

LAPORAN TUGAS AKHIR

**VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR METANOL DAN
ETANOL DALAM MINUMAN BERALKOHOL
MENGUNAKAN GAS *CHROMATOGRAPHY* DI PUSAT
LABORATORIUM FORENSIK JAKARTA**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh
derajat Ahli Madya Sains (A.Md.Si) di
Program Studi DIII Analisis Kimia**



Disusun oleh:

**Indah Safira Rahmadilla
NIM: 17231029**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR METANOL DAN
ETANOL DALAM MINUMAN BERALKOHOL
MENGUNAKAN GAS CHROMATOGRAPHY DI PUSAT
LABORATORIUM FORENSIK JAKARTA**

**VALIDATION OF METHODS TO DETERMINE THE CONTENT OF
METHANOL AND ETHANOL IN ALCOHOLIC BEVERAGES USING
CHROMATOGRAPHY GAS AT PUSAT LABORATORIUM FORENSIK
JAKARTA**



Disusun oleh:

**Indah Safira Rahmadilla
NIM: 17231029**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR METANOL DAN
ETANOL DALAM MINUMAN BERALKOHOL
MENGUNAKAN GAS CHROMATOGRAPHY DI PUSAT
LABORATORIUM FORENSIK JAKARTA**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Indah Safira Rahmadilla

NIM: 17231029

**Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Tugas Akhir
Program Studi DIII Analisis Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
pada tanggal 27 Agustus 2020**

Menyetujui,

Ketua Program Studi

Pembimbing



Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.
NIK. 132311102



Kuntari, S.Si., M.Sc.
NIK. 162310401

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR METANOL DAN
ETANOL DALAM MINUMAN BERALKOHOL
MENGUNAKAN GAS CHROMATOGRAPHY DI PUSAT
LABORATORIUM FORENSIK JAKARTA**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Indah Safira Rahmadilla

NIM: 17231029

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 27 Agustus 2020

Susunan Tim Penguji

Pembimbing/ Penguji



Kuntari, S.Si., M.Sc.

NIK. 162310401

Penguji I



Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc.

NIK. 132311101

Penguji II



Muhaimin, S.Si., M.Sc.

NIK. 156141305

**Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UII**



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

NIK. 006120101

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir ini tidak pernah terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar *Ahli Madya Science* atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Saya memperbolehkan sebagian pengutipan karya ini sebagai materi praktikum setelah penerbitan karya ini.

Yogyakarta, 27 Agustus 2020
Penyusun,

A handwritten signature in black ink is written over a green revenue stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPAK', '6000', and 'ENAM RIBU RUPIAH'.

Indah Safira Rahmadilla

MOTTO

“Untuk mendapatkan apa yang diinginkan, kau harus bersabar dengan apa yang kau benci.”

(Imam Ghazali)

“Hanya kepada Allah aku mengadukan kesusahan dan kesedihanku.”

(Surat Yusuf [12]: 86)

“Yakinlah, ada sesuatu yang menantimu setelah banyak kesabaran (yang kau jalani), yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit.”

(Ali bin Abi Thalib)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah rabbil'alam, segala puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, atas rahmat dan hidayah-Nya yang tak terhingga sehingga memberikan saya kekuatan dan semangat dalam menuntut ilmu di program studi DIII Analisis Kimia FMIPA UII. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya penulis dapat menyelesaikan studi dan laporan Tugas Akhir dengan semaksimal mungkin untuk mendapatkan gelar Ahli Madya Science (Amd.Si.). Shalawat dan salam selalu terlimpahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Untuk karya yang sederhana ini, maka penulis persembahkan kepada orang yang sangat penulis kasihi dan sayangi.

Ayahanda dan Ibunda Tercinta dan Tersayang

Terima kasih atas segala dukungan kalian, baik dalam bentuk materi maupun moril. Karya ini saya persembahkan untuk Ayahanda Udi Miharta dan Ibunda Ela Laela, sebagai wujud rasa terima kasih atas pengorbanan dan doa yang tiada hentinya sehingga penulis dapat menggapai cita-cita. Kelak cita-cita penulis ini akan menjadi persembahan yang paling mulia untuk Ayah dan Ibu, dan semoga dapat membahagiakan kalian. Terima kasih telah menjadi orang tua yang sempurna.

Kakak dan Adik Tercinta

Teruntuk kakakku Tubagus Cipta Perdana Harta, adikku Wildan Satria Hartadi dan Muhammad Al Fattan, tiada waktu yang paling berharga dalam hidup selain menghabiskan waktu dengan kalian. Walaupun saat dekat kita sering bertengkar, tapi saat jauh kita saling merindukan. Terima kasih telah memberikan doa dan dukungannya yang membuat penulis semangat dalam menyelesaikan laporan Tugas Akhir ini, semoga awal dari kesuksesan penulis ini dapat membanggakan kalian.

Dosen Pembimbing Tugas Akhir Tercinta

Kepada Ibu Kuntari selaku dosen pembimbing penulis yang paling baik dan bijaksana, terima kasih karena sudah menjadi orang tua kedua penulis di Kampus. Terima kasih atas bantuan, nasehat, dan ilmunya yang selama ini dilimpahkan

kepada penulis dengan rasa tulus dan ikhlas sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

Dosen dan Staff Program Studi DIII Analisis Kimia serta Almamater UII yang Saya Banggakan

Terimakasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada dosen-dosen dan staff program studi DIII Analisis Kimia yang banyak memberikan ilmunya untuk menuntun penulis lebih banyak mengetahui banyak pengetahuan khususnya dibidang kimia terapan. Analisis Kimia Jaya...

Teman-Teman Seperjuangan Angkatan 2017 DIII Analisis Kimia

Penulis sampaikan terima kasih banyak untuk Azizah, Sita, April, Suci, dan seluruh keluarga Analisis Kimia 2017. Terima kasih karena kalian sudah mendukung dan menjadi teman seperjuangan di Analisis Kimia. Kita bukan hanya seperti teman, tapi kita juga seperti saudara. Kita pernah melewati masa-masa sulit bersama, jauh dari orang tua. Terima kasih atas kasih sayang, dukungan, dan perhatian kalian selama ini.

Sahabat-sahabat dan Orang Terdekat

Terimakasih penulis sampaikan kepada sahabat-sahabat untuk Firda, Zahra, Astri, Cica, dan Puji. Kalianlah selama ini memberikan begitu banyak dukungan, perhatian, kasih sayang, semangat dan memberi bantuan saat penulis membutuhkannya. Dan tak lupa, penulis sampaikan terima kasih banyak untuk Muhammad Gamar. Terima kasih untuk support yang luar biasa, dan memberikan semangat sampai penulis bisa menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim...

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir dengan baik dan benar yang membahas tentang “Validasi Metode Pemeriksaan Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Beralkohol dengan *Gas Chromatography* di Pusat Laboratorium Forensik Jakarta.” *Shalawat* serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta para keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang senantiasa istiqomah menjalankan agama-Nya.

Laporan Praktik Kerja Lapangan disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan derajat Ahli Madya Sains (A.Md.Si) pada Program Studi DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta. Selama proses penyusunan laporan ini penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan Laporan Tugas Akhir ini sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikannya. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan laporan ini antara lain:

1. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program studi DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Reni Banowati Istiningrum, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik.
4. Kuntari, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan yang banyak memberi nasihat, perhatian, bimbingan dan saran. Semoga segala bantuan dan bimbingannya mendapat imbalan yang lebih baik di sisi-Nya.

5. Dosen dan Staff Program Studi DIII Analisis Kimia FMIPA UII atas semua bantuan dan ilmu yang telah diberikan.
6. Brigjen Pol Drs. Alex Mandalika, selaku Kepala Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri.
7. Kombes Pol Drs. Andi Firdaus, selaku Kepala Bidang Kimia Biologi Toksikologi Lingkungan Forensik.
8. Dra. V. Astarini Endah R., selaku Kepala Subbidang Kimia Forensik.
9. Taslim Maulana, S.Si., selaku pembimbing lapangan yang memberikan pengarahan, pembelajaran, serta pemahaman mengenai Praktek Kerja Lapang yang telah dilakukan.
10. Kedua orang tua, saudara, teman-teman dan semua pihak yang telah memberikan dukungan baik moral maupun spiritual serta telah membantu dalam proses melaksanakan dan penyusunan laporan Tugas Akhir yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan arahan, bimbingan, kritik dan saran yang membangun demi terciptanya laporan yang lebih baik untuk kedepannya. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 27 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
INTI SARI.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB II DASAR TEORI	5
2.1 Profil Singkat Pusat Laboratorium Forensik.....	5
2.2 Minuman Beralkohol	7
2.3 Metanol	9
2.4 Etanol.....	10
2.5 Instrumen <i>Gas Chromatography</i>	11
2.5.1 Prinsip <i>gas chromatography</i>	12
2.5.2 Analisis kualitatif dan kuantitatif.....	14
2.6 Uji Kesesuaian Sistem.....	15
2.7 Validasi Metode Analisis	17
2.7.1 Linearitas.....	18
2.7.2 Presisi	18

2.7.3	Limit deteksi dan limit kuantitasi.....	19
2.7.4	Akurasi	20
2.7.5	Estimasi ketidakpastian.....	21
BAB III METODE PENELITIAN.....		23
3.1	Alat.....	23
3.2	Bahan	23
3.3	Cara Kerja	23
3.3.1	Optimasi <i>gas chromatography</i>	23
3.3.2	Analisis sampel miras oplosan.....	23
3.3.3	Pembuatan larutan standar induk metanol 10%.....	24
3.3.4	Pembuatan larutan standar induk etanol 50%	24
3.3.5	Pembuatan standar induk n-butanol 10%.....	24
3.3.6	Pembuatan larutan deret standar metanol	24
3.3.7	Pembuatan larutan deret standar etanol.....	24
3.3.8	Uji kesesuaian sistem	25
3.3.9	Validasi Metode	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		27
4.1	Optimasi <i>Gas Chromatography</i>	27
4.2	Uji Kesesuaian Sistem	29
4.3	Validasi Metode Analis.....	32
4.3.1	Linearitas.....	32
4.3.2	Penentuan kadar metanol dan etanol dalam sampel.....	34
4.3.3	Penentuan LOD dan LOQ.....	36
4.3.4	Penentuan presisi.....	38
4.3.5	Penentuan akurasi	39
4.3.6	Estimasi ketidakpastian.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		47
5.1	Kesimpulan	47
5.2	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN		54

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	
Penggolongan Kromatografi Berdasarkan Fasa Diam dan Fasa Gerak	11
Tabel 2.2 Parameter Uji Kesesuaian Sistem	16
Tabel 2.3 Rentang Nilai <i>Recovery</i> Berdasarkan Konstentrasi Sampel	21
Tabel 3.1 Optimasi Instrumen <i>Gas Chromatography</i>	23
Tabel 4.1 Penentuan Nilai Lempeng.....	30
Tabel 4.2 Penentuan Presisi Instrumen	30
Tabel 4.3 Penentuan Nilai Resolusi	31
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar	32
Tabel 4.5 Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Keras Oplosan	35
Tabel 4.6 Penentuan LOD dan LOQ Metanol	37
Tabel 4.7 Penentuan LOD dan LOQ Etanol	37
Tabel 4.8 Penentuan Presisi Sampel	38
Tabel 4.9 Hasil Pengukuran Akurasi	39
Tabel 4.10 Hasil Perhitungan Nilai Ketidakpastian	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Metanol	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Etanol	10
Gambar 2.3 Skema Kromatografi Gas	13
Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Standar Metanol.....	33
Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Standar Etanol.....	34
Gambar 4.3 Diagram Tulang Ikan Ketidakpastian Pengukuran	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pembuatan Larutan Standar.....	54
Lampiran 2 Linearitas Metanol dan Etanol.....	56
Lampiran 3 Penentuan Kadar Metanol dan Etanol dalam Sampel	57
Lampiran 4 Penentuan Nilai LOD dan LOQ	58
Lampiran 5 Penentuan Presisi Sampel.....	60
Lampiran 6 Penentuan Akurasi.....	61
Lampiran 7 Penentuan Estimasi Ketidakpastian Pengukuran.....	62
Lampiran 8 Uji Kesesuaian Sistem	68

VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR METANOL DAN ETANOL DALAM MINUMAN BERALKOHOL MENGGUNAKAN GAS CHROMATOGRAPHY DI PUSAT LABORATORIUM FORENSIK JAKARTA

Indah Safira Rahmadilla

Program Studi DIII Analisis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta 55571
Email : 17231029@students.uii.ac.id

INTISARI

Telah dilakukan validasi metode pemeriksaan minuman beralkohol dalam menentukan kandungan metanol dan etanol menggunakan instrumentasi *Gas Chromatography*. Tujuan dari validasi metode ini untuk menentukan kadar metanol dan etanol dalam sampel minuman keras oplosan dengan parameter validasi diantaranya uji kesesuaian sistem, linearitas, akurasi, presisi, LOD, LOQ, dan ketidakpastian dari hasil pengukuran. Analisis ini dilakukan menggunakan kolom Innowax dengan hasil optimasi instrumen yaitu suhu injektor 200 °C, suhu detektor FID 250 °C, suhu oven awal 50 °C ditahan 2 menit pada suhu tersebut, ditingkatkan secara bertahap dengan kenaikan sebesar 10 mL/menit sampai 200 °C. *Constant flow* 1 mL/menit, *H2 flow* 40 mL/menit, *air flow* 400 mL/menit, *split rasio* (50:1). Berdasarkan hasil pengujian diperoleh kadar metanol dan etanol sebesar 4,2954% dan 13,7716%. Hasil validasi metode dengan uji kesesuaian sistem pada efisiensi kolom yaitu >2000, presisi instrumen diperoleh ≤2% dan nilai resolusi sebesar ≥1,5, sedangkan hasil parameter uji lainnya yang telah memenuhi syarat keberterimaan validasi metode pada metanol dan etanol diperoleh nilai linearitas sebesar 1 dan 0,9999, akurasi sebesar 102,20% dan 98,75%, presisi sebesar 1,0136% dan 0,2445%, LOD dan LOQ sebesar 0,0039% dan 0,0130%, serta ketidakpastian pengukuran sebesar $4,2954 \pm 0,1532\%$ dan $13,7716 \pm 1,5502\%$.

