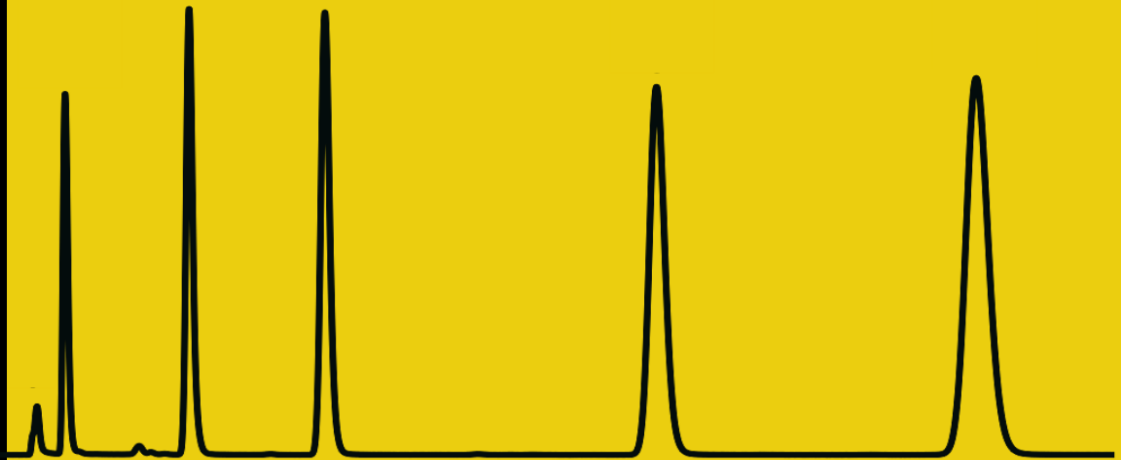


Isolasi Senyawa dengan Metode Kromatografi



Dr.rer.nat. Tanti T. Irianti, M.Sc., Ph.D
Prof. Dr. H. M. Kuswandi, Apt., SU. M. Phil
Dr. Retno Wahyuningrum, S.Farm., M.Si., Apt.
Dr. Purwanto, M. Sc., Apt.
Natasha Nur Fadilah, S.Si

ISOLASI SENYAWA DENGAN METODE KROMATOGRAFI

Dr. rer.nat. Tanti T. Irianti, M. Sc., Apt.

Prof. Dr. H. M. Kuswandi, Apt., SU. M.Phil.

Dr. Retno Wahyuningrum, S. Farm., M.Si., Apt

Dr. Purwanto, M. Sc., Apt.

Natasha Nur Fadilah, S.Si.

Undang-undang Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2012 tentang Hak Cipta

Lingkup Hak Cipta

Pasal 2 :

1. Hak Cipta merupakan hak eksklusif bagi pencipta atau pemegang Hak Cipta untuk mengumumkan atau memperbanyak ciptaannya, yang timbul secara otomatis setelah suatu ciptaan dilahirkan tanpa mengurangi pembatasan menurut peraturan perundangundangan yang berlaku.

Ketentuan Pidana

Pasal 72

1. Barang siapa dengan sengaja atau tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal 2 ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).

2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan penjara paling lama 5 tahun dan/atau denda paling banyak

Perpustakaan Nasional: Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Yogyakarta: Penerbit Grafika Indah, 2020

i - xiv, 1- 232 hlm.: 17 x 25 cm

Judul Buku : Isolasi Senyawa Dengan Metode Kromatografi

Penyusun Utama : Dr. rer.nat. Tanti T. Irianti, M. Sc., Apt.

Desain Sampul : Tim Grafika Indah

Layout Isi : Tim Grafika Indah

Penerbit : CV. Grafika Indah

Anggota IKAPI : 099/DIY/2017

ISBN : 979820541-3



KATA PENGANTAR

Metode kromatografi mempunyai sejarah perkembangan yang cukup lama dan selalu ada kontinuitas setiap saat. Saat ini, perkembangan teknik instrumentasi dan teknologi menjadikan metode kromatografi sebagai pilihan utama dibanding metode lainnya. Bisa dinyatakan, tanpa adanya metode kromatografi serasa dunia sains khususnya bidang penemuan obat baru di farmasi akan sulit berkembang.

