



**PEMISAHAN ASAM AMINO (ARGININ, ASAM GLUTAMAT,  
ASAM ASPARTAT) DENGAN HPLC MENGGUNAKAN  
DETEKTOR POTENSIOMETRI ELEKTRODA  
TUNGSTEN OKSIDA**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Qurrata Ayun  
NIM. 041810301040**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2009**

## **PERSEMBAHAN**

Puji syukur saya panjatkan pada Allah SWT, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Skripsi ini saya persembahkan dengan segenap cinta dan kasih kepada orang-orang yang teristimewa:

Kedua orangtuaku yang sangat aku cintai, yang tidak pernah putus dalam mendo'akanku, mendidikku dengan penuh kasih sayang dan kesabaran. Semoga Allah SWT membalasnya dengan balasan yang sebagus-bagusnya, baik di dunia maupun di akhirat.

Kakek dan nenek, mas lukman, mas iyonk, mbak luluk, mas emink dan mbak ada, terima kasih atas dukungan, motivasi dan semua kasih sayangnya.

Guru-guruku sejak Taman Kanak-Kanak sampai Perguruan Tinggi, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran

Almamaterku tercinta, Kimia FMIPA Universitas Jember.

## **MOTTO**

*“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,  
maka apabila kamu telah selesai dari sesuatu urusan,  
kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain  
dan  
hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”*

*(terjemahan Q.S Alam Nasyrah: 6-8)*

*“Ketika kau merasa sendirian dan teman-temanmu sibuk untuk menghubungi  
Allah SWT selalu berada di sampingmu.....  
Ketika kau mendambakan sebuah cinta sejati yang tak kunjung datang,  
Allah SWT mempunyai cinta dan kasih yang lebih besar dari segalanya  
dan  
DIA telah menciptakan seseorang yang akan  
menjadi pasangan hidupmu kelak”*

*- Indrianizahratushitta -*

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Qurrata Ayun

NIM : 041810301040

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pemisahan Asam Amino (Arginin, Asam Glutamat, Asam Aspartat) dengan HPLC menggunakan Detektor Potensiometri Elektroda Tungsten Oksida* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Februari 2009

Yang menyatakan,

Qurrata Ayun

NIM 041810301040

**SKRIPSI**

**PEMISAHAN ASAM AMINO (ARGININ, ASAM GLUTAMAT,  
ASAM ASPARTAT) DENGAN HPLC MENGGUNAKAN  
DETEKTOR POTENSIOMETRI ELEKTRODA  
TUNGSTEN OKSIDA**

Oleh

Qurrata Ayun

NIM 041810301040

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Zulfikar, PhD

Dosen Pembimbing Anggota : Asnawati, S.Si., M.Si.

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pemisahan Asam Amino (Arginin, Asam Glutamat, Asam Aspartat) dengan HPLC Menggunakan Detektor Potensiometri Elektroda Tungsten Oksida* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari :

tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

Drs. Zulfikar, PhD

Asnawati, S.Si., M.Si

NIP. 131 660 785

NIP. 132 240 146

Penguji I,

Penguji II,

A.A. Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si

Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D

NIP. 132 162 523

NIP. 132 056 180

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D.

NIP. 131 592 357

## RINGKASAN

**Pemisahan Asam Amino (Arginin, Asam Glutamat, Asam Aspartat) dengan HPLC Menggunakan Detektor Potensiometri Elektroda Tungsten Oksida;** Qurrata Ayun, 041810301040; 2009: 46 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Asam amino memegang peranan penting dalam metabolisme tubuh, sebagai monomer penyusun protein. Campuran asam amino atau protein dapat dipisahkan dengan berbagai macam metode, salah satunya adalah kromatografi. Dua parameter utama yang digunakan untuk mengukur kinerja dari suatu proses pemisahan adalah daya pisah dan kecepatan proses pemisahan dengan indikator waktu. Teknik pemisahan modern yang telah banyak digunakan dan memenuhi kedua parameter tersebut salah satunya adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

HPLC terdiri dari beberapa komponen, salah satunya adalah detektor yang memegang peranan penting dalam merespon komponen sampel yang terelusi. Detektor yang digunakan pada penelitian ini adalah potensiometri yang memanfaatkan tungsten oksida sebagai elektroda kerja dan Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding. Tungsten oksida ini mengukur perubahan pH yang terjadi. Asam amino dalam larutan dapat menghasilkan ion  $H^+$  yang akan mengakibatkan perubahan pH larutan, sehingga menyebabkan beda potensial diantara dua elektroda.

