (GC) dan spektrometri massa (MS). Setiap senyawa mempunyai pola m/z yang berbeda-beda, sehingga kita dapat mengidentifikasi suatu senyawa dengan membandingkan dengan pola spektra library. Prinsip kerja GC-MS adalah sampel yang berupa cairan diinjeksikan ke dalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap dibawa oleh gas pembawa menuju kolom untuk proses pemisahan. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan melalui ruang pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Keunggulan instrumen GCMS adalah memiliki resolusi dan sensitivitas tinggi, spesifik, fleksibel atau mudah digabung dengan instrumen fisika/kimia lainnya, dapat memberikan informasi struktur, dan efisien atau membutuhkan jumlah sampel sedikit, waktu pemisahan yang dibutuhkan relatif cepat. Sedangkan kelemahan dari GCMS adalah kurang cocok untuk analisa senyawa labil pada suhu tinggi karena akan terdekomposisi pada awal pemisahan.

- **AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*)**

SSA (Spektrofotometri Serapan Atom) atau AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) merupakan metode analisis yang digunakan untuk menghitung kuantitas dari unsur-unsur logam dan metalloid berdasarkan pada penyerapan absorbansi radiasi oleh atom bebas pada fase gas. AAS adalah alat yang digunakan untuk menentukan kandungan logam dengan kategori logam berat maupun logam ringan. Jenis logam yang menjadi andalan pengujian adalah logam Aluminium (Al), Molibdenum (Mo) dan Silika (Si). Prinsip kerja Spektrofotometri serapan atom yaitu adanya atom-atom yang tereksitasi dalam keadaan dasar dan mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan standar Kalsium (Ca).

Dalam analisis spektroskopi serapan atom api (FAAS), viskositas harus serupa dengan air yang dirancang untuk sebagian besar nebulizer. Jika konsentrasi yang diukur memenuhi kriteria utama dari metode spektroskopi yang digunakan (sensitivitas, rentang dinamis) dan kemungkinan interferensi terkendali, analisis

larutan dapat dilakukan secara otomatis dengan semua sistem spektroskopi atom modern. Hanya beberapa pelarut organik, seperti etanol atau metil isobutil keton, yang memenuhi kondisi ini dan akibatnya sering digunakan untuk pengenceran cairan organik, kelemahan utama yang dihadapi dengan teknik ini adalah faktor pengenceran, yang mengurangi kandungan logam per satuan volume.⁶ Standar dapat dibuat dalam pelarut murni. Unsur dalam pelarut organik biasanya memberikan respons analisis FAAS yang serupa dengan yang diberikan oleh unsur yang sama dalam larutan berair.

- **SEM-EDX (*Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray*)**

Pemindaian mikroskop elektron dengan sistem analisis sinar-X energi dispersif (SEM-EDX). Pemindaian mikroskop elektron adalah teknik yang kuat yang dapat digunakan untuk menyelidiki pengikatan ion logam pada rumput laut. SEM memungkinkan evaluasi perubahan morfologi pada permukaan, misalnya perubahan komposisi dinding sel setelah ion logam mengikat. Ketika SEM dikombinasikan dengan teknik EDX, dapat memberikan masukan yang berharga dalam menentukan distribusi berbagai elemen di permukaan rumput laut. Harus ditekankan bahwa SEM hanya menyediakan estimasi kualitatif dari struktur permukaan.

Spektroskopi emisi optik plasma yang digabungkan secara induktif (ICP-OES). Metode ini sebagai teknik tambahan untuk memperoleh informasi kuantitatif mengenai perubahan komposisi unsur biomassa atau larutan yang digunakan. Tahap pertama dilakukan proses Bioakumulasi dua larutan algalmedium, yang mengandung ion Cu (II) dan Zn (II), disiapkan dalam air deionisasi dengan melarutkan sejumlah $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Proses bioakumulasi berlangsung selama dua minggu pada suhu kamar dan siang hari. Setelah proses ini, larutan disaring melalui kertas saring. Komposisi larutan dianalisis dengan ICP-OES, sedangkan biomassa diperiksa dengan SEM-EDX. Tahap kedua dilakukan analisis multielemen oleh ICP-OES. Sebelum dan sesudah proses bioakumulasi, sampel dianalisis dengan spektrometer emisi optik plasma yang digabungkan secara induktif Varian VISTA-MPX ICP-OES dengan nebulizer

ultrasonik di Laboratorium Kimia Analisis Multielemen di Universitas Teknologi Wrocław.

Tahap ketiga adalah dilakukan analisis dengan Scanning Electron Microscopy (SEM-EDX). Makroalga hijau dengan biomassa mikro juga diperiksa dengan pemindaian mikroskop elektron. Sampel makroalga difiksasi dalam 2,5% glutaraldehid (Sigma). Kemudian semua sampel didehidrasi dengan etanol (dari konsentrasi 30% sampai 100%). Pada tahap selanjutnya makroalga disiapkan dalam dua bidang untuk pengamatan penampang dan permukaannya. Langkah-langkah tsb umumnya merupakan bagian paling kritis dari analisis karena mereka bertanggung jawab atas kesalahan yang paling penting. Hanya beberapa metode langsung yang memungkinkan pengenalan sampel tanpa persiapan apa pun. Dalam kasus ini, kurangnya kalibrasi yang andal adalah masalah utama. Di sisi lain, preparasi sampel memungkinkan pemisahan dan atau prakonsentrasi analit dan memungkinkan penggunaan beberapa metode penentuan.

Secara umum, Scanning Electron Microscope (SEM) adalah jenis mikroskop elektron yang menghasilkan gambar sampel dengan memindai permukaan dengan sinar elektron yang terfokus dengan perbesaran hingga skala tertentu. Sedangkan Energy Dispersive X-Ray (EDX) adalah salah satu teknik untuk menentukan komposisi atom pada material, dasar dari analisis EDX adalah pelacakan dan pengukuran dari sifat-sifat sinar-X yang dibangkitkan oleh electron-elektron cepat. EDX digunakan untuk mengetahui komposisi unsur dari material. Alat Fine Coater merupakan alat untuk melapisi material yang bersifat non konduktor dengan lapisan metal. Prinsip kerja SEM adalah sebagai sebuah pistol elektron memproduksi sinar elektron dan dipercepat dengan anoda. Lensa magnetik memfokuskan elektron menuju ke sampel dan sinar elektron yang terfokus memindai keseluruhan sampel dengan diarahkan oleh koil pemindai.