Kata kunci : *Gas Chromatography*, Metanol, Etanol, Minuman Beralkohol, Validasi Metode

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Islam mengatur segala jenis aspek kehidupan manusia tak terkecuali makanan dan minuman. Allah SWT telah memerintahkan dalam Al-Qur'an dengan jelas, bahwa minuman yang halal lagi baik adalah minuman yang tidak memabukkan, seperti minuman keras atau biasa disebut *khamar* (Askar, 2009). Ketika Islam turun di Negeri Arab, banyak tantangan yang harus dihadapi, terutama permasalahan minuman keras yang telah mengakar di kalangan Bangsa Arab. Sebuah tantangan untuk menghilangkan tradisi buruk tanpa menimbulkan gejolak sosial. Melihat kondisi masyarakat dengan kebiasaan mengkonsumsi minuman keras, sebuah fenomena dimana minuman keras menjadi unsur pokok dari materi unsur-unsur kebudayaan mereka. Sehingga Allah menurunkan QS. Al-Baqarah: 219, yaitu "Mereka bertanya kepadamu (Muhammad) tentang *khamar* (segala yang memabukkan, termasuk minuman keras) dan judi. Katakanlah: 'Pada keduanya terdapat dosa yang besar dan beberapa manfaat bagi manusia, tetapi dosa keduanya lebih besar dari manfaatnya.' Dan mereka bertanya kepadamu apa yang mereka nafkahkan. Katakanlah: 'Yang lebih dari keperluan.' Demikianlah Allah menerangkan ayat-ayat-Nya kepadamu supaya kamu berfikir."

Minuman beralkohol merupakan salah satu permasalahan yang sering terjadi di Negara Indonesia. Penyalahgunaan minuman beralkohol seringkali terjadi di kalangan remaja. Faktor tradisi, norma sosial, nilai agama, hukum dan kebijakan, termasuk juga aspek ekonomi, perkembangan media komunikasi dan teknologi juga mengambil peran dalam makin meningkatnya angka penyalahgunaan minuman beralkohol di Indonesia. Menurut Logan (2014), sering terjadi fenomena di kalangan penikmat minuman beralkohol yang mencampur atau mengoplos minuman beralkohol dengan bahan kimia memiliki risiko yang lebih tinggi dibandingkan dengan minuman beralkohol biasa. Bahan yang paling sering dicampurkan ke dalam minuman beralkohol adalah metanol. Selain metanol, konsumen juga biasanya mencampurkan bahan lain seperti obat-obatan.

Minuman beralkohol adalah minuman yang mengandung etanol. Menurut PERMENKES RI No: 86/ MenKes/ Per/ IV/ 77 tentang minuman keras atau minuman beralkohol menyebutkan bahwa semua jenis minuman beralkohol, tetapi bukan obat, meliputi minuman keras golongan A dengan kadar etanol 1-5%, minuman keras golongan B dengan kadar etanol 5-20%, dan minuman keras golongan C dengan kadar etanol 20-55%.

Etanol adalah bahan psikoaktif dan konsumsinya menyebabkan penurunan kesadaran. Etanol mempunyai efek yang merugikan bagi manusia. Etanol pada kadar rendah dan sedang berperan sebagai stimulant yang menimbulkan efek antara lain relaksasi, rasa gelisah, kehilangan kesetimbangan dan kehilangan kendali. Pada dosis tinggi kadar etanol dapat merusak syaraf dan dapat menyebabkan kecanduan. Tanda-tandanya antara lain halusinasi, sakit kepala, hipertensi, insomnia, keringat berlebih, dan lain-lain (Mardoni, 2007).

Seiring dengan berkembangnya waktu penggunaan etanol sebagai minuman keras sudah dikenal luas dan bervariasi dalam berbagai bentuk yang sering tidak disadari keberadaannya oleh konsumen. Oleh karena jumlah pemakaian etanol dalam minuman sangat banyak, maka keracunan akut maupun kronis akibat mengkonsumsi alkohol sering terjadi. Seiring banyaknya minuman beralkohol yang memiliki kadar etanol yang sangat tinggi, melebihi 55% dan tidak memiliki izin beredar maka Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) melakukan operasi langsung ke lapangan. Minuman tersebut diuji di laboratorium, sehingga dapat diketahui apakah minuman tersebut layak beredar atau tidak (Budiastra, 2009).

Pengujian kadar metanol dan etanol dalam minuman keras menggunakan *gas chromatography* di Pusat Laboratorium Forensik Jakarta ini menjadi salah satu metode pengujian yang rutin dilakukan. Metode pengujiannya mengacu pada *American Society for Testing and Material (ASTM) D 1078*. Oleh karena itu, perlu dilakukan validasi metode dalam prosedur pengujiannya, karena terdapat perbedaan pada bagian kolom yang digunakan dalam pengujian. Selain itu, terdapat perbedaan proses preparasi sampel dan standar, yaitu tidak melalui tahapan distilasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar etanol sebagai kandungan utama, dan metanol sebagai bahan tambahan yang ditambahkan ke dalam minuman beralkohol menggunakan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala. Metode kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala merupakan metode yang tepat dalam menentukan kadar etanol dan metanol di dalam minuman beralkohol karena memiliki sensitivitas yang tinggi, juga digunakan dalam pemisahan zat organik atau anorganik yang memiliki sifat mudah menguap seperti etanol dan metanol.

Penelitian validasi metode bertujuan untuk memberikan hasil yang mendekati dengan kebenaran dalam mendeteksi kandungan etanol dan metanol dalam minuman beralkohol. Validasi metode dilakukan dengan menggunakan sistem yang telah dikualifikasi dan pengujian kesesuaian sistem masing-masing tahap tersebut sangat menentukan bagi keberhasilan proses validasi (Swartz dan Krull, 1997). Sistem kromatografi harus diuji terlebih dahulu sebelum digunakan untuk analisis, melalui uji kesesuaian sistem agar dapat mendapatkan keyakinan tentang keefektifan sistem kromatografi, sehingga data analisis yang dihasilkan cukup baik untuk dipakai dalam menyimpulkan suatu hasil pengujian. Hal ini karena banyak faktor yang dapat memberikan perbedaan hasil uji seperti kolom yang walaupun jenisnya sama, umur kolom, komposisi dan pH fase gerak (Snyder, 1997). Parameter uji kesesuaian sistem dalam penelitian ini, meliputi penentuan sistem presisi instrumen, resolusi (daya pisah), dan efisiensi kolom. Sedangkan parameter-parameter validitas metode analisis dalam penelitian ini antara lain linearitas, akurasi, presisi, limit deteksi, limit kuantisasi, dan estimasi ketidakpastian pengukuran.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Berapa kadar metanol dan etanol yang terdapat pada sampel minuman beralkohol menggunakan *gas chromatography*?
2. Bagaimana hasil validasi metode penentuan kadar metanol dan etanol pada minuman beralkohol menggunakan *gas chromatography* ditinjau dari uji kesesuaian sistem, dengan parameter validasinya antara lain:

linearitas, presisi, akurasi, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), dan nilai ketidakpastian pengukuran?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian adalah:

1. Mengetahui kadar metanol dan etanol dalam sampel minuman beralkohol yang dianalisis menggunakan instrumen *gas chromatography*.
2. Mengetahui hasil dari validitas metode dengan melakukan uji kesesuaian sistem dan parameter validasi yang meliputi, nilai linearitas, presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantitasi, dan nilai ketidakpastian pengukuran kadar metanol dan etanol pada sampel minuman beralkohol menggunakan *gas chromatography*.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Menjadi alternatif metode analisis dan sebagai bahan evaluasi bagi Pusat Laboratorium Forensik dari hasil validasi metode penentuan kadar metanol dan etanol dalam minuman beralkohol menggunakan *gas chromatography*.
2. Memberikan informasi terkait pemilihan sistem kromatografi gas yang sesuai serta memenuhi parameter validasinya dalam penentuan kadar metanol dan etanol dengan menggunakan metode *gas chromatography*.

BAB II

DASAR TEORI

2.1 Profil Singkat Pusat Laboratorium Forensik

Sejarah berdirinya Pusat Laboratorium Forensik Mabes Polri, yaitu didirikan di Jakarta pada tanggal 15 Januari 1954 berdasarkan Order KKN No.1/VII/1954 yang dirintis oleh Pimpinan Kepolisian Negara Republik Indonesia dalam rangka menjadi anggota ICPO Interpol dan menjadi laboratorium pertama yang berada dibawah Dinas Reserse Kriminal (Labkrim). Pada tahun 1959 Labkrim dipisahkan dari Dinas Reserse Kriminal Mabes Polri. Tahun 1963 labkrim bergabung menjadi Lembaga Laboratorium dan Identifikasi Departemen Kepolisian, tetapi kemudian dipecah menjadi Direktorat Labkrim dan Direktorat Identifikasi pada 14 Februari 1964 menurut SK Menpangab No:11/SK/MK1964. Namun, menurut SK Menhankam Pangab No: Skep/A/385/VII/1970, keduanya berubah menjadi Korserse di bawah Komando Utama Pusat Reserse yang disebut Labkrimpol.

Pada tahun 1984, Labkrimpol berkedudukan di Direktorat Reserse. Berdasarkan SK Kapolri No. Pol: Kep/09C/X/1984 kedudukan Labkrimpol diubah menjadi Badan Pelaksana Pusat pada tingkat Mabes Polri. Pada 5 Oktober 1992 sebutan Labkrimpol diubah menjadi Pusat Laboratorium Polisi Republik Indonesia (Puslab Polri) berdasarkan SK Pangab No: Kep/11/X/1992. Sebutan Puslab Polri kemudian diganti menjadi Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) yang dibawah korserse Polri pada 7 Juli 1997 berdasarkan SK Pangab No: Kep/10/VII/1997. Puslabfor kemudian ditetapkan sebagai unsur pelaksana teknik Bareskrim Polri pada 17 Oktober 2002 berdasarkan keputusan Kapolri No. Pol: Kep/53/X/2002.

Berdasarkan Keputusan Kapolri No. Pol.: Kep/30/VI/2003 tanggal 30 Juni 2003, tentang Perubahan atas Keputusan Kapolri N0. Pol.: Kep/53/X/2002 tanggal 17 Oktober 2002, Tentang Organisasi dan Tata Kerja Satuan Organisasi pada Tingkat Markas Besar Kepolisian Negara Republik Indonesia, Pusat

Laboratorium Forensik Polri mempunyai kedudukan, tugas pokok, dan fungsi sebagai berikut:

a. Kedudukan

Pusat Laboratorium Forensik Polri disingkat Puslabfor Polri adalah unsur pelaksana Badan Reserse Kriminal yang berkedudukan di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala Bagian Reserse Kriminal (Bareskrim Polri).

b. Tugas pokok

Puslabfor Polri mempunyai tugas membina fungsi kriminalistik/forensik dalam lingkungan Polri dan menyelenggarakan fungsi kriminalistik/forensik kepolisian pada tingkat pusat.

c. Fungsi

Dalam melaksanakan tugasnya, Puslabfor Polri berfungsi:

- Perumusan dan pengembangan petunjuk dan prosedur pelaksanaan fungsi kriminalistik/forensik kepolisian.
- Penyelenggaraan pengawasan dan pemberi arahan dalam rangka menjamin terlaksananya tugas sesuai petunjuk dan prosedur pelaksanaan fungsi kriminalistik/forensik polri.
- Pemberi dukungan dalam pelaksanaan fungsi kriminalistik/forensik kepolisian pada tingkat kewilayahan.
- Penyelenggara pemeriksa teknis kriminalistik TKP dan analisis Laboratoris barang bukti berkaitan dengan pelaksanaan penyelidikan, penyidikan, penuntutan, dan peradilan.
- Pemberi bantuan keahlian kriminalistik/forensik dalam proses penegakkan hukum.
- Pengkaji dan pengembang ilmu dan teknologi kriminalistik/forensik kepolisian.
- Pelaksana dalam melakukan analisa dan evaluasi pelaksanaan dan kinerja pengembangan fungsi kriminalistik/forensik kepolisian.
- Pengadaan koordinasi dan Kerjasama dengan badan-badan di dalam dan di luar Polri untuk kelancaran pelaksanaan tugasnya.

Dalam pelaksanaan fungsinya Pusat Laboratorium Forensik Polri dibantu oleh 5 Departemen yang masing-masing Departemen tersebut membidangi ilmu-ilmu Forensik sebagai berikut:

- 1) Bidang Dokumen dan Uang Palsu Forensik (Bid Dokupalfor)
- 2) Bidang Balistik dan Metalurgi Forensik (Bid Balmefor)
- 3) Bidang Fisika Komputer Forensik (Bid Fiskomfor)
- 4) Bidang Kimia Biologi dan Toksikologi Lingkungan Forensik (Bid Kimbiofor)
- 5) Bidang Narkoba Forensik (Bid Narkobafor)

2.2 Minuman Beralkohol

Minuman beralkohol adalah minuman yang mengandung etanol. Etanol adalah bahan psikoaktif dan konsumsinya menyebabkan penurunan kesadaran (Zulvikar, 2008). Sedangkan definisi minuman beralkohol menurut Peraturan Presiden Nomor 74 Tahun 2013 Pasal 1 yakni, “minuman beralkohol adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol (C_2H_5OH) yang diproses dari bahan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat dengan cara fermentasi dan distilasi atau fermentasi tanpa distilasi.”

Pengaturan minuman beralkohol yang pada umumnya disebut minuman keras, terdapat dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 86/MENKES/PER/IV/1977 tentang minuman keras yang di dalam peraturannya minuman keras digolongkan sebagai berikut:

- 1) Golongan A (Bir), dengan kadar etanol 1% sampai dengan 5%. Golongan ini dapat menyebabkan mabuk emosional dan bicara tidak jelas.
- 2) Golongan B (Champagne, Wine), dengan kadar etanol 5% sampai dengan 20%. Golongan ini dapat menyebabkan gangguan penglihatan, kehilangan sesorik, ataksia, dan waktu reaksi yang lambat.
- 3) Golongan C (Wiski), dengan kadar etanol lebih dari 20% sampai 55%. Golongan ini dapat menyebabkan gejala ataksia parah, penglihatan ganda atau kabur, pingsan, dan kadang terjadi konvulsi.

Minuman keras yang mengandung metanol merupakan minuman keras yang dikonsumsi dan beredar di pasaran dengan pengawasan pemerintah. Masyarakat awam sering mencampur minuman keras dengan bahan yang tidak layak untuk dikonsumsi dan sering disebut dengan minuman keras oplosan (Ayuningtyas, 2016). Bahan-bahan yang digunakan sebagai bahan tambahan untuk minuman keras oplosan sebagai berikut:

1) Minuman berenergi

Minuman keras jenis ini sering disebut “*sunrise*”. Penggemar minuman keras sering menambahkan suplemen minuman berenergi kedalam minumannya, tujuannya agar bisa mengurangi rasa pahit pada minuman beralkohol atau rasa menyengat pada alkohol yang kadarnya lebih tinggi.

2) Susu

Salah satu jenis minuman keras yang sering menyebabkan korban tewas adalah “susu macan atau lapen” yakni campuran minuman keras yang dicampur dengan susu. Jenis minuman ini banyak dijual di warung-warung miras tradisional.

3) Minuman bersoda

Salah satu minuman keras jenis ini disebut “*mansion cola*” yakni terdiri dari vodka dicampur dengan minuman bersoda. Tujuannya untuk memberikan cita rasa atau menutupi rasa tidak enak pada minuman keras.

