

**OPTIMASI METODE ANALISIS ASAM AMINO MENGGUNAKAN  
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**



**SKRIPSI**

**FAHMI HARYADIN**

**1508010085**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO**

**AGUSTUS 2019**

**OPTIMASI METODE ANALISIS ASAM AMINO MENGGUNAKAN  
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**



**SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**FAHMI HARYADIN**

**1508010085**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO**

**AGUSTUS 2019**

HALAMAN PENGESAHAN

OPTIMASI METODE ANALISIS ASAM AMINO MENGGUNAKAN  
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

FAHMI HARYADIN  
1508010085

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi  
Pada hari Sabtu tanggal 24 Agustus 2019

SUSUNAN PANITIA

Ketua

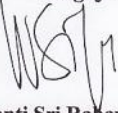
Sekretaris

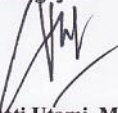
  
Dr. Asmiventi Djalasrin Djalil, M.Si  
NIP. 197405222000122001

  
Ika Nurziah, M.Sc., Apt  
NIK. 2160747

Penguji I

Penguji II

  
Dr. Wiranti Sri Rahayu, M.Si., Apt  
NIK. 2160348

  
Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt  
NIK. 2160218

Mengetahui  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Purwokerto



Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt  
NIK. 2160309

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fahmi Haryadin  
NIM : 1508010085  
Program Studi : S1 Farmasi  
Fakultas : Farmasi  
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto,

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 4 September 2019

Yang membuat pernyataan,

  
Fahmi Haryadin

## **MOTTO**

*“life is like riding a bicycle. To keep your balance you must keep moving”*

Albert Einstein

“Aku tidak pernah mengkhawatirkan apakah doaku akan dikabulkan atau tidak, tapi yang lebih aku khawatirkan adalah aku tidak diberi hidayah untuk terus berdoa.”

Umar Bin Khattab



## HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Kedua orang tua saya yaitu Bapak Drs. Agus Wahyudin dan Ibu Sri Haryati yang tiada hentinya memberikan do'a, semangat serta dukungan terbaik untuk saya dalam menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu dan optimal.
2. Nenek yang paling saya sayangi dan cintai Kasyati, yang senantiasa memberikan doa dan support dalam menyelesaikan skripsi.
3. Adik perempuan yang saya sayangi Fauziah Nuralaeli, yang tak henti pula memberikan support dan doa dalam menyelesaikan skripsi.
4. Untuk teman-teman Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto Angkatan 2015 khususnya ULALA AND FRIENDS, Ardi, Misgi, Rifki, Yogi, Dede, Muji, Iwangga, Januar, Ikhwan Agung, Yuda Anzas, Fitra Yudha, Fathir dan Reza, serta teman-teman satu perjuangan saya yang telah berjuang bersama-sama meraih hasil yang diinginkan.
5. Untuk Dosen Pembimbing Dr. Wiranti Sri Rahayu, M.Si., Apt., serta Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt., yang telah dengan sabar membimbing memberikan arahan dan juga pengalaman terhadap penelitian.
6. Untuk Mandiri Putra *Photo Copy*, terima kasih telah membantu saya dalam menyelesaikan tugas-tugas sejak awal kuliah sampai dengan terselesaikannya skripsi ini.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul Optimasi Metode Analisis Asam Amino Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Penulisan ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Anjar Nugroho, M.S.I., M.H.I., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
2. Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Hukum Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
3. Retno Wahyuningrum, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi yang telah memberi berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi.
4. Dr. Wiranti Sri Rahayu, M.Si., Apt., dan Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah memberikan berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi dan telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Ika Nurzjiah, M.Sc., Apt., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penyempurnaan skripsi ini.
7. Bapak dan ibu serta saudari tercinta yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik material maupun moral; serta
8. Teman yang selalu menemani dalam proses penelitian Reza, Muji, Ardi yang membantu dan memberikan semangat.

Demikian, semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya. Amin.

Purwokerto,4      September  
2019



FAHMI HARYADIN  
1508010085

## RIWAYAT HIDUP

Nama : Fahmi Haryadin  
Tempat, Tanggal Lahir : Ciamis, 25 Agustus 1997  
Jenis Kelamin : Laki-laki  
Agama : Islam  
Riwayat Pendidikan :  
a. Sekolah Dasar : SD N 3 Rejasari (2003-2009)  
b. Sekolah Menengah Pertama : SMP Negeri 4 Banjar (2009-2012)  
c. Sekolah Menengah Atas : SMA Negeri 2 Banjar (2012-2015)  
d. Perguruan Tinggi : Fakultas Farmasi UMP (2015-2019)



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fahmi Haryadin  
NIM : 1508010085  
Program Studi : Farmasi  
Fakultas : Farmasi  
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
Jenis Karya : Skripsi

menyetujui untuk memberikan Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalti- Free Right*) kepada Universitas Muhammadiyah Purwokerto atas karya ilmiah yang berjudul :