Di penelitian bidang fitofarmaka atau *based on activity of active compound*, metode kromatografi beserta kopling dengan instrumen lainnya selalu dibutuhkan di setiap tahap baik di awal, tengah dan akhir atau konfirmasinya sebagai senyawa aktif murni. Bahkan pada proses penemuan senyawa murni akan banyak berhubungan dengan kromatografi lapis tipis (KLT), yang mana merupakan metode yang praktis, sederhana, cepat dan murah. Metode praktis disini dapat diartikan sebagai metode yang cepat dan pilihan utama karena hasilnya dapat segera dilihat di plat KLT secara visual maupun dengan penyinaran ultra violet (UV). Uji kemurnian dapat dilakukan pada metode KLT dengan 3 sistem eluen berbeda, bila setelah elusi hanya terdapat 1 spot saja maka dapat dinyatakan senyawa hasil isolasi tersebut murni.

Indonesia dengan biodiversitas sangat besar, eksplorasi penemuan obat baru atau aktivitas baru akan sangat dimudahkan dengan perkembangan metode kromatografi saat ini. Iklim tropis di Indonesia menjadikan banyak bibit penyakit mudah berkembang di negara ini, seperti penyakit infeksi yang mewabah

saat ini covid19 serta tuberculosis (TB) dengan tingkat penularan tinggi. Adanya kasus resistensi yang semakin banyak menjadikan tantangan besar untuk penemuan obat infeksi dan penyakit lainnya.

Kami sebagai dosen di Fakultas Farmasi dan berprofesi di bidang obat terpanggil untuk menuliskan metode isolasi senyawa aktif dengan metode kromatografi. Kami berharap masyarakat ilmiah pada umumnya termasuk mahasiswa memperoleh informasi dengan baik pada metode isolasi dengan kromatografi. Tentu saja penulisan buku ini jauh dari sempurna dan membutuhkan masukan serta kritisi dari semua pembaca.

Akhir kata, kami bersyukur pada Allah SWT atas selesainya penulisan buku ini dan mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang punya andil dalam penulisan buku ini khususnya Dr. Ing. Ir. H. Sindu Nuranto, M.Eng., Almarhum Bapak H. Djuwadi bin Imam Mulyono, Ibu Hj. Badriyatun binti H. Amat Usuf, dr. Intan Farida Yasmin, M.Sc., Yahya Sabri Perkasa, Bapak Prof. Dr. Agung Nugroho, M.Sc., Apt., Bapak Dr. Satibi, M.Si., Apt., Frau Dr.rer.nat. Isolde Friederick, Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe, dan Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD).

Yogyakarta, 1 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I	1
KROMATOGRAFI DAN <i>FLASH CHROMATOGRAPHY</i>	1
1.1. Prinsip Umum Kromatografi	1
1.2. Prinsip Kromatografi Kolom	2
1.3. Prinsip <i>Flash Chromatography</i>	3
1.4. Perangkat <i>Flash Chromatography</i>	6
1.5. Pemilihan Fase Diam dan Fase Gerak <i>Flash Chromatography</i>	10
1.5.1. Fase Diam	10
1.5.2. Fase Gerak	14
BAB II	21
METODE <i>FLASH CHROMATOGRAPHY</i>	21
2.1. Preparasi dan Running Pada <i>Flash Chromatography</i>	21
2.2. Penggunaan <i>Disposable Columns Flash Chromatography</i>	29
2.3. Pemurnian Senyawa Polar dengan menggunakan <i>Normal Phase Flash Chromatography</i>	39
2.4. <i>Reverse phase Flash Chromatography</i>	41
2.5. <i>Normal vs Reversed Phase Flash Chromatography</i>	45
2.6. Aplikasi <i>Flash Chromatography</i>	48
2.6.1. Kromatografi Kolom Kering	48
2.6.2. <i>Flash chromatography</i> memisahkan senyawa organik pada pKa tinggi	49
BAB III	51
ISOLASI PADA <i>FLASH CHROMATOGRAPHY</i>	51