4) Spiritus atau jenis minuman keras lain

Minuman keras yang biasanya dicampur dengan spiritus adalah vodka, pengoplosan ini dilakukan di warung-warung tradisional dengan tujuan untuk mendapatkan harga yang lebih murah.

5) Obat-obatan

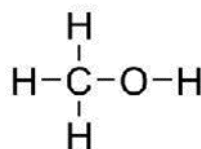
Obat-obatan yang sering ditambahkan sebagai bahan campuran untuk minuman keras biasanya seperti obat tetes mata, obat sakit kepala, hingga obat nyamuk. Tujuannya untuk mendapatkan efek memabukkan atau sekedar unjuk keberanian adu nyali. Efek samping yang paling nyata dari minuman keras jenis ini adalah kerusakan hati dan ginjal (Muchtadi dan Sugiyono, 1992).

Pada umumnya, konsumsi alkohol merusak semua organ tubuh secara berangsur-angsur akibat penggunaannya, dapat menyebabkan peradangan hati

(*liver chirrrosis*), menyebabkan pendarahan dalam perut (*maag*), penyakit jantung (*cardiomyopathy*), hormon seks, dan sisitem kekebalan tubuh. Pengaruhnya terhadap otak dapat secara akut (*intoksisasi delirium*) atau kronis (ataxia, pelupa, koordinasi motorik) (Aliah, 2008). Ketergantungan akan alkohol harus dipertimbangkan dengan gangguan lainnya seperti: gangguan kepribadian, antisosial, gangguan skizofrenia, gangguan bipolar dan depresi (Soetjningsih, 2004).

2.3 Metanol

Metanol merupakan bentuk yang paling sederhana dari alkohol. Rumus kimia dari metanol adalah CH_3OH dan dikenal dengan nama lain yaitu metal alkohol, metal hidrat, metal karbonil, *wood alcohol*, atau spiritus. Pada keadaan atmosfer metanol berbentuk cairan ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (Cline, 2012). Metanol memiliki titik didih sebesar $64,5^\circ\text{C}$ (Spencer, 1988).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Metanol (Sebayang, 2006).

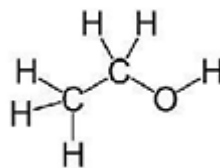
Metanol adalah alkohol industri yang dibuat secara sintesis dan biasanya tersedia dalam konsentrasi tinggi untuk keperluan industri. Metanol banyak digunakan dalam cat, penghilang pernis, pelarut dalam industri, pembuatan formaldehid, cairan mesin fotokopi, asam asetat, metil derivate dan asam anorganik, serta digunakan sebagai bahan tambahan dari etanol dalam proses denaturasi sehingga etanol menjadi toksik (Cline, 2012). Selain digunakan oleh industri, metanol juga terdapat pada buah-buahan, sayuran segar, jus buah, minuman fermentasi, dan *soft drink* yang mengandung aspartam yang merupakan sumber pembentukan metanol dalam tubuh manusia (CDC, 2015).

Metanol adalah zat kimia yang tidak layak dikonsumsi. Metanol yang masuk ke dalam tubuh akan segera teradsorpsi dan dengan cepat akan terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Secara perlahan metanol dimetabolisme di

dalam hati oleh enzim *alcohol dehydrogenase* membentuk formaldehid, lalu oleh enzim *aldehid dehydrogenase* dimetabolisme membentuk asam format. Kedua metabolit tersebut merupakan senyawa beracun bagi tubuh, terutama asam format selain dapat menyebabkan asidosis juga dapat menyebabkan kebutaan permanen (Johnson *et al.*, 1999). Menurut Paasma dan Jacobson (2009), gejala yang ditimbulkan akibat keracunan metanol dapat berupa sakit kepala, gangguan pada saluran pencernaan, cemas, sesak nafas, penglihatan mulai kabur hingga mengalami kebutaan.

2.4 Etanol

Etanol atau etil alkohol memiliki rumus kimia C_2H_5OH , dengan titik didihnya $78,4^{\circ}C$ sehingga memiliki sifat mudah terbakar (Simanjuntak, 2009). Etanol memiliki sifat mudah menguap, tidak berwarna, dan bersifat polar sehingga digunakan sebagai pelarut untuk berbagai senyawa (Sebayang, 2006). Menurut Arora *et al* (2007), sifat polar yang dimiliki etanol, membuatnya sering digunakan sebagai pelarut obat, pengawet dalam dunia medis, desinfektan serta biasanya digunakan sebagai antidotum (senyawa yang mengurangi atau menghilangkan toksisitas) keracunan metanol dan etilen glikol.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Etanol (Sebayang, 2006).

Penggunaan etanol dalam minuman keras dalam jumlah kecil memberikan keuntungan berupa rasa hangat bagi yang meminumnya, sedangkan penggunaan etanol secara berlebihan akan menyebabkan meningkatnya resiko kerusakan organ pada tubuh. Minuman keras yang mengandung etanol memiliki sifat antidepresan, sehingga membuat penikmatnya bisa menyalahgunakan minuman beralkohol tersebut (Kraut dan Kurtz, 2008).

Reaksi etanol masuk ke dalam tubuh akan segera diadsorbsi di lambung dan usus halus serta akan cepat terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Metabolisme etanol di dalam organ hati oleh enzim alkohol dehydrogenase menjadi asetaldehid. Asetaldehid yang dihasilkan bersifat toksik dan karsinogenik. Kemudian asetaldehid oleh enzim asetaldehid dehydrogenase diubah menjadi asam asetat. Asam asetat yang dihasilkan akan masuk ke siklus Krebs yang akhirnya menghasilkan karbon dioksida (CO₂) dan air. Gejala keracunan akibat etanol mula-mula dapat berupa mual, muntah, rasa kantuk, vertigo, mabuk, gastritis, diare, sakit pada punggung, dan lembab pada anggota gerak (Grossman, 2008).

2.5 Instrumen Gas Chromatography

Gas chromatography merupakan suatu jenis kromatografi yang digunakan dalam analisis kimia untuk memisahkan dan menganalisa campuran zat yang dilakukan antara fasa diam dan fasa geraknya. Kromatografi gas digunakan untuk mengidentifikasi senyawa kimia dengan sifatnya mudah diuapkan (Riccio *et al.*, 2008). Pemisahan senyawa dengan kromatografi gas dilakukan dengan cara memanfaatkan sifat-sifat fisik dari sampel, seperti kelarutan, adsorbs, keatsirian dan kepolaran (Johnson dan Stevenson, 1991). Berdasarkan jenis fasa diam dan fasa gerak yang dipartisi, kromatografi dapat digolongkan menjadi beberapa golongan sebagai berikut:

Tabel 2.1 Penggolongan Kromatografi Berdasarkan Fasa Diam dan Fasa Gerak

Fasa Diam	Fasa Gerak	Sistem kromatogafi
Padat	Cair	Cair- adsorbsi
Padat	Gas	Gas-adsorbsi
Cair	Cair	Cair-partisi
Cair	Gas	Gas-partisi

Sumber: (Johnson dan Stevenson, 1991)

Menurut McNair (2009) kromatografi gas di dalamnya terdapat kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dari kromatografi gas adalah hasil uji kuantitatif yang bagus dan harganya lebih murah. Sedangkan kekurangan dari kromatografi gas

adalah tidak dapat memberikan identitas atau struktur untuk setiap puncak yang dihasilkan dan pada saat proses karakteristik yang didefinisikan sistem tidak bagus.

Menurut Rubiyanto (2013), kegunaan kromatografi dapat digunakan dalam bidang sains dan dalam kehidupan sehari-hari. Kromatografi dalam bidang sains dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Pengujian suatu campuran, komponen-komponennya, dan hubungan antara komponen tersebut
2. Mengidentifikasi senyawa dalam suatu campuran menggunakan standar
3. Memurnikan dan memisahkan senyawa dari pengotor tertentu
4. Menentukan jumlah/konsentrasi campuran

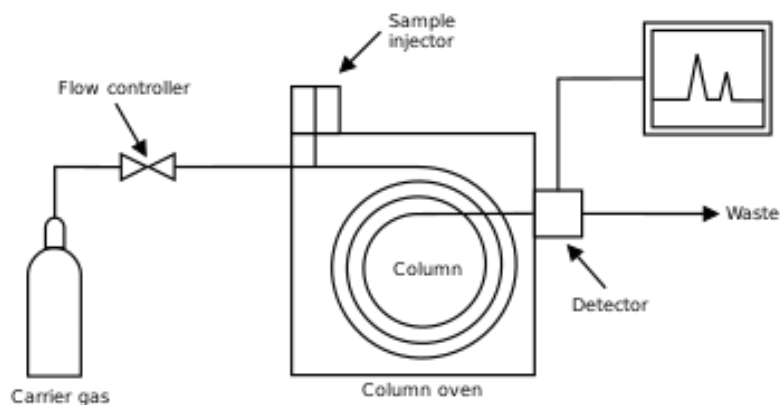
Sedangkan dalam kehidupan sehari-hari, kromatografi dapat digunakan untuk:

1. Penentuan jumlah senyawa zat aktif dalam suatu perusahaan farmasi
2. Mendeteksi senyawa-senyawa dalam darah tubuh pasien di rumah sakit
3. Menguji barang bukti khusus yang dijumpai di TKP dalam bidang forensik
4. Pengujian kualitas lingkungan

Pemurnian bahan untuk membuat produk dalam pabrik kimia.

2.5.1 Prinsip *gas chromatography*

Gas chromatography adalah alat yang digunakan untuk pemisahan suatu zat atau senyawa yang umumnya bersifat volatile (Khopkar, 2007). Prinsip dasar dari kromatografi gas adalah melibatkan volatilisasi atau penguapan sampel dalam injektor, pemisahan komponen-komponen dalam campuran, dan deteksi tiap komponen dengan detektor (Eaton, 1989). Kemudian direkam oleh rekorder dan menghasilkan kromatogram yang terdiri dari beberapa *peak* (Hendayana, 2006).



Gambar 2.3 Skema Kromatografi Gas (Gritter, 1991)

Komponen-komponen instrumentasi alat *gas chromatography* terdiri atas tabung silinder gas pembawa (*carrier gas*), *injector*, *column*, *amplifier*, *detector*, dan *recorder*.

1. Gas pembawa (*carrier gas*)

Gas pembawa berfungsi membawa komponen-komponen campuran yang akan atau sudah dipisahkan. Gas pembawa harus memenuhi persyaratan seperti bersifat inert, tidak terdapat dalam sampel yang akan dianalisis, murni dan mudah di dapat, murah, serta cocok untuk detektor yang digunakan (McNair dan Miller, 1998). Hidrogen, Argon, Helium dan Nitrogen adalah gas pembawa yang biasa digunakan, pemilihan gas tersebut tergantung pada faktor ketersediaan, kemurnian serta jenis detektor yang digunakan (Basset *et al.*, 1994).

Suatu pengatur tekanan digunakan untuk menjamin tekanan yang digunakan seragam pada kolom sehingga diperoleh laju aliran gas yang tetap (konstan). Aliran gas akan masuk ke dalam kolom, pada suhu tertentu aliran gas akan megelusi komponen keluar dari kolom dalam waktu tertentu. Waktu yang dibutuhkan saat sampel disuntikkan ke dalam kolom sampai komponen-komponennya keluar dari kolom dinamakan waktu retensi (*retention time*) pada kondisi operasi tertentu, biasanya waktu retensi untuk masing-masing komponen berbeda (Nastiti, 1999).

2. Tempat penyuntikan (*injector port*)

Injector port adalah tempat untuk menyediakan jalan masuk sampel ke dalam aliran gas pembawa dan untuk menyediakan panas yang cukup untuk menguapkan sampel. Sampel dalam bentuk cairan dimasukkan ke dalam *injector port*

menggunakan *syringe* yang berukuran 1-10 μL . Sebaiknya sampel disuntikan ke dalam kolom dalam waktu singkat agar komponen dapat terpisahkan dengan baik (Nastiti, 1999).

3. *Column*

Column merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam, sehingga merupakan komponen yang sentral. Ada 2 jenis kolom pada kromatografi gas yaitu kolom kemas (*packing column*) dan kolom kapiler (*capillary column*) (Gandjar dan Rohman, 2007). Kolom yang berfungsi sebagai pemisah mengandung fase diam yang bias berupa adsorben (kromatografi gas, padat) atau cairan. Kolom tersebut terbuat dari logam, gelas, atau silika.

4. *Detector*

Detector merupakan komponen utama pada instrument kromatografi gas. Detektor pada kromatografi gas adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi untuk mengubah sinyal gas pembawa dan komponen yang terkandung di dalamnya menjadi suatu sinyal elektronik. Sinyal elektronik ini berguna untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen yang terpisah diantara fase diam dan fase gerak. Detektor yang biasa digunakan dalam kromatografi gas yaitu, detektor FID (*flame inozation detector*) atau TCD (*thermal conductivity detector*) (Gandjar dan Rohman, 2007).

5. *Recorder* (perekam)

Recorder adalah sistem pembacaan yang dilengkapi dengan perangkat lunaknya (*software*) untuk mengubah signal detektor yang diperkuat melalui *amplifier* menjadi bentuk kromatogram, memfasilitasi pengaturan parameter instrumen, menampilkan kromatogram, merekam data analisis, serta perhitungan-perhitungan dengan statistik.

2.5.2 Analisis kualitatif dan kuantitatif

Kromatografi gas secara umum dapat digunakan untuk pemisahan dan deteksi semua jenis senyawa yang mudah menguap dan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif suatu senyawa dalam campuran. Untuk analisis kualitatif secara kromatografi gas, parameter hasil pemisahan yang digunakan adalah waktu retensi.

Waktu retensi atau waktu tambat dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data uji kualitatif, sedangkan luas puncak dapat digunakan sebagai data kuantitatif yang keduanya telah dikonfirmasi dengan senyawa baku (Gandjar dan Rohman, 2009).

Analisis kuantitatif kromatografi gas dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu metode standar kalibrasi, metode standar internal, dan metode normalisasi area. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode standar internal. Menurut Skoog *et al.* (1994) analisis kuantitatif secara kromatografi gas menggunakan metode standar internal. Metode standar internal digunakan karena terdapat ketidakpastian yang disebabkan injeksi sampel, kecepatan aliran gas, dan variasi keadaan kolom dapat diminimalisasi. Dalam prosedur ini, standar internal yang telah diukur dengan seksama dimasukkan ke dalam setiap larutan baku dan sampel, dan rasio luas puncak analit terhadap luas puncak standar internal adalah parameter analisisnya. Syarat keberhasilan metode ini adalah puncak standar internal dan puncak lainnya harus terpisah dengan baik.

Standar internal yang digunakan dalam kromatografi gas sangat bervariasi sesuai dengan teknik, peralatan dan kolom yang digunakan. Senyawa yang sering digunakan sebagai standar internal yaitu *n*-propanol dan *t*-butanol (Zuba *et al.*, 2002). Penggunaan standar internal ini bertujuan untuk membandingkan hasil kromatogram standar dengan sampel, standar internal ditambahkan pada sampel yang akan dianalisis (Cairns, 2009).

