

PEMISAHAN LARUTAN MENJADI FRAKSI-FRAKSINYA MENGUNAKAN KHROMATOGRAFI ANNULAR KONTINYU

Diah S Retnowati *)

Abstract

Chromatography can be used for analysis or separation. This review describes continuous annular chromatography for separation of enantiomers or isomers. These type molecules are hardly separated with conventional separation, and therefore need a good separation method. Continuous Annular Chromatography consists of a rotating annular bed. The annulus is formed between two concentric cylinders, and the resin is packed in the annulus. At fix position at the top of the bed, four solutions are continuously fed, the feed mixture to be separated, a displacer solution, a regenerator and a rinse. The Annulus is slowly rotated with the result that different zones will formed helices of characteristic angle which can be collected at variations fixed points around the bottom of the bed.

Keywords : Annular, Chromatography, continuous, separation

Pendahuluan

Khromatografi, seperti alat proses lain yang melibatkan perpindahan massa, mengubah komposisi campuran umpan tanpa melibatkan proses kimia. Sebagai alat analisis, khromatografi digunakan untuk memisahkan komponen dari campurannya dalam jumlah kecil dan bekerja secara batch. Banyak penelitian dilakukan untuk menjajaki sebagai alat pemisahan yang melibatkan jumlah umpan yang besar. Teknik pemisahan dengan khromatografi, mempunyai potensi untuk pemisahan dalam skala besar, khususnya untuk campuran yang terdiri dari komponen-komponen yang mempunyai bobot molekul sama, misalnya molekul isomer dan enansiomer, seperti protein, asam amino dll. Molekul-molekul ini sangat susah dipisahkan dengan proses pemisahan biasa/konvensional, sehingga memerlukan cara pemisahan yang lebih baik.

Permasalahan Teknis dalam Pemisahan.

Pemisahan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai obat, yang biasanya hanya menargetkan pada satu jenis molekul enansiomer saja (karena jenis senyawa enantiomer yang lain bersifat racun), diperlukan pemisahan dengan teknik khromatografi. Keberhasilan pemisahan dengan khromatografi tergantung pada afinitas komponen terhadap sorbent, gerakan fluida, panjang kolom dan kecepatan aliran fluidanya.

Pemisahan dengan Khromatografi

Ada empat jenis proses pemisahan yang dapat dilakukan dengan teknik khromatografi, yaitu proses cair-cair, cair-padat, "ion exchange", dan "size exclusion". Dari empat proses diatas, dibedakan menjadi "analytical" atau "elution chromatography" dan "displacement chromatography". "Analytical chromatography" (Khromatografi analitis) dirancang untuk memisahkan campuran menjadi komponen-komponennya dengan kemurnian tinggi dalam jumlah kecil, sehingga hanya cocok untuk proses pemisahan untuk keperluan analisis. Sedangkan "displacement chromatography", dapat dipakai untuk memisahkan 10 sampai 50 kali lebih banyak dibandingkan "analy-

tical chromatography" (Partridge dan Brim-ley, 1950). Jenis khromatografi yang populer digunakan untuk bekerja kontinyu adalah "rotating chromatography" yang ditemukan oleh Martin and Fox (1969). Teknik "continuous rotating chromatography" sangat potensial digunakan untuk pemisahan bahan-bahan biokimia skala besar seperti pada industri bahan makanan dan farmasi (Kitakawa dkk, 1977).

Tulisan ini akan membicarakan prinsip kerja dari "displacement chromatography", dan penerapannya, khususnya untuk memisahkan asam amino, serta kapasitas pemisahan yang pernah dilakukan.

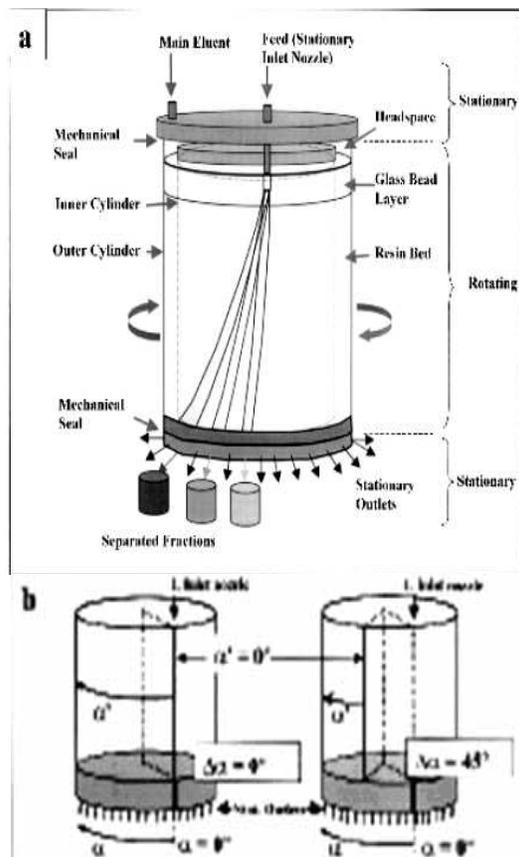
Prinsip Kerja khromatografi annular kontinyu (CAC)