3.1. Prosedur Preparasi Sampel pada <i>Flash Chromatography</i>	51
3.2. <i>Running Column</i>	57
3.3. Prosedur Pemisahan pada <i>Flash Chromatography</i>	64
3.4. Efisiensi Kolom pada <i>Flash Chromatography</i>	71
3.4.1. Teori Plat (<i>Plate Theory</i>)	72
3.4.2. Teori kecepatan (<i>Rate theory</i>)	73
3.4.3. Pengaruh Ukuran terhadap Efisiensi Pemisahan	76
3.5. KLT PADA OPTIMASI DAN ISOLASINYA	85
3.5.1. Fase Diam	88
3.5.2. Fase Gerak	91
3.5.3. Pembuatan Plat KLT	91
3.5.4. Prinsip Kerja KLT	94
3.5.4.1. Penyiapan dan Penotolan Sampel	96
3.5.4.2. Pengembangan (Elusi)	97
3.5.4.3. Pengamatan Bercak	102
BAB IV	123
METODE <i>FLASH CHROMATOGRAPHY</i> DENGAN INSTRUMENT MODERN	123
4.1. Awal <i>Flash Chromatography</i> : <i>Glass Flash Columns</i>	123
4.2. Modern <i>Flash Chromatography</i>	123
4.3. Aplikasi Pengembangan Metode Menggunakan Modern <i>Flash Chromatography</i>	125
4.3.1. Pemurnian Produk Sintetis	125
4.3.2. Kromatografi <i>Flash</i> Untuk Deteksi Pigmen Tanaman	126
4.3.3. Pemurnian Peptida Sintetis	129
4.4. <i>Detectors</i>	131
4.4.1. <i>Specific Detectors</i>	132
4.4.2. <i>Bulk Property Detectors</i>	138
BAB V	141

ISOLASI BEBERAPA METABOLIT SEKUNDER	141
5.1 Metabolit Sekunder	141
5.1.1. Pendahuluan dan Fungsi Metabolit Sekunder	141
5.1.2. Klasifikasi Metabolit Sekunder	144
5.1.3. Penggolongan Metabolit Sekunder	145
5.1.4. Metabolit Sekunder dan Aktivasnya	159
5.2 Isolasi Senyawa Terpenoid	160
5.2.1. Isolasi senyawa terpenoid dari fraksi n-heksan daun <i>Marsilea crenata</i> Presl. (Puspitasari dkk, 2015)	160
5.2.2. Isolasi dan idnetifikasi terpenoid dari fraksi n-butanol herba lampasau (<i>Diplazium esculentun</i> Swartz) (Astuti dkk, 2014)	162
5.2.3. Isolasi dan identifikasi fraksi teraktif dari ekstrak kloroform daun ketapang (<i>Terminalia catappa</i> Linn) (Restasari dkk,)	164
5.2.4. Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid dari ekstrak n-heksan daun kelopak tambahan tumbuhan permot (<i>Passifore foetida</i> L) (Astuti dkk, 2015)	166
5.2.5. Isolasi senyawa terpenoid dari daun lada (<i>Piper nigrum</i> , Linn) (Bahri dan Rinawati, 2005)	169
5.3. Isolasi Senyawa Alkaloid	173
5.3.1. Isolasi senyawa alkaloid dari kulit batang tumbuhan <i>Polyalthia rumphii</i> (B) Merr. (Annonaceae) (Hakim dk, 2014)	173
5.3.2. Isolasi senyawa alkaloid dari daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill) (Tengo dkk, 2013)	176
5.3.3. Isolasi senyawa alkaloid dari ekstrak basa buah leunca (<i>Solanum nigrum</i> Linn) (Maslahat dkk, 2018)	178
5.3.4. Isolasi senyawa alkaloid fraksi asetat tanaman anting- anting (<i>Acalypha indica</i> L.) (Lisiyana, 2016)	181
5.3.5. Isolasi senyawa alkaloid daun buah mahkota dewa (<i>Acalypha indica</i> L.) (Okzelia dkk, 2017)	183
5.4. Isolasi Beberapa Senyawa Aktif	186

5.4.1.	Isolasi senyawa aktif pada ekstrak tanaman	186
5.4.2.	Isolasi Senyawa pada Ekstrak Buah	188
5.4.3.	Isolasi Kurkumin	189
5.4.4.	Isolasi Heteroklitin D pada Rotan	190
5.4.5.	Isolasi α -Santalol dan β -Snatalol dari Ekstrak Kayu	192
5.4.6.	Isolasi Eugenol dan Kariofilen dari Ekstrak Minyak	192
5.4.7.	Isolasi Gula Amino dan Acarbose pada Gula	193
5.4.8.	Isolasi senyawa Kromoforik dan non-kromoforik pada tanaman	195
5.4.9.	Isolasi Senyawa Flavanon Glikosida	196
5.4.10.	Isolasi Senyawa Aminoglikosida pada Sintesis Amikacin	197
5.4.11.	Isolasi Senyawa 16- β Hidroksi boldenon	198
5.4.12.	Isolasi Senyawa Capsaicin	199
5.4.15.	Isolasi Senyawa Stevioside dan Rebaudioside-A	201
5.4.16.	Isolasi Senyawa Borapetosida C dan Tinotuberida	201
DAFTAR PUSTAKA		213