2.6 Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dapat didefinisikan sebagai serangkaian uji yang dilakukan sebelum analisis untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Seorang analisis harus memastikan bahwa sistem dan prosedur yang digunakan harus mampu memberikan data yang dapat diterima.

Berdasarkan *United State Pharmacopeia* (USP) parameter yang ditentukan dalam uji kesesuaian sistem adalah *plate number* (N), *tailing factor* (Tf), resolusi (Rs), dan *relative standard* (RSD) untuk tinggi puncak dan luas puncak dari

serangkaian injeksi (Snyder *et al.*, 1997). Parameter uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada Tabel 2.2 sebagai berikut:

Tabel 2.2 Parameter Uji Kesesuaian Sistem

Parameter	Rekomendasi FDA
Resolusi	$R_s \geq 2$
<i>Tailing factor</i>	$T_f < 2$
<i>Column plate number</i>	$N > 2000$
Keterulangan injeksi	$RSD \leq 2\%, n \geq 5$

Sumber: (Snyder *et al.*, 2010)

Berikut ini penjelasan mengenai parameter-parameter uji kesesuaian sistem yang dilakukan pada pengujian ini:

a). Efisiensi kolom

Pemisahan yang terjadi pada analisis dengan menggunakan kromatografi gas dipengaruhi oleh efisiensi kolom dan efisiensi pelarut. Efisiensi kolom menentukan pelebaran puncak kromatogram, yang dapat diukur dengan menghitung jumlah lempeng teoritis (N) dan panjang kolom sesuai dengan plat teoritis (HETP) (Jennings *et al.*, 1987).

Menurut Khopkar (2003) efisiensi kolom dapat dijelaskan dengan teori plate (N). Teori plate menggambarkan bahwa kolom terdiri dari beberapa lapisan plat. Semakin besar nilai N maka pemisahan yang dihasilkan semakin baik. Nilai lempeng teoritis merupakan parameter yang menghitung efisiensi kromatografi. Menyatakan jumlah peristiwa partisi yang dialami oleh analit pada setiap saat yang dibawa oleh fase gerak selama elusi. Dimana semakin besar nilai lempeng teoritis, maka puncak yang diberikan oleh alat lebih efisien (Crawford, 2011). Nilai lempeng (*plate number*) dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$N = 16 \left(\frac{R_t}{W} \right)^2 \quad (1)$$

Keterangan:

R_t: waktu retensi puncak

W: lebar dasar puncak

b). Penentuan sistem presisi

Menurut monograp Farmakope Amerika, yaitu simpangan baku relatif (RSD) respon puncak dapat diukur, baik sebagai tinggi puncak atau luas puncak.

Penentuan RSD dapat dilakukan sebanyak 5 kali injeksi, nilai RSD yang disyaratkan adalah $\leq 2\%$, sementara itu jika nilai RSD boleh lebih besar dari 2%, maka dilakukan 6 kali replikasi injeksi.

c). Resolusi (daya pisah)

Menurut Hendayana (2010), tujuan utama dari kromatografi adalah memisahkan komponen-komponen campuran secara sempurna. Derajat pemisahan dua komponen dalam proses kromatografi dinyatakan dengan istilah resolusi (R_s). Berikut adalah persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai resolusi:

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W_2 + W_1)} \quad (2)$$

Dimana t_{R1} dan t_{R2} merupakan waktu retensi puncak 1 dan 2, sedangkan W_1 dan W_2 adalah lebar puncak 1 dan 2. Nilai resolusi (R_s) harus memiliki ketepatan lebih dari atau sama dengan 1,5 karena akan memberikan pemisahan puncak yang baik (*base line resolution*) (Harvey, 2000).

2.7 Validasi Metode Analisis

Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti objektif bahwa berbagai persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus dapat terpenuhi. Validasi ini dilakukan pada suatu metode non standar dan metode yang dikembangkan di laboratorium. Suatu laboratorium harus memvalidasi metode tidak baku, metode yang didesain/dikembangkan laboratorium, metode baku yang digunakan diluar lingkup yang dimaksud, metode baku yang dimodifikasi, serta metode baku untuk menegaskan dan mengkonfirmasi bahwa metode itu sesuai untuk penggunaan yang dimaksudkan (Riyanto, 2014).

Sebelum digunakan dalam pengujian rutin dengan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan maka metode analisis perlu divalidasi. Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Dengan kata lain tujuan dari validasi metode analisis adalah untuk mengkonfirmasi atau memastikan metode analisis yang dipakai sesuai dengan peruntukannya.

Parameter pengujian sangat penting dilakukan didalam suatu analisis. Tujuan dilakukan penambahan parameter pengujian untuk mengetahui tingkat keakuratan data yang dihasilkan dengan nilai keberterimaan/literatur yang telah ditetapkan. Parameter validasi analisis dalam pemeriksaan alkohol yang dilakukan meliputi uji efesiensi kolom, linearitas, limit deteksi, limit kuantitasi, presisi, akurasi, dan estimasi ketidakpastian pengukuran.

2.7.1 Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu yang telah diberikan. Linearitas dapat dilihat melalui kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara respon dengan konsentrasi analit pada beberapa seri larutan baku. Dari kurva kalibrasi ini kemudian akan ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan yaitu $y=bx+a$, dimana y adalah respon instrumen, a adalah intersep, x adalah konsentrasi, dan b adalah slope yang sebenarnya. Tujuan dari dibuatnya persamaan regresi ini adalah untuk menentukan estimasi terbaik untuk slope dan intersep sehingga akan mengurangi residual error, yaitu perbedaan nilai hasil percobaan dengan nilai yang diprediksi melalui persamaan regresi linear (Harvey, 2000).

Menurut Harmita (2004), koefisien kolerasi (r) digunakan sebagai parameter adanya hubungan linear pada analisis regresi linear. Hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai b adalah 0 dan r adalah +1 atau -1 tergantung arah garis. Nilai koefisien kolerasi yang memenuhi persyaratan suatu metode analisis dapat diterima adalah lebih besar dari 0,9970 (ICH, 2005).

2.7.2 Presisi

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulang dari ukuran yang sama. Hal ini mencerminkan kesalahan yang terjadi dalam sebuah metode. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau deviasi standar relative dari hasil analisis yang diperoleh (Riyanto, 2014). Menurut Yunowo dan Indrayanto (2005), penentuan presisi dapat

dibagi menjadi tiga kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan merupakan ketepatan yang dilakukan berulang kali oleh analis yang sama, menggunakan peralatan dengan kondisi yang sama dan interval waktu yang pendek. Presisi antara merupakan ketepatan yang dilakukan oleh analis yang sama pada kondisi percobaan dengan peralatan dan reagen yang berbeda. Sedangkan ketertiruan adalah mempresentasikan presisi hasil yang dapat dilakukan pada tempat percobaan yang lain dengan tujuan untuk memverifikasi bahwa metode akan menghasilkan hasil yang sama pada fasilitas tempat, peralatan, pereaksi, pelarut dan analis yang berbeda.

Presisi biasanya diukur dari nilai simpangan baku atau simpangan baku relative (koefisien variasi), dengan kriteria jika koefisien variasi (KV) pada metode analisis adalah 2% atau kurang. Jika nilai $KV < 2\%$, maka bisa disebut metode analisis yang digunakan memberikan presisi yang baik. Penentuan presisi dapat menggunakan persamaan berikut:

$$SD = \frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-1} \quad (3)$$

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \quad (4)$$

Dimana SD merupakan nilai perhitungan dari standar deviasi dan $\bar{X}$ merupakan nilai rata-rata (Harmita, 2004).

2.7.3 Limit deteksi dan limit kuantitasi

Limit deteksi atau *limit of detection* (LOD) merupakan jumlah terkecil analit di dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan blanko. Limit kuantitasi atau *limit of quantitation* (LOQ) menunjukkan jumlah terkecil analit dalam sampel yang sama dan mampu memenuhi kriteria cermat dan seksama dengan respon analitnya 10 kali lebih besar dibandingkan respon dari sinyal blanko.

Penentuan limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ) berbeda-beda tergantung pada metode analisis tersebut menggunakan instrumen atau tidak.

Apabila metode yang digunakan tidak menggunakan instrumen, dapat ditentukan dengan mendeteksi analit di dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Sedangkan pada analisis menggunakan instrumen dapat ditentukan dengan cara mengukur blanko beberapa kali kemudian dihitung simpangan baku respon blanko. Nilai LOD dan LOQ dapat dihitung secara statistik melalui garis linear dari kurva kalibrasi, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ($S_{y/x}$) (Harmita, 2004). Sehingga penentuan LOD dan LOQ yang dihasilkan dari kurva kalibrasi dapat ditentukan dengan persamaan:

$$LOD = \frac{3 \times S(y/x)}{b} \quad (5)$$

$$LOQ = \frac{10 \times S(y/x)}{b} \quad (6)$$

Keterangan

b : nilai *slope* dari persamaan kurva kalibrasi

$S_{y/x}$: nilai standar deviasi dari blanko

2.7.4 Akurasi

Akurasi atau kecermatan merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Riyanto, 2014). Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel (Gandjar dan Rohman, 2014).

Penentuan akurasi dapat ditentukan melalui dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan larutan baku (*standard addition method*). Metode simulasi, yaitu perolehan kembali (*recovery*) ditentukan dengan cara membuat sampel plasebo kemudian menambahkan 80% sampai 120% dari analit yang diperkirakan kedalam sampel. Metode penambahan standar, yaitu *recovery* ditentukan dengan cara sampel dianalisis lalu sejumlah analit yang diperiksa (standar/*pure* analit) ditambahkan kedalam sampel kemudian dianalisis kembali. Dalam kedua metode tersebut, perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang didapat dengan hasil yang sebenarnya. Pada umumnya

persyaratan *recovery* adalah tidak boleh lebih dari 5% (Riyanto, 2014). *Recovery* dapat ditentukan dengan persamaan:

$$\%Recovery = \frac{\text{Konsentrasi spike} - \text{Konsentrasi sampel}}{\text{Konsentrasi standar}} \times 100\% \quad (7)$$

Terdapat rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel 2.3 sebagai berikut:

Tabel 2.3 Rentang Nilai *Recovery* Berdasarkan Konsentrasi Sampel

Analit pada matriks sampel (A)	<i>Recovery</i> yang diterima (%)
10 < A ≤ 100%	98-102
1 < A ≤ 10%	97-103
0,1 < A ≤ 1%	95-105
0,001 < A ≤ 0,1 %	90-107
100 ppb < A ≤ 1 ppm	80-110
10 ppb < A ≤ ppb	60-115
1 ppb < A ≤ ppb	40-120

Sumber: (Harmita, 2004)

2.7.5 Estimasi ketidakpastian

Menurut Pramono (2014) estimasi ketidakpastian merupakan suatu parameter yang menetapkan rentang nilai di dalamnya terdapat nilai benar (*true value*). Ketidakpastian memadukan semua kesalahan yang diketahui menjadi suatu rentang tunggal. Nilai ketidakpastian ditunjukkan dengan tanda “±”. Sumber-sumber ketidakpastian dapat berasal dari sampling, preparasi contoh, peralatan, instrumen, kesalahan acak dan sistematis, serta personil. Estimasi ketidakpastian dalam analisa kimia dapat ditentukan dengan diagram tulang ikan (*fishbone*).

Mengestimasi masing-masing komponen ketidakpastian sehingga ekuivalen dengan simpangan baku, sesuai dengan factor kesalahannya maka dilakukan kuantifikasi masing-masing komponen ketidakpastian. Perhitungan faktor penyumbang ketidakpastian dapat dikelompokkan menjadi dua berdasarkan kategori, yaitu A dan B. Penentuan tipe A berdasarkan data percobaan dan dihitung dari rangkaian pengamatan berulang, sedangkan tipe B merupakan komponen ketidakpastian berdasarkan informasi yang dapat dipercaya, misalnya spesifikasi pabrik, data pustaka, atau data validasi metode (Pramono, 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: GC-FID Agilent 6890N dengan kolom Hp *Innowax*, fase diam *Polyethylene glycol* (PEG), gas pembawa Helium UHP (*Ultra High Pure*), gas pembakar (hidrogen dan udara tekan), syringe 10 µl, beaker glass 25 mL, labu ukur 10 mL, pipet tetes, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 10 mL, kertas saring, pro pipet, dan tabung eppendorf.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: etanol p.a. (merck), metanol p.a. (merck), n-butanol p.a. (merck), akuades, dan sampel minuman beralkohol.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Optimasi *gas chromatography*

Optimasi *gas chromatography* dilakukan secara rutin sebelum dilakukan pengujian dengan kondisi optimasi pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Optimasi Instrumen *Gas Chromatography*

Parameter	Kondisi optimasi
Kolom	HP Innowax
Jenis detektor	<i>Flame ionization detector</i> (FID)
Suhu oven	50 °C (2 menit)- 200 °C dengan 10°C/menit
Suhu <i>injector</i>	200 °C
Suhu <i>detector</i>	250 °C
<i>Split ratio</i>	50:1
<i>H2 flow</i>	40 mL/menit
<i>Air flow</i>	400 mL/menit
Volume injek	1 µL
<i>Constant flow</i>	1 mL/menit

3.3.2 Analisis sampel miras oplosan

Sampel miras oplosan dimasukkan ke dalam tabung eppendrof tanpa melalui prepasi, kemudian dihomogenkan. Sampel diinjeksikan secara langsung

dengan volume injek 1 μ L sebanyak 6 kali menggunakan *syringe* ke dalam sistem *GC-FID*, kemudian dicatat luas area puncak metanol atau etanol yang dihasilkan.

3.3.3 Pembuatan larutan standar induk metanol 10%

Larutan metanol pekat diambil sebanyak 1,26 mL dengan pipet ukur untuk membuat larutan induk metanol 10%, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Akuades ditambahkan sampai tanda batas, diseka labu ukur menggunakan kertas saring dan ditepatkan volumenya dengan pipet tetes sampai tanda batas. Larutan digojog dan dihomogenkan.

3.3.4 Pembuatan larutan standar induk etanol 50%

Larutan etanol pekat diambil sebanyak 6,33 mL dengan pipet ukur untuk membuat larutan induk etanol 50%, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Akuades ditambahkan sampai tanda batas, diseka labu ukur menggunakan kertas saring dan ditepatkan volumenya dengan pipet tetes sampai tanda batas. Larutan digojog dan dihomogenkan.

3.3.5 Pembuatan larutan standar induk n-butanol 10%

Larutan n-butanol pekat diambil sebanyak 1,24 mL dengan pipet ukur untuk membuat larutan induk n-butanol 10%, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Akuades ditambahkan sampai tanda batas, diseka labu ukur menggunakan kertas saring dan ditepatkan volumenya dengan pipet tetes sampai tanda batas. Larutan digojog dan dihomogenkan.