Alat ini terdiri dari dua kolom konsentris yang berputar, serta bed berbahan isian yang berada diantara dua silinder tersebut. Pada bagian atas bed, umumnya terdapat empat tempat pemasukkan, yaitu untuk pemasukkan umpan yang akan dipisahkan, larutan pengganti, larutan untuk regenerasi dan larutan pencuci. Vogel dan kawan kawan (2002), menggunakan "Continuous Annular Chromatography" (CAC) untuk mengisolasi *Recombinat Protein Drugs* dengan 5 buah lubang pemasukan dan 90 buah tempat pengeluaran dengan masing-masing menempati juring annulus seluas 4° (Gambar 1a.)

Campuran umpan, yang mengandung senyawa B dan C dimasukkan dari atas dan bed berputar pada sumbu secara perlahan dengan kecepatan perputaran $0 - 900^\circ/\text{jam}$ atau $0 - 10$ putaran per menit / rpm (Uretschager dan Jungbauer, 2002). Komponen-komponen umpan mempunyai afinitas berbeda terhadap bahan isian (adsorbent) sehingga akan mengalir sepanjang kolom dengan tangent arah yang berbeda pula (relatif terhadap tempat pemasukkan umpan) serta membentuk pola **spiral** yang berbeda, dan keluar pada bagian dasar kolom pada tempat-tempat tertentu. Sudut elusi pada operasi CAC, Θ , dihubungkan dengan waktu elusi (waktu pemisahan), t , pada operasi bed dengan persamaan (De Carli dkk, 1990),

$$\Theta = \omega t \quad (1)$$

*) Staf Pengajar Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Undip



Gambar 1.

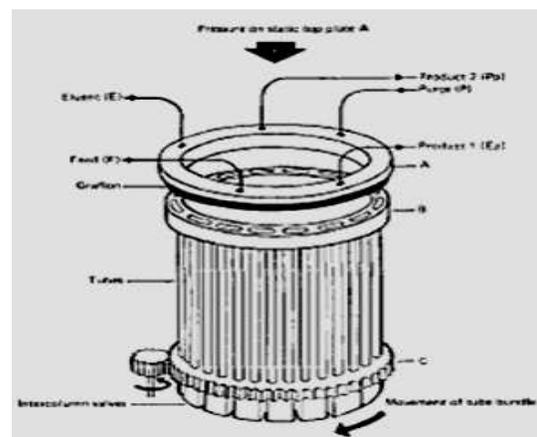
- Prinsip dari Sistem Anullar Chromatography yg bekerja Kontinyu.
- Posisi pengeluaran dinyatakan dengan $\alpha = 0-360^\circ$ ($\alpha = 0^\circ$ posisi dibawah tempat pemasukkan). Posisi relatif terhadap bed dinyatakan dalam $\alpha = 0-360^\circ$ Kolom (bed) posisi relatif terhadap suatu tempat tetap dinyatakan $\Delta \alpha$.

dengan ω adalah kecepatan putaran. Komponen yang mempunyai afinitas paling kecil terhadap sorbent akan terambil sebagai produk dengan sudut elusi paling kecil terhadap titik masuk umpan. Sebaliknya, produk yang mempunyai afinitas paling besar akan keluar sebagai hasil pada titik dengan sudut elusi yang paling besar (terhadap umpan). (lihat Gambar 1b.). "Displacer"(senyawa D), mempunyai afinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa B dan C, dan akan menggantikan posisi A dan B. Senyawa A dan B keluar sebagai hasil pada bagian bawah bed. Senyawa D kemudian diregenerasi dengan menggunakan larutan yang mengandung senyawa mula-mula yang terkandung dalam sorbent dan proses ini dilakukan berulang-ulang. Lapisan komponen berbentuk spiral yang terjadi dengan tangent arah (*slope*) tertentu tergantung pada kecepatan "eluent", kecepatan perputaran bed, dan koefisien distribusi komponen seperti yang terlihat pada Gambar 1. Lapisan yang terbentuk sepanjang silinder selalu tetap, sehingga sistem ini termasuk

proses kontinyu dan mantap. Sebagai contoh, pada tulisan ini akan dijelaskan mengenai pemisahan campuran asam amino dengan "displacement chromatography" pada sistem annular khromatografi kontinyu.