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses <i>Flash Chromatography</i>	4
Gambar 2. Skema Alat <i>Flash Chromatography</i>	5
Gambar 3. Alat <i>Flash Chromatography</i>	6
Gambar 4. Instrumentasi <i>Flash Chromatography</i>	7
Gambar 5. Pembungkus Kolom.....	8
Gambar 6. <i>Flow Controller</i> dalam <i>Flash Chromatography</i>	10
Gambar 7. Struktur Kimia Silika Gel.....	12
Gambar 8. Struktur Kimia Alumina Oksida	13
Gambar 9. Struktur Kimia Selulosa	13
Gambar 10. Van Deemter Plot.....	18
Gambar 11. Elusi Isokratik vs Elusi Gradien.....	20
Gambar 12. Sumber Error pada Analisis Kromatografi.....	21
Gambar 13. Preparasi Kolom dengan <i>Neat Method</i> (Sumber: Alimin dkk, 2007).....	22
Gambar 14. Pre-elusi Kolom (Sumber: Alimin dkk, 2007).....	24
Gambar 15. <i>Wet Loading Method</i> (Sumber: Alimin dkk, 2007).....	25
Gambar 16. <i>Dry Loading Method</i> (Sumber: Alimin dkk, 2007).....	26
Gambar 17. Elusi Kolom (Sumber: Alimin dkk, 2007).....	27
Gambar 18. Pengaruh Variabel Kolom pada Kinerja Kolom (Bickler, 2018)	32
Gambar 19. Rekomendasi Aliran Kecepatan Kolom (Bickler, 2018)	33
Gambar 20. Hubungan Non-Linear CV-Rf terhadap Kualitas Pemisahan	34
Gambar 21. Elusi Isokratik (Bickler, 2018).....	37
Gambar 22. Pengurangan Kekuatan Pelarut (Bickler, 2018).....	38
Gambar 23. Elusi Gradien (Bickler, 2018)	39
Gambar 24. Kombinasi Pelarut Polar dan Fase Stasioner Polar disebut HILIC (Kromatografi Cair Interaksi Hidrofilik) (Bickler, 2018)	41
Gambar 25. Separator sederhana dengan partikel hidrofobik memungkinkan cairan organik seperti DCM akan terelusi, sedangkan air akan tertahan (Bickler, 2018).....	44
Gambar 26. Ekstraksi Fase Padat Ekstraksi fase padat efektif untuk . menghilangkan senyawa lipofilik	44

Gambar 27. <i>External Dry Loading</i>	45
Gambar 28. <i>Column pada Flash Chromatography</i>	50
Gambar 29. <i>Design Apparatus Flash Chromatography</i>	51
Gambar 30. <i>Packed Column pada Flash Chromatography</i> (Still, 1978)	55
Gambar 31. <i>Sample Injection System</i> (Sumber: Pharmatutor.org : Pharmacy Infopedia, 21 Feb 2020)	57
Gambar 32. <i>Running Column</i> (Sumber: Reachdevices.com, 21 Feb 2020)	63
Gambar 33. Kecepatan Alir Kolom (Sumber: Alimin dkk, 2007)	65
Gambar 34. Keseimbangan Distribusi Fase Gerak dan Fase Diam	67
Gambar 35. Contoh Mekanisme Pemisahan secara Partisi (Yazid, 2005).	68
Gambar 36. Contoh Mekanisme Pemisahan secara Adsorpsi....	69
Gambar 37. Pemisahan pada Kolom Kromatografi (Yazid, 2005).	70
Gambar 38. Kromatogram (Martin dan Synge, 1941).....	73
Gambar 39. Diffusi Eddy (Van Deemter, 1956).....	74
Gambar 40. Difusi Longitudinal (Van Deemter, 1956).....	74
Gambar 41. Efek Perpindahan Massa (Van Deemter, 1956).....	75
Gambar 42. Teori Pelat (<i>Plate Theory</i>) (Van Deemter, 1956)...	76
Gambar 43. Pita Kromatogram Ideal (Van Deemter, 1956	76
Gambar 44. Perbandingan Pemurnian Menggunakan Kartrid Berbeda Ukuran (Bickler, 2018)	78
Gambar 45. Kromatogram Peningkatan Diameter Puncak dengan Peningkatan Kecepatan Aliran (Bickler, 2018)	81
Gambar 46. Kromatogram Elusi Isokartik dengan Peningkatan Laju Aliran (Bickler, 2018).....	82
Gambar 47. Pengaruh Ukuran Kartrid terhadap Efisiensi Pemisahan (Bicker 2015)	85
Gambar 48. Pemisahan dengan KLT (Abdillah. 2011).....	88
Gambar 49. Efek Penjenuhan pada Bejana tanpa Kertas Saring (A), dan dengan Kertas Saring (B) (Abdillah. 2011)	98
Gambar 50. Contoh Kandungan Senyawa Terdeteksi di bawah Sinar UV 224nm	104