3.3.6 Pembuatan larutan deret standar metanol

Deret standar metanol 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5% dan 1% dilakukan dengan masing-masing dipipet 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; dan 1 mL dari larutan induk metanol 10%. Masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan n-butanol 1% dengan mengambil sebanyak 1 mL dari larutan n-butanol 10%. Larutan ditambahkan akuades sampai tanda batas, diseka labu ukur menggunakan kertas saring dan ditepatkan volumenya dengan pipet tetes sampai tanda batas. Larutan digojog dan dihomogenkan.

3.3.7 Pembuatan larutan deret standar etanol

Deret standar etanol 0,5%, 1%, 5%, 10% dan 20% dilakukan dengan masing-masing dipipet 0,1; 0,2; 1; 2; dan 4 mL dari larutan induk etanol 50%. Masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan n-butanol 1% dengan mengambil sebanyak 1 mL dari larutan n-butanol 10%. Larutan ditambahkan akuades sampai tanda batas, diseka labu ukur menggunakan kertas saring dan ditepatkan volumenya dengan pipet tetes sampai tanda batas. Larutan digojog dan dihomogenkan.

3.3.8 Uji kesesuaian sistem

1. Penentuan nilai lempeng

Penentuan nilai lempeng dilakukan dengan cara larutan etanol 0,5% dengan standar internal n-butanol 1% diinjeksikan 1 μ L menggunakan syringe sebanyak 3 kali ke sistem GC-FID, dicatat waktu retensi dan lebar alas puncak yang dihasilkan kemudian ditentukan nilai lempengnya (N).

2. Penentuan presisi instrumen

Larutan metanol 0,1% dan etanol 0,5% dengan standar internal n-butanol 1% diinjeksikan 1 μ L menggunakan syringe sebanyak 6 kali ke sistem GC-FID, dicatat waktu retensi puncak dan luas area yang dihasilkan kemudian tentukan nilai presisinya.

3. Penentuan resolusi

Penentuan resolusi dilakukan dengan cara larutan metanol 0,1% dan etanol 0,5% dengan standar internal n-butanol 1% diinjeksikan 1 μ L menggunakan syringe sebanyak 6 kali ke sistem GC-FID, kemudian tentukan nilai resolusinya (R_s).

3.3.9 Validasi Metode

Penentuan validasi metode dilakukan pengujian dengan beberapa parameter diantaranya:

1. Linearitas

Larutan standar metanol dan etanol yang ditambah dengan standar internal n-butanol, masing-masing standar diinjeksikan 1 μ L menggunakan syringe ke sistem GC-FID, dicatat luas area standar metanol dan etanol yang dihasilkan, kemudian ditentukan persamaan regresi liniernya.

2. Penentuan LOD dan LOQ

Penentuan limit deteksi dan limit kuantitasi dapat ditentukan dengan menggunakan konsentrasi dari standar metanol dan etanol dimasukkan ke persamaan regresi linier, dan diperoleh nilai luas area yang terukur dari metanol dan etanol. Hasil pengukuran ditentukan nilai standar deviasi, kemudian dilakukan perhitungan LOD dan LOQ.

3. Penentuan presisi

Sampel Luas area puncak metanol dan etanol yang dihasilkan dari pengukuran sampel dengan sistem *GC-FID* ditentukan konsentrasi sampel menggunakan persamaan regresi linier. Hasil analisis dari konsentrasi sampel yang dihasilkan dilakukan dengan menghitung persen *Relative Standard Deviation* (RSD).

4. Penentuan akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan membuat larutan spike menggunakan campuran larutan standar metanol 0,1% dan etanol 5%. Masing-masing larutan standar diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditera dengan sampel sampai tanda batas. Campuran diinjeksikan 1 μ L sebanyak 3 kali (triplo) menggunakan *syringe* ke sistem *GC-FID*, dicatat luas area yang dihasilkan, kemudian ditentukan nilai akurasi dengan menghitung persen *recovery* (perolehan kembali).

5. Penentuan ketidakpastian pengukuran

Penentuan ketidakpastian pengukuran dilakukan dengan cara mencatat informasi penting mengenai ketertelusuran alat yang digunakan saat pengujian seluruhnya, dilakukan perhitungan ketidakpastian baku dan ketidakpastian gabungan dalam metode pengujian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode penentuan alkohol pada minuman keras oplosan dengan *gas chromatography* ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar metanol dan etanol pada sampel minuman keras oplosan. kadar etanol ditentukan sebagai kandungan utama pada minuman beralkohol, sedangkan metanol adalah sebagai bahan tambahan yang ditambahkan ke dalam minuman beralkohol. Selain itu, validasi metode dilakukan untuk memutuskan apakah prosedur pengujian pada minuman beralkohol ini efektif dalam memberikan hasil yang valid menggunakan metode pengujian tersebut. Proses validasi metode dalam penelitian ini adalah uji kesesuaian sistem, linearitas, presisi, limit deteksi, limit kuantitasi, akurasi, dan ketidakpastian dari hasil pengukuran.

4.1 Optimasi Gas Chromatography

Optimasi pada sistem kromatografi gas merupakan langkah awal yang sangat diperlukan sebelum melakukan analisis menggunakan *gas chromatography* (GC). Optimasi ini ditujukan agar terjadi pemisahan sempurna antar *peak* sampel, sehingga pengukuran kadar setiap senyawa tidak dipengaruhi oleh senyawa lain. Selain itu, optimasi digunakan agar *peak* sampel tidak bertumpuk dengan standar internal (Waskito, 2013). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode standar internal. Menurut Skoog *et al.* (1994) analisis kuantitatif secara kromatografi gas menggunakan metode standar internal. Metode standar internal digunakan karena terdapat ketidakpastian yang disebabkan injeksi sampel, kecepatan aliran gas, dan variasi keadaan kolom dapat diminimalisasi. Standar internal dalam kimia analitik adalah suatu zat kimia yang ditambahkan dalam jumlah yang tetap ke dalam larutan standar kalibrasi dan larutan sampel dalam suatu analisis. Hasil optimasi kromatografi gas pada kondisi tertentu dapat dilihat pada Tabel 3.1

Analisis senyawa dalam menentukan kadar metanol dan etanol suatu sampel dilakukan dengan kromatografi gas ini menggunakan detektor FID (*Flame Ionization Detector*), dikarenakan detektor FID mempunyai sensitivitas sangat

tinggi terhadap senyawa-senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, serta responnya cenderung linear diberbagai konsentrasi (Skoog *et al.*, 2007). Prinsip kerja detektor FID yaitu adanya proses pembakaran yang ditimbulkan dari reaksi udara dan H₂. Pada proses ini menghasilkan energi yang akan mengionisasi komponen-komponen sampel yang dikeluarkan dari kolom, kemudian melepaskan elektron dan berubah menjadi ion-ion (Djenar *et al.*, 2006).

Pemilihan kolom merupakan hal yang sangat penting, karena kolom merupakan tempat terjadinya pemisahan komponen-komponen sampel serta di dalamnya terdapat fase diam yang berperan penting dalam pemisahan tersebut. Fase diam yang digunakan yaitu kolom Hp *Innowax*, merupakan fase diam yang memiliki sifat polar dengan kandungan polietilen glikol di dalamnya. Pemilihan fase diam ini berdasarkan polaritas dari sampel yang akan diujikan dengan prinsip *like dissolve like*, fase diam yang polar akan lebih berinteraksi dengan senyawa yang polar, dan sebaliknya fase diam yang non polar akan lebih berinteraksi dengan senyawa yang non polar. Kolom Hp *Innowax* yang digunakan merupakan jenis kolom kapiler yang memiliki kemampuan pemisahan lebih baik dibandingkan dengan kolom kemas.

Gas pembawa yang digunakan pada kromatografi gas yaitu gas helium, nitrogen, dan hidrogen. Gas helium dan hidrogen berperan sebagai fasa gerak. Sedangkan gas nitrogen berperan sebagai *make up* gas. Gas helium dapat memberikan efisiensi kromatogram yang lebih baik (mengurangi pelebaran pita) yang berfungsi sebagai ionisasi nyala dan fotometri nyala. Gas hidrogen berfungsi sebagai gas pembakar pada detektor FID, karena sifatnya yang mudah terbakar dan memiliki suhu pembakaran yang tinggi. Sedangkan gas nitrogen berfungsi sebagai ionisasi nyala, tangkap elektron dan fotometri nyala, serta berperan sebagai *make up* gas yaitu untuk membersihkan zat pengotor yang ada dalam detektor.

Kromatografi gas didasarkan pada dua sifat senyawa yang dipisahkan, yaitu kelarutan dan titik didih senyawa. Elusi pada kromatografi gas adalah pemograman suhu saat terjadinya pemisahan. Jenis elusi pada alat kromatografi gas terdapat dua jenis, yaitu *isothermal temperature* dan *gradien temperature*. *Isothermal temperature* adalah suhu yang digunakan tetap, sedangkan *gradien temperature*

pemisahan dilakukan dengan suhu terendah, lalu diatur penambahan suhunya secara berkala. Pengaturan suhu pada pemisahan kromatogram menggunakan jenis elusi *gradien temperature*. Pemisahan jenis elusi ini gradien ini dilakukan dengan suhu terendah yaitu 50-200 °C. Pemisahan ini berdasarkan titik didih terendah dan titik didih tertinggi suatu senyawa sampel, lalu diatur penambahan suhunya secara berkala sehingga didapatkan pemisahan yang optimum.

Sistem penginjeksian sampel pada kromatografi gas pada dasarnya ada 4, yaitu injeksi langsung (*direction injection*), injeksi terpecah (*split injection*), injeksi tanpa pemecahan (*splitless injection*), dan injeksi langsung ke kolom (*on column injection*). Sampel yang diinjeksikan menggunakan *split ratio* 50:1. Split injeksi dipilih karena sampel yang disuntikkan pada kolom kapiler terlalu kecil (*trace analysis*) yaitu 1,0 µL sehingga dilakukan suatu cara untuk mengecilkan ukuran sampel setelah penguntukan dengan teknik split. Sampel dimasukkan ke dalam aliran gas pembawa, setelah melewati gas pembawa, 1 aliran akan masuk ke kolom dan aliran lainnya akan dibuang bersama zat pengotor. Rasio 50:1 menunjukkan bahwa dari 1,0 µL yang diinjeksikan, hanya 0,5 µL yang masuk ke dalam kolom.

4.2 Uji Kesesuaian Sistem

Sebelum dilakukan pengujian rutin pemeriksaan kadar alkohol pada minuman keras oplosan, sebaiknya perlu dilakukan uji kesesuaian sistem terlebih dahulu dengan tujuan seorang analisis harus mampu memastikan bahwa sistem dan prosedur yang digunakan harus mampu memberikan data yang akurat serta dapat diterima. Berikut ini adalah hasil dari uji kesesuaian sistem yang telah dilakukan:

1. Nilai lempeng (*plate number*)

Nilai lempeng teoritis merupakan parameter yang menghitung efisiensi kromatografi. Pemisahan kromatografi gas dipengaruhi oleh efisiensi kolom dengan menentukan pelebaran puncak kromatogram, yang dapat diukur dengan menghitung jumlah lempeng teoritis (N) (Jennings *et al.*, 1987). Efisiensi kolom pada pengujian ini dilakukan dengan menyutikkan larutan etanol 0,5% dan n-butanol 1% sebanyak 3 kali pengulangan. Hasil perhitungan nilai lempeng (N) dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Penentuan Nilai Lempeng

Kadar etanol 0,5%	Rt (menit)	Width (menit)	N
Replika 1	6,975	0,0344	657796,444
Replika 2	6,977	0,0351	632183,557
Replika 3	6,977	0,0344	658173,729
Rata-rata			649384,5767

Berdasarkan Tabel 4.1 suatu nilai efisiensi kolom dinyatakan dalam teori *plate number* (N). Hasil uji efisiensi kolom diperoleh nilai lempeng (N) sebesar 649.384,5767. Nilai lempeng yang baik berdasarkan rekomendasi yaitu memiliki nilai >2000, sehingga pada metode ini dapat dikatakan, bahwa kolom yang digunakan memberikan pemisahan yang baik (Snyder *et al.*, 2010). Semakin besar nilai N maka pemisahan yang dihasilkan semakin baik.

2. Presisi instrumen

Penentuan sistem presisi instrumen yang dilakukan pada uji kesesuaian sistem ini bertujuan untuk mengetahui suatu hasil pengujian pada alat atau instrumen kromatografi gas yang dilakukan dengan berulang dapat memberikan nilai keterulangan yang baik. Presisi instrumen pada pengujian ini dilakukan dengan menyuntikkan campuran metanol 0,1%; etanol 0,5%; dan n-butanol 1% sebanyak 6 kali pengulangan. Hasil perhitungan nilai presisi instrumen dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Penentuan Presisi Instrumen

Pengulangan	Metanol 0,1%		Etanol 0,5%	
	Rt (menit)	Luas Area	Rt (menit)	Luas Area
Replika 1	6,568	20,1346	6,972	171,3135
Replika 2	6,568	20,3880	6,977	177,3904
Replika 3	6,568	20,2203	6,976	173,8451
Replika 4	6,569	19,5324	6,978	177,7334
Replika 5	6,568	19,8554	6,979	173,0898
Replika 6	6,570	19,4667	6,976	172,6700
SD	0,0008		0,0024	
RSD (%)	0,0121		0,0344	

Berdasarkan Tabel 4.2 hasil penentuan presisi suatu instrumen, jika dilihat dari masing-masing waktu retensi sehingga diperoleh nilai %RSD pada metanol sebesar 0,0121% dan etanol sebesar 0,0344%. Menurut tabel tentang parameter uji kesesuaian sistem, nilai presisi dengan keterulangan yang dinyatakan dengan simpangan baku relatif (RSD) yaitu $\leq 2\%$, sehingga metode ini dapat diberikan kriteria presisi pada uji kesesuaian sistem (Snyder *et al.*, 2010)

3. Resolusi

Uji kesesuaian sistem selanjutnya yaitu penentuan resolusi. Tujuan utama dilakukannya penentuan resolusi dalam kromatografi adalah memisahkan komponen-komponen campuran secara sempurna (Hendayana, 2010). Penentuan resolusi pada pengujian ini dilakukan dengan menyuntikkan campuran metanol 0,1%; etanol 0,5%; dan n-butanol 1% sebanyak 6 kali pengulangan. Hasil perhitungan nilai resolusi (Rs) dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Penentuan Nilai Resolusi

Pengulangan	Metanol (0,1%)		Etanol 0,5%		Resolusi (Rs)
	Rt (menit)	Width (menit)	Rt (menit)	Width (menit)	
Replika 1	6,568	0,0399	6,972	0,0342	10,9042
Replika 2	6,568	0,0392	6,977	0,0344	11,1141
Replika 3	6,568	0,0404	6,976	0,0336	11,0270
Replika 4	6,569	0,0421	6,978	0,0351	10,5959
Replika 5	6,568	0,0418	6,979	0,0356	10,6202
Replika 6	6,57	0,0394	6,976	0,0345	10,9878
Rata-rata					10,8749

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil perhitungan nilai resolusi (Rs) antara *peak* metanol dan etanol diperoleh sebesar 10,8749. Nilai resolusi yang baik adalah $\geq 1,5$, sehingga hasil tersebut dapat diterima dan memberikan pemisahan puncak yang baik. Nilai resolusi menunjukkan kromatografi gas telah memisahkan senyawa-senyawa dengan selektifitas yang tinggi dalam kondisi yang optimum.