Pemisahan dengan khromatografi secara kontinyu dapat dilakukan dengan cara "cross current", maupun "counter current". Disebut "cross current" jika gerakan bed dalam sistem khromatografi membentuk sudut 90° dengan arah aliran "eluent". Beberapa susunan alat dengan aliran cross-current banyak dikemukakan oleh para peneliti, antara lain Dinelli dan kawan-kawan (Uretschlager dan Jungbauer,2002) membuat sebuah unit yang terdiri dari beberapa kolom konsentris (dengan annulus) dan setiap kolom bekerja seperti kolom yang bekerja batch. Aliran model "cross current" secara teoritis mempunyai kelebihan, yaitu mempunyai kemampuan untuk memisahkan campuran multikomponen secara kontinyu (Barker dkk, 1977). Alat ini sudah dipakai untuk memisahkan sikloheksana dan benzen dengan kapasitas sampai $200 \text{ cm}^3/\text{jam}$ (Baker dkk, 1977). Penerapan sistem ini baik dengan susunan pipa parallel yang melingkar (lihat Gambar. 2), atau hanya satu silinder konsentris saja, akan mempunyai keterbatasan untuk di scale-up yang disebabkan oleh masalah mekanik dan kesulitan untuk memperoleh rapat massa bed yang seragam.

Pada aliran "counter current" packing atau fase statis bergerak berlawanan dengan arah "eluent"(fase bergerak). Umumnya khromatografi dengan aliran counter current dibatasi untuk sistem gas-cair, tetapi pada akhir-akhir ini sudah mulai diperluas pemaikaannya untuk sistem cair-cair. Sistem aliran ini bisa dicapai dengan model unggun bergerak atau unggun pancar (fluidisasi). Aliran counter current mempunyai kelebihan karena luas perpindahan massanya yang besar, sehingga dapat melibatkan pemisahan



Gambar 2. Kromatografi dengan susunan beberapa kolom

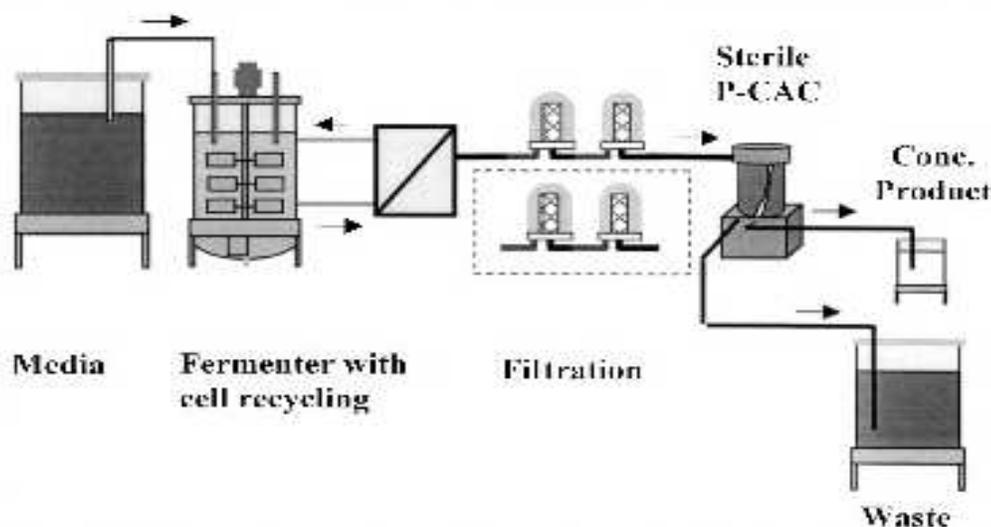
dalam jumlah banyak. Tetapi cara ini, mempunyai banyak kendala antara lain : penanganan padatan susah, terjadinya pencampuran balik (back mixing), pengikisan packing yang menyebabkan biaya operasional tinggi, serta laju alir “eluent” harus dibawah kecepatan alir minimum fluidisasi.