Gambar 51. Contoh Kandungan Senyawa Tidak Terdeteksi di bawah Sinar UV 224nm	104
Gambar 52. Skema Representasi dari Transisi Elektronik Fenomena Luminescence (Gibbons, 2006).....	111
Gambar 53. Penampakan Bercak Dengan Penyemprotan (Gibbons, 2006)	113
Gambar 54. Penampakan Bercak dengan Paparan Sinar UV (Gibbons, 2006)	121
Gambar 55. Teknik KLT Dua Dimensi (Gibbons, 2006)	122
Gambar 56. Glass <i>Flash</i> Columns (Bob Bickler ,2015)	123
Gambar 57. Modern <i>Flash</i> Chromatography (Bob Bickler ,2015)	124
Gambar 58. Waktu vs Biaya Modern <i>Flash</i> Chromatography (Bob Bickler ,2015).....	125
Gambar 59. Detector (Bob Bickler ,2015).....	132
Gambar 60. UV Vis Detektor (Bob Bickler ,2015)	132
Gambar 61. <i>Photo Diode Array Detector</i> (Alimin dkk, 2007)	134
Gambar 62. <i>Fluorescence Detector</i> (Bob Bickler ,2015)	135
Gambar 63. LC-MS (Bob Bickler ,2015)	137
Gambar 64. <i>Refractive Index Detectors</i> (Alimin dkk, 2007)...	138
Gambar 65. <i>Light Scattering Detector</i> (Alimin dkk, 2007).....	139
Gambar 66. Kemungkinan Struktur Isolat dari Ekstrak Herba Lampasau (Astuti dkk, 2014)	164
Gambar 67. Ilustrasi Hasil KLT Ekstrak Klororom (Restasari dkk,)	165
Gambar 68. Dugaan Struktur Isolat dari Ekstrak Tumbuhan Permot (Astuti dkk, 2015).....	168
Gambar 69. Hasil KLT Crude n-Heksana Hasil Partisi (a) Eluen n-heksana 100% (b) CHCl ₃ 100% (Bahri dan Rinawati, 2005)	170
Gambar 70. Hasil KLT Fraksi CHCl ₃ (Bahri dan Rinawati, 2005)	171
Gambar 71. Hasil KLT Rekolom Fraksi 3.3 (Bahri dan Rinawati, 2005)	172
Gambar 72. Hasil KLT Senyawa Hasil Isolasi (Terpenoid) (Bahri dan Rinawati, 2005)	173
Gambar 73. Struktur kimia kurkumin [1,7-bis-(4`-hidroksi-3`-metoksifenil)hepta-1,6-diena-3,5-dion] (Zhang, ET al, 2004)..	190