Penelitian ini bertujuan untuk (i) mengetahui adanya pengaruh laju alir, konsentrasi acetonitril dan pH buffer dalam mendeteksi asam amino (asam glutamat, asam aspartat dan arginin); (ii) mengetahui respon dari detektor potensiometri (tungsten oksida-Ag/AgCl) terhadap hasil pemisahan asam amino (asam glutamat, asam aspartat dan arginin); (iii) mengetahui karakteristik teknik HPLC dengan detektor potensiometri tungsten oksida-Ag/AgCl yang meliputi linieritas, limit deteksi, dan sensitifitas.

Penelitian ini melakukan pemisahan terhadap asam amino (arginin, asam glutamat dan asam aspartat) dengan melakukan beberapa optimasi terlebih dahulu, yaitu: optimasi laju alir, optimasi konsentrasi acetonitril dan optimasi pH buffer. Kondisi optimum yang telah didapatkan, selanjutnya digunakan untuk proses pemisahan.

Kinerja sensor dalam mendeteksi asam amino(asam glutamat, asam aspartat dan arginin) dalam penelitian ini diperoleh sensitivitas 4 mV/dekade untuk asam glutamat, 8,8 mV/dekade untuk asam aspartat dan 4,3 mV/dekade untuk arginin, sedangkan limit deteksi untuk asam glutamat  $1,58 \times 10^{-7}$  M, untuk asam aspartat  $6,58 \times 10^{-8}$  M dan untuk arginin  $6,51 \times 10^{-8}$  M.

Hasil penelitian didapatkan kondisi optimum (asam glutamat, asam aspartat dan arginin) adalah sebagai berikut : laju alir 1,2 mL/menit, konsentrasi acetonitril 15% serta pH optimum pada penelitian ini adalah buffer fosfat pH 6,5.



## PRAKATA

Puji syukur alhamdulillah ke hadirat Allah Yang Maha Esa atas rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis (skripsi) yang berjudul *Pemisahan Asam Amino (Arginin, Asam Glutamat, Asam Aspartat) dengan HPLC Menggunakan Detektor Potensiometri Elektroda Tungsten Oksida* dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Sholawat dan salam tercurahkan kepada junjungan Nabiullah akhirujjaman yang telah menjadi pembawa rahmatan lil'alamiin.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D selaku dekan FMIPA UNEJ;
2. Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia;
3. Kepala Laboratorium Kimia Analitik, Kimia Organik, Biokimia dan Kimia Dasar;
4. Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama, Ibu Asnawati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Ibu Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen penguji I dan Bapak Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji II dan ibu Yeni maulidah S.Si. yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk penyempurnaan skripsi ini;
5. Ibu Tanti Hariyati, S.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan masukan dan motivasi dalam penyelesaian skripsi sekaligus penyelesaian studi di Jurusan Kimia;
6. Seluruh staf dosen pengajar di Jurusan Kimia, Mas Budi dan seluruh teknisi laboratorium;
7. Rekan kerja penelitian: Heni Masruroh dan Rema Ayu yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian, memberikan semangat dan motivasi sehingga penelitian dapat terselesaikan dengan baik. Anak-anak Laboratorium Kimia Analitik 03 (Mas Yuzkil, Mas Embah dan juga mbak Aix);

8. Teman-teman seperjuanganku (kimia 2004) antara lain Heni Pu, Dewi, Rara, Ute, Nopretz, Yeniz, Nopan, Gembonk, Ayix dan Cici terima kasih atas bantuan dan semangatnya. Tak lupa juga terima kasih untuk, Lutpi, Aga, ajenk, Deva, Niam, Prima, Yury dan Norma terima kasih semuanya. Kakak-kakak dan adik-adik di jurusan kimia UNEJ terima kasih;
9. Mbak titin, mbak uli, mbak ratih, mas mul, mas gito dan juga de awi terimakasih semuanya. Keceriaan adek-adekku Ulil, Oby, Wildan, Lula, Fathan, Ata, Yasmin dan juga Hanum yang memberiku semangat untuk menatap masa depan.
10. Saudara-saudaraku yang ada di "Jl. Kalimantan gg kelinci 4" antara lain tutun, ndut dan juga ci' terima kasih atas hari-hari yang menyenangkan di kosan. Serta Emon, Pendul, Duyunk, mbak Anis dan juga teman kos yang lain terima kasih atas dukungan dan kehangatan keluarga selama tinggal bersama;
11. Dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, saya ucapkan terima kasih;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Besar harapan penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Amin.