Pemisahan Asam Amino dengan resin penukar ion.

Penukar ion banyak dipakai untuk memisahkan campuran asam amino. Interaksi antara asam amino dengan penukar ion tergantung pada pH larutan. Asam amino bersifat amfoter dan dapat dijerap dari larutan dengan resin penukar kation pada pH rendah, dan dilakukan pada pH tinggi jika menggunakan resin penukar anion (De Carli, dan Byers, 1990). Pada pemisahan dengan resin penukar kation, larutan basa kuat digunakan sebagai media pengganti. Pada pH tinggi, asam amino bermuatan negatif dan dilepaskan dari resin oleh larutan pengganti (displacer), tergantung pada tetapan ionisasi dan afinitas masing-masing asam amino terhadap resin. De Carli dan Byers (1990) memisahkan campuran asam L-glutamat, L-valine dan L-Leucine dengan menggu-

nakan resin penukar ion Dowex 50 W-X8 dengan ukuran 37 – 55 µm, dan “displacer” berupa larutan NaOH. Konsentrasi ketiga asam amino yang diperoleh masing-masing mencapai 99 %.

Kemungkinan Khromatografi Annular Kontinyu (CAC) digunakan untuk keperluan industri ditunjukkan oleh Vogel dkk (2002) dengan mengisolasi *Recombiant Protein Drug* dengan kapasitas 144 – 288 l/hari. Pada penelitian tersebut digunakan bed konsentris dengan diameter dalam 13 cm dan bed bagian luar dengan diameter luar 15 cm, dan luas annulusnya 44 cm², yang berisi resin penukar anion dengan ukuran 10 – 60 µm. Bed berputar dengan kecepatan 10 rpm. Penelitian ini mencoba untuk membuat proses yang kontinyu dan terintegrasi dengan proses fermentasi/isolasi (Gambar 2.). Dengan dihasilkannya produk secara kontinyu maka kebutuhan akan tempat penyimpanan bahan baku dan waktu tinggal bahan baku sampai menjadi produk dapat dikurangi atau bahkan tidak diperlukan sama sekali. Sehingga kerusakan bahan baku akibat penyimpanan dapat diminimalkan



Gambar 2. Proses pembuatan obat dari protein recombinant yang terdiri dari fermentor dan unit pemisahannya.

Kesimpulan

Khromatografi digunakan untuk proses pemisahan dalam skala yang lebih besar, khususnya untuk senyawa enantiomer seperti yang telah dilakukan oleh industri pemroses makanan dan obat-obatan. Khromatografi annular yang bekerja kontinyu digunakan untuk pemisahan asam amino pada skala “pilot plant” dan hasil proses fermentasi

Daftar Pustaka

1. Barker, P.E., Hatt, B.W., Williams, A.N., 1977, “Theoretical Aspects of a Preparative Continuous Chromatograph”, *Chromatogr.*, vol. 10, No.7, hal. 377-387.

2. Byers, C.H. and Sisson, W.G., DeCarli II, J.P. and Carta, G., 1990, “Sugar separations on a Pilot Scale by Continuous Annular Chromatography”, *Biotechnol. Prog.*, vol 6, hal. 13-20.
3. De Carli, J.P. and Byers, C.H., 1990, “Displacement Separation by Continuous Annular Chromatography”, *A.I.Ch.E. journal*, vol. 36, No.8, hal. 1220-1227.

4. Kitakawa, A., Yamanishi, Y. and Yonemoto, T., 1997, "Complete Separation of Amino Acids Using Continuous Rotating Annular Ion Exchange Chromatography with Partial Recycle of Effluent", *Ind. Eng. Chem.Res.*, vol. 36, hal. 3809-3814
5. Uretschlager, A. and Jungbauer, A., 2002, "Prepara-tive Continuous Annular Chromatography (P-CAC), a review", *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol.25, hal. 129-140.
6. Vogel, J.H.,Nguyen, H., Pritschet, M., Wegen, R.V.,2002,"Continuous Annular Chromato - graphy : General Characterization Applica-tion for the Isolation of Recombinant Protein Drugs", *Biotechnol. and Bioeng.*, vol. 80, No.5, hal. 559-567.