4.3 Validasi Metode Analisis

4.3.1 Linearitas

Linearitas merupakan salah satu parameter yang sangat penting dilakukan dalam suatu analisis. Tujuan dilakukan parameter linearitas untuk mengetahui apakah variable uji mempunyai hubungan yang linear atau tidak secara signifikan. Linearitas dapat ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi. Selain itu, juga bertujuan untuk kepentingan analisis secara kuantitatif, yaitu untuk menghitung kadar suatu analit yang terkandung dalam sampel.

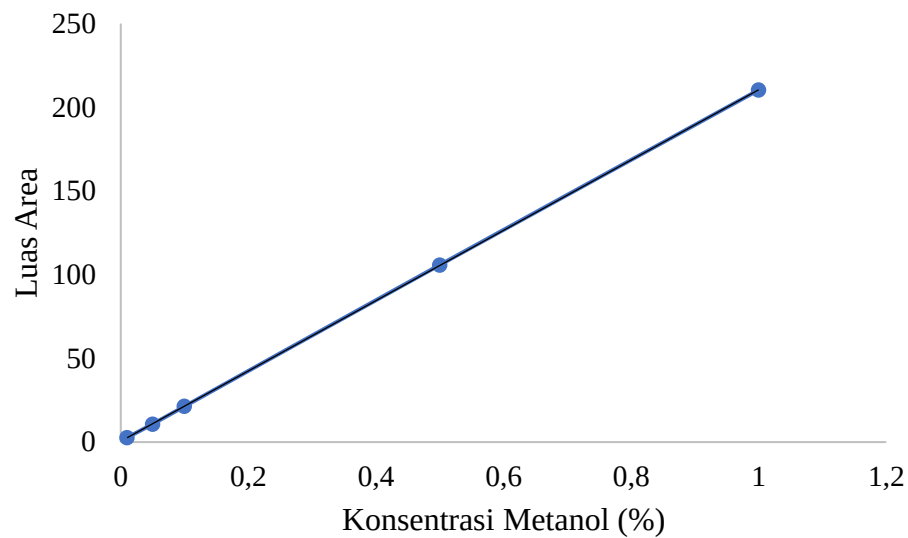
Linearitas ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi. Larutan standar yang digunakan dalam penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara membuat larutan standar metanol dan etanol yang ditambahkan dengan standar internal n-butanol kemudian diencerkan dengan akuades. Pembuatan larutan standar metanol dibuat dengan konsentrasi 0,01%; 0,05%; 0,1%; 0,5% dan 1%, sedangkan untuk etanol dibuat dengan konsentrasi 0,5%; 1%; 5%; 10%; dan 20%. Penggunaan standar internal ini bertujuan untuk membandingkan hasil kromatogram standar dengan sampel, standar internal ditambahkan pada sampel yang akan dianalisis, serta untuk meminimalisir persegeran *peak* yang mungkin terjadi pada saat analisis berlangsung (Cairns, 2009). Hasil pengukuran masing-masing standar dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar

Metanol			Etanol		
Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area
0,01	6,586	2,7330	0,5	6,968	181, 8279
0,05	6,581	10,7641	1	6,971	367,0095
0,1	6,582	21,342	5	6,979	1764,474
0,5	6,579	105,8039	10	6,992	3480,885
1	6,58	210,2989	20	7,003	6869,555

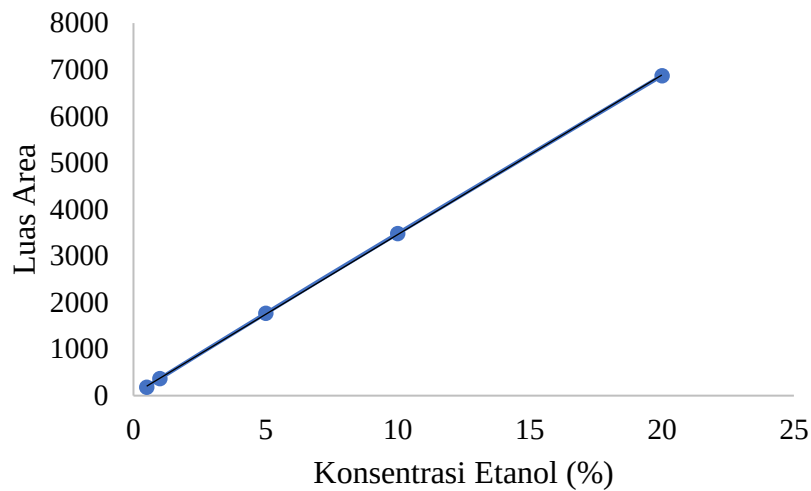
Hasil data yang diperoleh dari larutan standar metanol dan etanol dengan standar internal n-butanol masing-masing masing-masing dibuat grafik kurva kalibrasi yang menghubungkan konsentrasi standar sebagai sumbu x dan nilai luas

area sebagai sumbu y, untuk mengetahui persamaan regresi yang dihasilkan grafik dapat ditampilkan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Standar Metanol

Berdasarkan Gambar 4.1 diperoleh persamaan kurva kalibrasi dengan persamaan $y = 209,97x + 0,4791$ dengan koefisien determinasi (R^2) senilai 1 dan koefisien korelasi (r) didapatkan senilai 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hubungan linearitas antara konsentrasi standar metanol dengan luas area memberikan hasil yang linear. Nilai koefisien korelasi (r) yang memenuhi persyaratan adalah lebih besar dari 0,9970 (ICH, 2005), sehingga hasil yang didapatkan memenuhi syarat keberterimaan linearitas.



Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Standar Etanol

Berdasarkan Gambar 4.2 diperoleh persamaan kurva kalibrasi dengan persamaan $y = 342,71x + 31,001$ dengan koefisien determinasi (R^2) senilai 0,9999 dan koefisien korelasi (r) didapatkan senilai 0,9999. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hubungan linearitas antara konsentrasi standar etanol dengan luas area memberikan hasil yang linear. Nilai koefisien korelasi (r) yang memenuhi persyaratan adalah lebih besar dari 0,9970 (ICH, 2005), sehingga hasil yang didapatkan memenuhi syarat keberterimaan linearitas. Hasil dari persamaan regresi standar metanol dan etanol yang diperoleh, menunjukkan bahwa linearitas dari deret standar metanol dan etanol baik digunakan untuk menentukan konsentrasi metanol dan etanol yang terkandung dalam sampel, karena nilai koefisien korelasi yang dihasilkan telah memenuhi syarat.

4.3.2 Penentuan kadar metanol dan etanol dalam sampel

Etanol merupakan kandungan utama dalam alkohol, sedangkan metanol merupakan bahan tambahan yang ditambahkan ke dalam minuman beralkohol. Minuman yang sengaja ditambahkan dengan metanol ini disebut minuman keras oplosan. Penentuan kadar metanol dan etanol dalam sampel minuman beralkohol dilakukan dengan menambahkan sampel dengan standar internal dan dilakukan analisis menggunakan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala setelah dilakukan validasi. Standar internal yang digunakan dalam analisis larutan standar

maupun sampel yaitu n-butanol. Butanol mempunyai struktur kimia dan sifat-sifat fisika yang hampir sama dengan etanol. Standar internal digunakan dalam analisis kromatogram karena fluktuasi parameter-parameter instrumental dapat mempengaruhi keakuratan dalam analisis (Cairns, 2009).

Sampel minuman keras oplosan diambil 1 μL menggunakan *syringe* dan diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala. Hasil pendeteksian oleh detektor direkam dengan rekorder dan dinamakan kromatogram yang menghasilkan beberapa *peak*. *Peak* tersebut terdiri dari luas area dan waktu retensi. Analisis kromatografi secara kualitatif dapat dilakukan dengan membandingkan waktu retensi sampel dan standar, sedangkan analisis kuantitatif menggunakan luas area atau luas puncak sebagai datanya. Penentuan kadar metanol dan etanol pada sampel minuman keras oplosan secara kuantitatif dapat dihitung menggunakan persamaan kurva kalibrasi standar metanol dan etanol. Hasil penentuan kadar pada sampel yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Keras Oplosan

Pengulangan	Metanol			Etanol		
	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)
Replika 1	6,58	892,0812	4,2463	6,976	4745,7257	13,7571
Replika 2	6,578	895,2471	4,2614	6,974	4744,5327	13,7537
Replika 3	6,58	904,9705	4,3077	6,976	4750,7952	13,7719
Replika 4	6,582	897,8353	4,2737	6,978	4739,7373	13,7397
Replika 5	6,578	916,8604	4,3643	6,974	4772,6687	13,8358
Replika 6	6,581	907,2711	4,3187	6,977	4750,5939	13,7713
Rata-rata			4,29535			13,77158333

Berdasarkan Tabel 4.5 hasil perhitungan diperoleh rata-rata kadar metanol sebesar 4,2954% dan kadar etanol sebesar 13,7716%. Dari hasil pemeriksaan tersebut, kadar etanol pada sampel minuman keras oplosan yang telah diperiksa memenuhi standar yang dipersyaratkan oleh MenKes RI Nomor 86/MenKes/Per/IV/77, yang meliputi bahwa kadar etanol termasuk minuman keras golongan B dengan kadar etanol 5-20%. Minuman keras golongan B ini memiliki efek samping dapat menyebabkan gangguan penglihatan, kehilangan

sensorik, ataksia, dan waktu reaksi yang lambat. Sedangkan, standar keamanan untuk kandungan metanol berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI Nomor 14 Tahun 2016 tentang Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol, bahwa batas maksimum kandungan metanol dalam minuman beralkohol adalah tidak lebih dari 0,01%, sehingga dapat disimpulkan kadar metanol yang diperoleh tidak memenuhi standar yang dipersyaratkan dan dinyatakan bahwa minuman tersebut tidak layak untuk diperdagangkan dan dikonsumsi karena akan berbahaya bagi yang mengkonsumsi. Gejala yang ditimbulkan akibat keracunan metanol dapat berupa sakit kepala, gangguan pada saluran pencernaan, cemas, sesak nafas, penglihatan mulai kabur hingga mengalami kebutaan (Paasma dan Jacobson, 2009).

4.3.3 Penentuan LOD dan LOQ

Limit of detection (LOD) yaitu parameter uji batas terkecil yang dimiliki oleh suatu instrumen. Sedangkan *limit of quantitation* (LOQ) merupakan konsentrasi terendah dari suatu analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi akurasi dan presisi (Hidayati, 2013). Penentuan nilai limit deteksi (LOD) dan limit kuantisasi (LOQ) dapat dihitung secara statistik menggunakan persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi yang telah diperoleh. Penentuan limit deteksi dan limit kuantisasi merupakan parameter suatu metode yang sangat penting, karena limit deteksi dan kuantisasi merupakan parameter sensitivitas suatu metode. Semakin kecil nilai limit deteksi dan kuantisasi berarti metode yang digunakan sensitif (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil perhitungan dari penentuan LOD dan LOQ dapat dilihat dalam Tabel 4.6 dan 4.7

Tabel 4.6 Penentuan LOD dan LOQ Metanol

Konsentrasi Standar Metanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,01	2,733	2,5788	0,1542	0,02377764
0,05	10,7641	10,9776	-0,2135	0,04558225
0,1	21,342	21,4761	-0,1341	0,01798281
0,5	105,8039	105,4641	0,3398	0,11546404
1	210,2989	210,4491	-0,1502	0,02256004
$\Sigma (Yi-Yc)^2$				0,22536678
Sy/x				0,274084403
LOD				0,003916051
LOQ				0,013053503

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat disimpulkan bahwa nilai LOD yang diperoleh pada metanol sebesar 0,0039%, dapat disimpulkan bahwa nilai tersebut menunjukkan jumlah terkecil kandungan metanol pada sampel minuman keras oplosan yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan. Sedangkan nilai LOQ yang diperoleh pada metanol sebesar 0,0130%, menunjukkan nilai kuantitas konsentrasi metanol pada setiap analisis masih dapat diukur oleh instrumentasi dengan konsentrasi tersebut jika dilakukan pengukuran masih dapat memberikan kecermatan analisis.

Tabel 4.7 Penentuan LOD dan LOQ Etanol

Konsentrasi Standar Etanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,5	181,8279	202,356	-20,5281	421,4028896
1	367,0095	373,711	-6,7015	44,91010225
5	1764,4742	1744,551	19,9232	396,9338982
10	3480,8849	3458,101	22,7839	519,1060992
20	6869,5547	6885,201	-15,6463	244,8067037
$\Sigma (Yi-Yc)^2$				1627,159693
Sy/x				23,28919415
LOD				0,203867942
LOQ				0,679559807

Berdasarkan Tabel 4.7 dapat disimpulkan bahwa nilai LOD yang diperoleh pada etanol sebesar 0,2038%, dapat disimpulkan bahwa nilai tersebut menunjukkan jumlah terkecil kandungan etanol pada sampel minuman keras oplosan yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan. Sedangkan nilai LOQ yang diperoleh pada etanol sebesar 0,6795%, menunjukkan nilai kuantitas konsentrasi etanol pada setiap analisis masih dapat diukur oleh instrumentasi dengan konsentrasi tersebut jika dilakukan pengukuran masih dapat memberikan kecermatan analisis.

4.3.4 Penentuan presisi

Uji presisi berarti kedekatan antar tiap hasil uji pada suatu pengujian yang sama berulang kali untuk melihat sebaran diantara nilai benar. Pada penelitian ini, uji presisi dilakukan dengan pendekatan *repeatability* yaitu keterulangan. Metode *repeatability* ini dianggap lebih efisien karena waktu yang digunakan lebih singkat serta dengan proses lebih mudah. Penentuan presisi dilakukan dengan menyuntikan sebanyak 6 kali pengulangan pada jenis sampel yang sama. Hasil kromatogram dari pengulangan tersebut dapat dihitung nilai presisi pada sampel yang ditampilkan pada Tabel 4.8

Tabel 4.8 Penentuan Presisi Sampel

Pengulangan	Metanol		Etanol	
	Konsentrasi (%)	$(X_i - \bar{X})^2$	Konsentrasi (%)	$(X_i - \bar{X})^2$
Replika 1	4,2463	0,002405903	13,7571	0,000209767
Replika 2	4,2614	0,001152602	13,7537	0,000319814
Replika 3	4,3077	0,000152522	13,7719	1,00278E-07
Replika 4	4,2737	0,000468723	13,7397	0,001016547
Replika 5	4,3643	0,004754103	13,8358	0,00412378
Replika 6	4,3187	0,000545222	13,7713	8,02778E-08
$\bar{X}$	4,29535		13,77158333	
$\Sigma (X_i - \bar{X})^2$	0,009479075		0,005670088	
SD	0,043540958		0,033675179	
%RSD	1,013676597		0,244526559	

Berdasarkan Tabel 4.8 suatu nilai ketelitian dinyatakan dalam *relative standard deviation* (%RSD). Hasil uji presisi diperoleh nilai %RSD untuk metanol sebesar 1,0136% dan etanol sebesar 0,2445%. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (%RSD) atau koefisien variasi (CV) sebesar kurang dari atau sama dengan 2% (Riyanto 2014), sehingga metode ini dapat diberikan kriteria presisi.