Jember, Februari 2009

Penulis,



**PEMISAHAN ASAM AMINO (ARGININ, ASAM GLUTAMAT,  
ASAM ASPARTAT) DENGAN HPLC MENGGUNAKAN  
DETEKTOR POTENSIOMETRI ELEKTRODA  
TUNGSTEN OKSIDA**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Qurrata Ayun  
NIM 041810301040**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2009**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Batasan Masalah</b> .....	3
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.5 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Asam Amino</b> .....	5
2.2.1 Asam Glutamat.....	7
2.2.2 Asam Aspartat.....	7
2.2.1 Arginin .....	8
<b>2.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</b> .....	8
2.2.1 Prinsip Dasar .....	8
2.2.2 Kromatografi Fase Normal Dan Fase terbalik .....	9

2.3 Fase Gerak.....	11
2.4 Pompa.....	13
2.5 Injektor.....	14
2.6 Kolom.....	15
2.7 Detektor.....	16
2.7.1 Detektor UV.....	17
2.7.2 Detektor Elektrokimia.....	17
2.7.1.1 Potensiometri.....	17
2.7.3 Elektroda Tungsten Oksida.....	20
2.8 Waktu Retensi.....	21
2.9 Karakteristik Sensor.....	22
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan.....	25
3.3 Diagram Alir Penelitian .....	27
3.4 Prosedur Penelitian	
3.4.1 Penyiapan Larutan Asam Amino Standar.....	28
3.4.2 Penyiapan Larutan Buffer .....	29
3.4.3 Pembuatan Sel Elektrokimia .....	29
3.4.3 Pembuatan Elektroda .....	29
3.4.5 Optimasi Flow Rate.....	30
3.4.6 Optimasi pH Buffer.....	30
3.4.7 Optimasi Konsentrasi Acetonitril.....	30
3.4.8 Karakteristik Sensor Secara Potensiometri.....	30
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Preparasi Fase Gerak ( <i>Eluen</i> ).....	33
4.2 Kondisi optimum Pemisahan Asam Glutamat, Asam aspartat dan Arginin.....	34
4.2.1 Laju Alir ( <i>Flow Rate</i> ) optimum.....	34

4.2.2 Konsentrasi Acetonitril optimum.....	35
4.2.3 pH Buffer optimum.....	37
<b>4.3 Karakteristik Sensor.....</b>	<b>38</b>
4.3.1 Linieritas.....	38
4.3.2 Sensitivitas.....	40
4.3.3 Limit Deteksi.....	40
4.3.4 Reprodusibilitas.....	40
<b>4.3 Test Recovery.....</b>	<b>41</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>47</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 2.1</b> Karakteristik dari kromatografi normal phase dan reversed phase .....	11
<b>Tabel 2.2</b> Sifat-sifat pelarut .....	12
<b>Tabel 2.3</b> Beberapa detektor yang digunakan pada HPLC.....	16
<b>Tabel 4.1</b> Nilai Kv asam amino arginin, asam glutamat dan asam aspartat.....	41

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur umum asam Amino .....	5
Gambar 2.2 Bentuk nonionik dan dipolar (zwiterion) asam amino .....	7
Gambar 2.3 Struktur asam L-glutamat.....	7
Gambar 2.4 Struktur asam aspartat .....	8
Gambar 2.5 Struktur arginin .....	8
Gambar 2.6 Reaksi silanasi .....	10
Gambar 2.7 Penentuan limit deteksi .....	23
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian.....	27
Gambar 4.1 Desain asam amino secara HPLC .....	32
Gambar 4.2 Tipe Kromatogram .....	34
Gambar 4.3 Optimasi Flow Rate.....	35
Gambar 4.4 Optimasi Konsentrasi Acetonitril.....	36
Gambar 4.5 Korelasi antara Konsentrasi acetonitril dengan Time Retention.....	37
Gambar 4.6 Optimasi pH Buffer .....	37
Gambar 4.7 Kromatogram Kurva Kalibrasi.....	39
Gambar 4.8 Kurva Kalibrasi .....	40
Gambar 4.9 Kromatogram Pemisahan .....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Prosedur Preparasi Bahan dan Reagen.....	47
B. Data pada Optimasi Flow Rate.....	52
C. Grafik pada Optimasi Flow Rate.....	55
D. Data pada Optimasi Konsentrasi Acetonitril.....	58
E. Grafik Pada Optimasi Konsentrasi Acetonitril.....	61
F. Data pada Optimasi pH Buffer .....	64
G. Grafik pada Optimasi Buffer....	67
H. Data pada Kondisi Optimum.....	70
I. Kurva Kalibrasi .....	73
J. Tes Recovery .....	75