Optimasi Metode Analisis Asam Amino Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Purwokerto berhak menyimpan, mengalihmedia/mengalihformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya dengan tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Purwokerto  
Pada tanggal : 4 September 2019  
Yang menyatakan,



Fahmi Haryadin  
1508010085

x

# OPTIMASI METODE ANALISIS ASAM AMINO MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Fahmi Haryadin<sup>1</sup>, Wiranti Sri Rahayu<sup>2</sup>, Pri Iswati Utami<sup>3</sup>

## ABSTRAK

Asam amino pembangun protein adalah asam amino esensial yang tidak dapat disintesis atau tidak dapat dihasilkan oleh tubuh dan asam amino non esensial yang dapat disintesis oleh tubuh. Salah satu metode yang digunakan untuk analisis asam amino adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan KCKT dengan fase diam C-18 untuk menganalisis asam amino dengan derivatisasi menggunakan ninhidrin dan kondisi optimum untuk menganalisis asam amino. Asam amino yang dipisahkan dalam penelitian ini adalah histidin, leusin, metionin. Hasil penelitian yang didapat berupa waktu retensi dan luas area yang didapat dari hasil perbandingan beberapa metode dengan kondisi yang berbeda. Kondisi KCKT yang didapat yaitu fase gerak berupa metanol:air 60:40 fase diam Purospher C18 150 mm x 4,6mm suhu 40<sup>0</sup>C laju alir 1 mL/menit dengan volume injeksi 20 µl deteksi pada 570 nm belum mampu untuk memisahkan campuran asam amino.

**Kata kunci:** Asam Amino, KCKT, Ninhidrin.

# OPTIMIZATION OF AMINO ACID ANALYSIS METHOD USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Fahmi Haryadin<sup>1</sup>, Wiranti Sri Rahayu<sup>2</sup>, Pri Iswati Utami<sup>3</sup>

## ABSTRACT

The amino acids that build proteins are essential amino acids that cannot be synthesized or cannot be produced by the body and non-essential amino acids that can be synthesized by the body. One method used for amino acid analysis is high performance liquid chromatography (HPLC). The purpose of this study was to determine the ability of HPLC with stationary phase C-18 to analyze amino acids with derivatization using ninhydrin and optimum conditions for analyzing amino acids. Amino acids separated in this study were histidine, leucine, methionine. The results obtained in the form of retention time and area size obtained from the comparison of several methods with different conditions. The HPLC conditions obtained were the mobile phase in the form of methanol: water 60:40 stationary phase Purospher C18 150 mm x 4.6 mm temperature 400C flow rate of 1 mL / min with injection volume of 20 µl detection at 570 nm has not been able to separate the mixture of amino acids.

**Key word :** Amino acid, HPLC, Ninhydrin

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>v</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP.....</b>	<b>ix</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI.....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Hasil Penelitian Terdahulu.....	5
B. Landasan Teori.....	6
1. Protein.....	6
2. Asam amino.....	7
3. Analisis asam amino.....	9
4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	10
5. Derivatisasi.....	12
C. Kerangka Konsep.....	15
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>16</b>

A.	Janis dan Rancangan Penelitian.....	16
B.	Variabel Operasional.....	16
C.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
D.	Alat dan Bahan.....	16
1.	Alat.....	16
2.	Bahan.....	16
E.	Cara Penelitian.....	17
1.	Tahap Pelaksanaan.....	17
a.	Preparasi sampel baku asam amino.....	17
b.	Pembuatan larutan penderivatisasi.....	17
c.	Derivatisasi baku asam amino metode 1.....	17
d.	Derivatisasi baku asam amino metode 2.....	17
e.	Derivatisasi baku asam amino metode 3.....	18
F.	Analisis Data.....	19
<b>BAB 1V</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>20</b>
A.	Analisis asam amino metode 1.....	21
B.	Analisis asam amino metode 2.....	23
C.	Analisis asam amino metode 3.....	24
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>27</b>
A.	Kesimpulan.....	27
B.	Saran.....	27
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>28</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>31</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Asam Amino.....	7
Gambar 2.2 Diagram Alat KCKT.....	11
Gambar 2.3 Kromatogram Reaksi Amino Dengan Ninhidrin.....	14
Gambar 4.1 Kerangka Konsep.....	15
Gambar 4.2 Kromatogram Baku Asam Amino Metode 1.....	21
Gambar 4.3 Kromatogram Baku Asam Amino Metode 2.....	23
Gambar 4.4 Kromatogram Baku Asam Amino Metode 3.....	24
Gambar 4.5 Kromatogram Baku Asam Amino Metode ketiga Campuran...	24



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Asam amino esensial.....	8
Tabel 2.2 Asam amino non esensial.....	8
Tabel 3.1 Kondisi KCKT.....	18



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kromatogram Baku Asam Amino Metode 1.....	32
Lampiran 2. Kromatogram Baku Asam Amino Metode 2.....	35
Lampiran 3. Kromatogram Baku Asam Amino Metode 3.....	48