4.3.5 Penentuan akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Riyanto, 2014). Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Metode *recovery* dilakukan dengan metode penambahan standar, yaitu menambahkan *spike* dari larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam sampel dan dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan *spike*. Akurasi pada pengujian ini dilakukan dengan menyuntikkan sebanyak 3 kali yang dilakukan pada jenis sampel yang sama. Hasil perhitungan persentase nilai *recovery* dapat dilihat pada Tabel 4.9

Tabel 4.9 Hasil Pengukuran Akurasi

Sampel Uji	Luas Area	Konsentrasi Sampel Uji (%)	Konsentrasi Spike (%)	Konsentrasi sampel + spike (%)	Recovery (%)
Metanol	904,5302	4,2954	0,01	4,305620327	102,2032671
Etanol	4919,8804	13,7716	0,5	14,2653538	98,75075953

Berdasarkan Tabel 4.9 nilai persentase perolehan kembali (*recovery*) untuk metanol sebesar 102,20% dan etanol sebesar 98,75%. Perolehan kembali (*recovery*) dengan konsentrasi analit $1 < A \leq 10\%$, maka rentang keberterimaan pada 97-103% dan untuk konsentrasi analit $10 < A \leq 100\%$ rentang keberterimaan berada pada 98-102%. Dari hasil yang diperoleh %*recovery* pada metanol sebesar 102,20% yang merupakan hasil berada pada kriteria rentang keberterimaan. Sedangkan pada metanol sebesar 98,75%, hasil %*recovery* berada pada kriteria rentang keberterimaan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini mempunyai ketepatan yang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya.

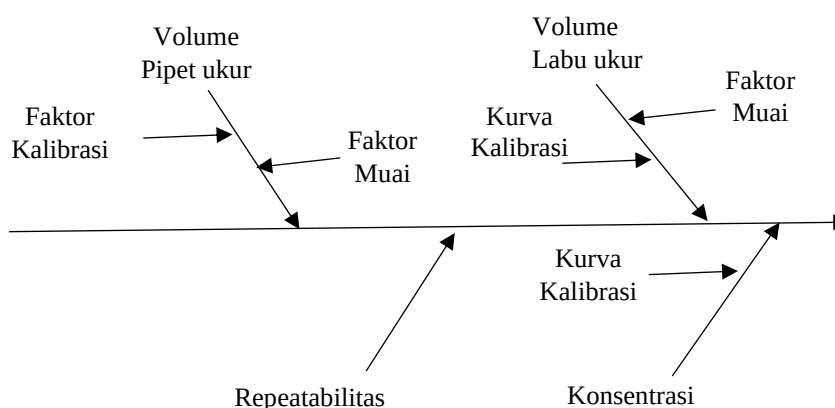
4.3.6 Estimasi ketidakpastian

Estimasi ketidakpastian pengukuran dalam penelitian ini digunakan untuk memastikan dan mengetahui bahwa hasil pengukuran kadar metanol dan etanol pada sampel minuman keras oplosan menggunakan kromatografi gas merupakan metode yang valid. Ketidak pastian pengukuran merupakan nilai ketidakpastian yang diperoleh dari pengukuran suatu bahan atau material dengan menggunakan peralatan dan instrumen yang terkalibrasi, sehingga nilai ketidakpastian yang diperoleh merupakan nilai ketidakpastian gabungan dari setiap langkah atau proses pengukuran.

Penentuan ketidakpastian pengukuran dapat dilakukan dengan tiga tahapan, yaitu menentukan ketidakpastian baku, ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas. Tahap pertama untuk menentukan ketidakpastian yaitu menentukan konsentrasi metanol atau etanol dengan menggunakan rumus. Rumus yang digunakan untuk menentukan konsentrasi metanol atau etanol sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi metanol/etanol (\%)} = \frac{\text{Luas Area-Intersep}}{\text{Slope}} \quad \begin{matrix} \text{Konsentrasi} \\ \text{Metanol dan} \\ \text{Etanol (\%)} \end{matrix}$$

Estimasi ketidakpastian dalam analisa kimia dapat ditentukan dengan diagram tulang ikan (*fishbone*). Berdasarkan rumus yang telah ditentukan diagram tulang ikan dapat disajikan dalam Gambar 4.3



Gambar 4.3 Diagram Tulang Ikan Ketidakpastian Pengukuran

Langkah selanjutnya setelah pembuatan diagram tulang ikan, ditentukan ketidakpastian baku dari masing-masing sumbernya termasuk ketidakpastian tipe A atau tipe B, kemudian ditentukan ketidakpastian gabungan dari berbagai sumber dan ketidakpastian diperluas dengan tingkat kepercayaan 95%. Perhitungan ketidakpastian baku dan ketidakpastian gabungan disajikan dalam Tabel 4.10

Tabel 4.10 Hasil Perhitungan Nilai Ketidakpastian

Sumber Ketidakpastian	Nilai (X)	Satuan	Ketidakpastian Baku (μx)	$\mu x/X$	$(\mu x/X)^2$
Pipet ukur	1	mL	0,0025	0,0025	$6,25 \times 10^{-6}$
Pipet ukur	10	mL	0,0204	0,00204	$4,16 \times 10^{-6}$
Labu ukur	10	mL	0,0102	0,00102	$1,04 \times 10^{-6}$
Kurva kalibrasi metanol	4,2954	%	0,0062	0,001443	$2,08 \times 10^{-6}$
Kurva kalibrasi etanol	13,7716	%	0,0566	0,00411	$1,69 \times 10^{-5}$
Presisi sampel metanol	1,0136	%	0,0177	0,017463	0,000305
Presisi sampel etanol	0,2445	%	0,0137	0,056056	0,00314
ketidakpastian gabungan	Metanol		0,0766		
	Etanol		0,7751		
Ketidakpastian diperluas	Metanol		$4,2954 \pm 0,1532\%$		
	Etanol		$13,7716 \pm 1,5502\%$		

Sumber ketidakpastian baku yang berkontribusi terhadap penentuan kadar metanol dan etanol pada Tabel 4.10 sebelumnya dilakukan identifikasi termasuk dalam ketidakpastian baku tipe A atau tipe B untuk mengetahui persamaan yang digunakan dapat dijelaskan sebagai berikut:

1) Pipet ukur 1 mL

Ketidakpastian baku asal pipet ukur 1 mL merupakan ketidakpastian gabungan yang berasal dari ketidakpastian kalibrasi pipet ukur dan ketidakpastian faktor muai dari pipet ukur. Perhitungan ketidakpastian kalibrasi pipet ukur dilakukan dengan tipe B berdasarkan asumsi distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,006 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0025 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian kalibrasi pipet ukur diperoleh sebesar 0,0025 mL, kemudian ditentukan ketidakpastian baku faktor muai pipet ukur yang berasal dari ketidakpastian asal efek temperatur, yaitu dilakukan berdasarkan hasil kali volume dengan konstanta faktor muai dan selisih suhu pengujian dibagi dengan distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{1 \text{ mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25 - 20) ^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0006 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian faktor muai pipet ukur diperoleh sebesar 0,0006 mL. berdasarkan hasil tersebut ketidakpastian baku asal pipet ukur 1 mL dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2}$$

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(0,0025)^2 + (0,0006)^2}$$

$$\mu_{Vc} = 0,0025 \text{ mL}$$

2) Pipet ukur 10 mL

Ketidakpastian baku asal pipet ukur 10 mL merupakan ketidakpastian gabungan yang berasal dari ketidakpastian kalibrasi pipet ukur dan ketidakpastian faktor muai dari pipet ukur. Perhitungan ketidakpastian kalibrasi pipet ukur dilakukan dengan tipe B berdasarkan asumsi distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,05 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0204 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian kalibrasi pipet ukur diperoleh sebesar 0,0204 mL, kemudian ditentukan ketidakpastian baku faktor muai pipet ukur yang berasal dari

ketidakpastian asal efek temperatur, yaitu dilakukan berdasarkan hasil kali volume dengan konstanta faktor muai dan selisih suhu pengujian dibagi dengan distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{10\text{mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25-20)^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0061 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian faktor muai pipet ukur diperoleh sebesar 0,0061 mL. berdasarkan hasil tersebut ketidakpastian baku asal pipet ukur 10 mL dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2}$$

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(0,0204)^2 + (0,0061)^2}$$

$$\mu_{Vc} = 0,0204 \text{ mL}$$

3) Labu ukur 10 mL

Ketidakpastian baku asal labu ukur 10 mL merupakan ketidakpastian gabungan yang berasal dari ketidakpastian kalibrasi labu ukur dan ketidakpastian faktor muai dari labu ukur. Perhitungan ketidakpastian kalibrasi labu ukur dilakukan dengan tipe B berdasarkan asumsi distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,025 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0102 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian kalibrasi labu ukur diperoleh sebesar 0,0102 mL, kemudian ditentukan ketidakpastian baku faktor muai labu ukur yang berasal dari ketidakpastian asal efek temperatur, yaitu dilakukan berdasarkan hasil kali volume dengan konstanta faktor muai dan selisih suhu pengujian dibagi dengan distribusi triangular dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{10\text{mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25-20)^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0061 \text{ mL}$$

Hasil ketidakpastian faktor muai labu ukur diperoleh sebesar 0,0061 mL. berdasarkan hasil tersebut ketidakpastian baku asal labu ukur 10 mL dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2}$$

$$\mu_{Vc} = \sqrt{(0,0102)^2 + (0,0061)^2}$$

$$\mu_{Vc} = 0,0102 \text{ mL}$$

4) Kurva kalibrasi

Ketidakpastian baku asal kurva kalibrasi diperoleh dari pembuatan larutan standar, yang ditentukan berdasarkan persamaan ketidakpastian instrumental dari kurva kalibrasi. Ketidakpastian baku asal kurva kalibrasi dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

a. Ketidakpastian kurva kalibrasi metanol

$$S_x = \frac{S_{y/x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_{sampel} - y_{standar})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_x = \frac{0,2741}{209,97} \times \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{5} + \frac{(902,3776 - 70,1884)^2}{(209,97)^2 \times (0,7115)}}$$

$$S_x = 0,0062$$

b. Ketidakpastian kurva kalibrasi etanol

$$S_x = \frac{\frac{S_y}{x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_{sampel} - y_{standar})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_x = \frac{23,2892}{342,71} \times \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{5} + \frac{(4750,6756 - 2532,7502)^2}{(342,71)^2 \times (259,8)}}$$

$$S_x = 0,0566$$

5) Presisi sampel

Ketidakpastian baku asal presisi sampel berasal dari penentuan konsentrasi metanol dan etanol yang diperoleh berdasarkan persamaan regresi kurva kalibrasi yang ditentukan nilai standar deviasi (SD) dibagi akar dari jumlah pengulangan. Ketidakpastian baku asal presisi sampel dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

a. Ketidakpastian presisi sampel metanol

$$\begin{aligned}\mu_p &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\ &= \frac{0,0435}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0177\end{aligned}$$

b. Ketidakpastian presisi sampel etanol

$$\begin{aligned}\mu_p &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\ &= \frac{0,0337}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0137\end{aligned}$$

Ketidakpastian gabungan dalam pengujian ini merupakan gabungan nilai dari berbagai faktor ketidakpastian baku dalam pengujian. Hasil Ketidakpastian gabungan dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

a. Ketidakpastian gabungan metanol

$$\frac{\mu_{\text{met}}}{\text{kadar}} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{\text{pipet 1mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{pipet 10mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{labu 10mL}}}{\text{volume labu}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{kurva kalibrasi}}}{\text{konsentrasi}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{presisi}}}{\text{presisi}}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{met}} = \sqrt{\left(\frac{0,0025\text{mL}}{1\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0204\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0102\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0062\%}{4,2954\%}\right)^2 + \left(\frac{0,0177\%}{1,0136\%}\right)^2} \times 4,2953\%$$

$$\mu_{\text{met}} = 0,0767\%$$

b. Ketidakpastian gabungan etanol

$$\frac{\mu_{et}}{kadar} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{pipet\ 1mL}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{pipet\ 10mL}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{labu\ 10mL}}{\text{volume labu}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{kurva\ kalibrasi}}{\text{konsentrasi}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{presisi}}{\text{presisi}}\right)^2}$$

$$\mu_{et} = \sqrt{\left(\frac{0,0025mL}{1\ mL}\right)^2 + \left(\frac{0,0204mL}{10\ mL}\right)^2 + \left(\frac{0,0102mL}{10\ mL}\right)^2 + \left(\frac{0,0566\%}{13,7716\%}\right)^2 + \left(\frac{0,0137\%}{0,2445\%}\right)^2} \times 13,7716\%$$

$$\mu_{et} = 0,7754\%$$

Berdasarkan hasil perhitungan ketidakpastian gabungan yang telah dilakukan, maka dapat ditentukan nilai ketidakpastian diperluas. Ketidakpastian diperluas adalah ketidakpastian yang didapat dengan cara mengalikan nilai ketidakpastian baku gabungan terhadap faktor cakupan. Pada umumnya, faktor cakupan dinyatakan dengan simbol k sebesar 2 memberikan ketidakpastian diperluas dengan tingkat kepercayaan 95%. Tujuan dilakukan ketidakpastian diperluas untuk mengetahui bahwa laporan nilai hasil pengukuran berada dalam rentang yang diberikan oleh ketidakpastian. Ketidakpastian diperluas dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

- a. Ketidakpastian diperluas metanol

$$U = \mu_g \times k$$

$$U = 0,0766\% \times 2 = 0,1532\%$$

- b. Ketidakpastian diperluas etanol

$$U = \mu_g \times k$$

$$U = 0,7751\% \times 2 = 1,5502\%$$

Berdasarkan hasil perhitungan ketidakpastian diperluas diperoleh pelaporan ketidakpastian metanol dan etanol yaitu berada rentang $4,2954 \pm 0,1532\%$ dan $13,7716 \pm 1,5502\%$.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar metanol dan etanol yang terkandung dalam sampel minuman beralkohol menggunakan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala (FID) diperoleh rata-rata kadar metanol sebesar 4,2954% dan etanol sebesar 13,7716%. Kandungan metanol dalam sampel minuman beralkohol tidak memenuhi syarat standar keamanan dan baku mutu minuman beralkohol.
2. Validasi metode penentuan kadar alkohol dalam sampel minuman beralkohol pada uji kesesuaian sistem diperoleh efisiensi kolom yang baik yaitu >2000 , presisi instrumen metanol sebesar 0,0121% dan etanol sebesar 0,0344%, dengan resolusi (daya pisah) baik yaitu $\geq 1,5$, dan parameter validasi lainnya yang meliputi nilai linearitas, limit deteksi, limit kuantitasi, presisi, akurasi, dan nilai ketidakpastian pengukuran pada penentuan kadar metanol dan etanol dalam minuman beralkohol sebagai berikut:
 - a. Linearitas yang dihasilkan baik dengan didapatkan koefisien korelasi pada metanol senilai 1 dan koefisien korelasi pada etanol senilai 0,9999.
 - b. Limit deteksi dan limit kuantitasi dari metanol sebesar 0,0039% dan 0,0130%. Sedangkan limit deteksi dan limit kuantitasi dari etanol sebesar 0,2038% dan 0,6795%.
 - c. Presisi sampel minuman beralkohol pada kandungan metanol diperoleh %RSD sebesar 1,0136% dan pada kandungan etanol diperoleh %RSD sebesar 0,2445%, hasil tersebut masuk dalam keberterimaan presisi yang baik yaitu $<2\%$.