Gambar 74. Struktur kimia Heteroclitin A (Fazary et al, 2016)	192
Gambar 75. Struktur Eugenol dan Kariofilen (Colegate, dkk. 2008)	193
Gambar 76. Struktur kimia Acarbose (Dewick P, 2009)	195
Gambar 77. Struktur kimia glukosa, Hesperitin dan Neohesperidin (Dewick, P. 2009)	197
Gambar 78. Struktur Amikacin (Wang, P dkk. 2001).....	198
Gambar 79. Struktur kimia Senyawa Rutin (Dewick, P. 2009)	201
Gambar 80. Hasil KLT Ekstrak Etanol Batang Brotowali dan Fraksinya (Irianti, 2016).....	203
Gambar 81. Kromatogram hasil KLTP Fraksi Tidak Larut n-Heksana (FTH) (Irianti, 2016)	205
Gambar 82. Kromatogram Hasil Penelitian Ekstrak Etanol dengan <i>Flash Chromatography</i> (Irianti, 2016)	207
Gambar 83. Kromatogram Fraksi-fraksi Hasil Pemisahan <i>Flash Chromatography</i> (Irianti, 2016)	208
Gambar 84. Uji Kemurnian Isolat A1 dengan Metode KLT Menggunakan 3 Eluen Berbeda (Irianti, 2016).....	209
Gambar 85. Uji Kemurnian Isolat A1 Menggunakan KLT 3 Eluen Dideteksi dengan Serium sulfat (Irianti, 2016).....	210
Gambar 86. Uji Kemurnian Isolat B1 dengan Metode KLT Menggunakan 3 Eluen Berbeda(Irianti, 2016).....	211
Gambar 87. Struktur Senyawa Isolat Borapetosida C.....	212
Gambar 88. Struktur Isolat Tinotuberida	212

DAFTAR TABEL

Tabel 1. <i>Guidline</i> untuk Memilih Diameter Kolom.....	8
Tabel 2. Jenis Fase Gerak.....	14
Tabel 3. Angka Kepolaran Pelarut	16
Tabel 4. <i>The Properties of Commonly Used Flash Solvents</i>	17
Tabel 5. Perbedaan antara HILIC dan Kromatografi Fase Terbalik dan Normal.....	40
Tabel 6. Pemilihan Fase pada Sintesis Organik	46
Tabel 7. Pemilihan Fase pada <i>Natural Products</i>	47
Tabel 8. <i>Normal Phase-Reversed Phase Selection Criteria</i>	48
Tabel 9. <i>Elutant</i> pada Pemisahan	53
Tabel 10. <i>Ratio Elutant</i> pada Pemisahan Kompleks.....	54
Tabel 11. Perbandingan Rasio Silika dan Senyawa.....	54
Tabel 12. Pengaruh Kecepatan Airan pada Kinerja Pemisahan (Resolusi)	80
Tabel 13. Perbandingan Berat Fase Diam dan Cairan untuk Pembuatan Plat.....	94
Tabel 14. Beberapa Jenis Pereaksi Semprot untuk KLT.....	105
Tabel 15. Hasil KLT Ekstrak Kloroform dengan Fase Gerak Campuran n-Heksana: Etil asetat : Kloroform (5:3:1).....	166
Tabel 16. Hasil Kromatografi Kolom Crude n-Heksana	171
Tabel 17. Hasil Rekrom Fraksi Kloroform (CHCl_3)	172
Tabel 18. Hasil Pemisahan Ekstrak Alkaloid.....	175

DAFTAR SINGKATAN

ACN	<i>Acetonitrile</i>
CHCl ₃	<i>Chloroform</i>
CV	<i>Column Volume</i>
DCM	<i>Dichloromethane</i>
DMF	<i>Dimethylformamide</i>
DMSO	<i>Dimethyl sulfoxide</i>
EBA	<i>Expanded bed adsorption</i>
EtOAc	<i>Ethyl ethanoate</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
H ₂ O	<i>Water</i>
HETP	<i>Height Equivalent of a Theoretical Plate</i>
HILIC	<i>Hydrophilic interaction liquid chromatography</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IR	<i>Infrared</i>
k	<i>kapasitas kolom</i>
KBr	<i>Kalium Bromida</i>
KD	<i>Keseimbangan Distribusi</i>
KLT	<i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
KK	<i>Kromatografi Kolom</i>
KOH	<i>Kalium Hidroksida</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrophotometer</i>
MeOH	<i>Methanol</i>
mL	<i>mililiter</i>
NMP	<i>N-methyl-2pyrrolidone</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
Psi	<i>pounds per second</i>
R _f	<i>Retention factor</i>
RP	<i>Reversed Phase</i>
R _s	<i>Resolusi</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
<i>t</i> R	<i>Time Retention</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>
VLC	<i>Vacuum Liquid Chromatography</i>
μL	<i>mikroliter</i>