- d. Nilai akurasi pada metanol diperoleh *%recovery* sebesar 102,20%, hasil tersebut masuk dalam rentang keberterimaan yaitu pada rentang 97-103%. Sedangkan pada etanol diperoleh *%recovery* sebesar 98,75%, hasil tersebut masuk dalam rentang keberterimaan yaitu pada rentang 98-102%.
- e. Nilai ketidakpastian dalam pengukuran kadar metanol didapatkan sebesar $4,2954 \pm 0,1532\%$ dan kadar etanol sebesar $13,7716 \pm 1,5502\%$.

5.2 Saran

Saran yang direkomendasikan yaitu sebaiknya perlu dilakukan pengenceran pada sampel, agar hasil konsentrasi sampel metanol yang didapatkan dapat diterima dalam rentang larutan standar metanol, serta perlu dilakukan langkah untuk meminimalisir faktor penyumbang ketidakpastian terbesar pada penelitian ini yang berasal dari kurva kalibrasi standar metanol dan etanol dengan cara yaitu lebih teliti dalam melakukan pembacaan skala volume larutan dan pemipetan larutan dalam pembuatan standar, serta perlu adanya perbaikan terhadap variasi konsentrasi standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Aliah B. Purwakania H. 2008. *Pengantar Psikologi Kesehatan Islam*. Depok: PT Raja Grafindo Persada. hlm. 233.
- American Society for Testing and Materials (ASTM) D 1078-12. 2011. *Test Method For Distillation Range Of Volatile Organic Liquids*. USA: ASTM International.
- AOAC. 2002. *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures*. USA: Airlington.
- Arora, M., Koley, S., Gupta, S., and Shandu, J. S. 2007. *A Study on Lipid Profile And Body Fat in Patients with Diabetes Melitus*. *Anthropologist*, 9(4): 295-298.
- Askar, S. 2009. *Kamus Arab-Indonesia Al-Azhar*. Jakarta: Senayan Publishing.
- Ayuningtyas, K. D. 2016. Efek Etanol dan Metanol Pada Minuman Oplosan Terhadap Perubahan Histopatologi Organ Hepar Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Budiastra, I N, 2009. *Rancangan alat ukur Kadar Alkohol Pada Minuman Bernasis Mikrokontroler AT89S51*. Available from: http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/budiastra_6_.pdf. Diakses pada tanggal 22 Desember 2012.
- Basset, J., R. C. Denney, G.H Jeffrey, J. Mendhom. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik*. Jakarta : EGC.
- Cairns, D., 2009, *Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua*, Penerjemah: Puspita. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Essentials of Pharmaceutical Chemistry Second Edition*.
- CDC. 2015. *Parasites-ascariasis*. Diakses pada 18 September 2015 dari <http://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/biology>.
- Cline, D. M. 2012. *Tintinalli's Emergency Medicine Manual 7th Edition*. New York: Mc-Graw-Hill.
- Crawford Scientific. *The Theory of HPLC Chromatographic Parameters*. <http://www.chromacademy.com>, diakses pada 11 Januari 2020.

- Djenar, Nancy S. 2006. *Buku Ajar Modul: Kromatografi Gas*. Bandung: Teknik Kimia Polban.
- Eaton, D.C. 1989. *Laboratory Investigations In Organic Chemistry*. USA: McGraw-Hill, Inc. P. Hal.163
- Ganjar, I.G. dan Abdul R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter R.J., Bobbitt J.M., Schwarting A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Ed ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Introduction to Chromatography*.
- Grossman, W. G. 2008. *Emergency Medicine: Oral Board Review*. New York: McGraw-Hill.
- Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Depok: Universitas Indonesia.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya Offset.
- Hendayana, S. 2010. *Kimia Pemisahan: Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya. 10-16,34,37-38,47-48.
- International Conference on Harmonisation (ICH). 2005. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
- Jennings, W., Mittlefehldt, E., dan Stremple, P. 1987. *Analytical Gas Chromatography* (2nd ed). California: Academic Press.
- Johnson, E.L., dan Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Johnson, B., Meggs, W., Bentzel, C. 1999. Emergency department hemodialysis in a case of severe ethylene glycol poisoning. *Annual Emergency Medicine*: 33(1):108-10.

- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan oleh Saptohardjo, A. Jakarta: UI Press.
- Krautz, J. A. dan Kurtz I. 2008. Toxic Alcohol Ingestion: Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3: 208-225.
- Logan, B.K. 2014. *Alcohol Content of Beer and Malt Beverages Alcohol Content of Beer and Malt Beverages: Forensic Considerations*.
- Mardoni. 2007. Perbandingan Metode Kromatografi Gas dan Berat Jenis Pada Penetapan Kadar Etanol dalam Minuman Anggur. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- McNair, H.M., dan Miller J.M. 1998. *Basic Gas Chromatography*. New York: John Willey dan Sons Inc.
- Muchtadi, T. R., dan Sugiyono. 1992. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nastiti, Melani G. 1999. *Uji Kemurnian Etanol Berdasarkan Kandungan Kadar Air dan Kadar Pengotor*. Bogor: Akademi Analis Kimia.
- Paasma, R. H.K., dan Jacobson, D. 2009. *Methanol Poisoning and Long Term Sequelae – a Six Years Follow-up After a Large Methanol Outbreak*. BMC Clinical Pharmacology. 9: 12–7.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2016 Tentang Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol.*
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 86/Men.Kes/Per/IV/1977 Tentang Minuman Keras.*
- Peraturan Presiden Nomor 74 Tahun 2013 Tentang Pengendalian Dan Pengawasan Minuman Beralkohol. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2013 Nomor 190).*
- Pramono, Ujang. 2014. *Estimasi Ketidakpastian Pengukuran*. Tangerang: BMD Street Consulting.
- Riccio, D., Wood, D.C., Miller, J.M., 2008, *Using Single Drop Microextraction for Headspace Analysis with Gas Chromatography*, *J. of Chem. Education*, 85(7), 965-968.

- Riyanto. 2014. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji: sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi Ed 1*. Yogyakarta: Deepublish.
- Rubiyanto, D. 2013. *Teknik Dasar Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sebayang, F., 2006, Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat, *Jurnal Teknologi Proses*, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara, 7.
- Simanjuntak, R., 2009, Studi Pembuatan Etanol Dari Limbah Gula (*Molase*), *Skripsi*, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara, 4.
- Skoog, D. A., West, D. M., and Holler, F. J., 1994, *Analytical Chemistry An Introduction*. Sixth Edition, Saunders College Publishing, USA, 503, 507
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R., 2007, *Principles of Instrumental Analysis*. Thomson Higher Education, USA. Pp 848-851.
- Snyder, L. R., Kirkland, S.J., and Glajch, J.L., 1997, *Practical HPLC Method Development*, John Wiley and Son, New York.
- Snyder, L. R., Kirkland, S.J., Dolan, J.W., 2010, *Intoduction to Modern Liquid Chromatography*, 3rd Edition, John Wiley dan Sons, Canada.
- Soetjiningsih. 2004. *Tumbuh Kembangan Remaja dan Permasalahannya*. Jakarta: Sagung Seto.
- Spencer, N. D. 1988. *Direct Oxidation of Methane*. United Kingdom: Elsevier.
- United States Pharmacopeial Convention. 2014. The United States Pharmacopeia 37-National Formulary 32 (USP37-NF32). 37th Edition. USA: United States Pharmacopeial Convention Inc.
- Swartz, M. E., dan Krull, I. S. 1977. *Analytical Method Development and Validation*. USA: Marcell Dekker.
- Waskito, A.A.P. 2013. Optimasi Metode Penetapan Kadar Etanol dan Profil Senyawa Yang Terdapat Dalam Hasil Produksi “Ciu” Rumah Desa Sentul Kabupaten Sukoharjo Dengan Metode Kromatografi Gas. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

- Yuwono, M., dan Indrayanto, G., 2005, *Valdation of Chromatographic Method of Analysis, Profile of Drug Substances, Excipients, and Related Methodologi*, Vol. 32, PP. 243 – 259.
- Zuba D, Parczewski A, Reichenbacher M., 2002, Optimization Of Solid-Phase Microextraction Conditions For Gas Chromatographic Determination Of Ethanol And Other Volatile Compounds In Blood, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.*,773:75–82.
- Zulvikar. 2008. Minum-minuman Keras. Diakses pada 20 Juli 2013 dari <http://zulvck4r.wordpress.com/200/12/30/minum-minuman-keras/>.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Larutan Standar

❖ Larutan Induk Butanol 10% (sebagai standar internal)

Diketahui : ρ butanol = 0,81 g/mL

Purity butanol = 99,5%

Ditanya : % Butanol...?

Dijawab : % Butanol = $\rho \times \text{purity butanol}$
= 0,81 g/mL $\times$ 99,5%
= 80,595%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 10\%}{80,595\%}$$

$$V1 = 1,24 \text{ mL}$$

Larutan Standar Butanol 1%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 1\%}{10\%}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

❖ Larutan Induk Metanol 10%

Diketahui : ρ metanol = 0,792 g/mL

Purity metanol = 99,9%

Ditanya : % Metanol...?

Dijawab : % Metanol = $\rho \times \text{purity metanol}$
= 0,792 g/mL $\times$ 99,9%
= 79,1208%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 10\%}{79,1208\%}$$

$$V1 = 1,26 \text{ mL}$$

Larutan Metanol 0,01%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Larutan Metanol 0,05%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,01\%}{10\%}$$

$$V1 = 0,01 \text{ mL}$$

Larutan Metanol 0,1%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,1\%}{10\%}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Larutan Metanol 1%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 1\%}{10\%}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,05\%}{10\%}$$

$$V1 = 0,05 \text{ mL}$$

Larutan Metanol 0,5%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,5\%}{10\%}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

❖ **Larutan Induk Etanol 50%**

Diketahui : ρ etanol = 0,79 g/mL

Purity etanol = 99,9%

Ditanya : % Etanol...?

Dijawab : % Etanol = $\rho \times \text{purity etanol}$
 $= 0,79 \text{ g/mL} \times 99,9\%$
 $= 78,921\% \text{ (b/v)}$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 50\%}{78,921\%}$$

$$V1 = 6,33 \text{ mL}$$

Larutan Etanol 0,5%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,5\%}{50\%}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Larutan Etanol 5%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 5\%}{50\%}$$

Larutan Etanol 1%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 0,1\%}{50\%}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Larutan Etanol 10%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 10\%}{50\%}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

$$V1 = 2 \text{ mL}$$

Larutan Etanol 20%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 = \frac{10\text{mL} \times 20\%}{50\%}$$

$$V1 = 4 \text{ mL}$$

Lampiran 2. Linearitas Metanol dan Etanol

Data Larutan Standar Metanol dan Etanol

Metanol			Etanol		
Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area
0,01	6,586	2,733	0,5	6,968	181, 8279
0,05	6,581	10,7641	1	6,971	367,0095
0,1	6,582	21,342	5	6,979	1764,474
0,5	6,579	105,8039	10	6,992	3480,885
1	6,58	210,2989	20	7,003	6869,555

1. Linearitas Standar Metanol

Persamaan Regresi Linear : $y = ax+b$

$$y = 209,97x + 0,4791$$

Koefisien determinasi (R^2) = 1

Koefisien kolerasi (r) = 1

Slope = 209,97

Intersep = 0,4791

2. Linearitas Standar Etanol

Persamaan Regresi Linear : $y = ax+b$

$$y = 342,71x + 31,001$$

Koefisien determinasi (R^2) = 0,9999

Koefisien kolerasi (r) = 0,9999

Slope = 342,71

Intersep = 31,001

Lampiran 3. Penentuan Kadar Metanol dan Etanol dalam Sampel

Pengulangan	Metanol			Etanol		
	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)	Rt (menit)	Luas area	Konsentrasi (%)
Replika 1	6,58	892,0812	4,2463	6,976	4745,7257	13,7571
Replika 2	6,578	895,2471	4,2614	6,974	4744,5327	13,7537
Replika 3	6,58	904,9705	4,3077	6,976	4750,7952	13,7719
Replika 4	6,582	897,8353	4,2737	6,978	4739,7373	13,7397
Replika 5	6,578	916,8604	4,3643	6,974	4772,6687	13,8358
Replika 6	6,581	907,2711	4,3187	6,977	4750,5939	13,7713
Rata-rata			4,29535			13,77158333

❖ Perhitungan C Hasil (%) Metanol

Diketahui : Slope = 209,97
 Intersep = 0,4791
 Luas area = 892,0812

Ditanya : C Hasil (%)...?

Dijawab : C Hasil (%) = $\frac{\text{Luas Area Metanol} - \text{Intersep}}{\text{Slope}}$

$$C \text{ Hasil (\%)} = \frac{892,0812 - 0,4791}{209,97}$$

$$C \text{ Hasil (\%)} = 4,2463 \%$$

❖ Perhitungan C Hasil (%) Etanol

Diketahui : Slope = 342,71
 Intersep = 31,001
 Luas area = 343,9732

Ditanya : C Hasil (%)...?

Dijawab : C Hasil (%) = $\frac{\text{Luas Area Etanol} - \text{Intersep}}{\text{Slope}}$

$$C \text{ Hasil (\%)} = \frac{4745,7257 - 31,001}{342,71}$$

$$C \text{ Hasil (\%)} = 13,7571\%$$

Lampiran 4. Penentuan Nilai LOD dan LOQ

1. Nilai LOD dan LOQ Metanol

Konsentrasi Standar Metanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,01	2,733	2,5788	0,1542	0,02377764
0,05	10,7641	10,9776	-0,2135	0,04558225
0,1	21,342	21,4761	-0,1341	0,01798281
0,5	105,8039	105,4641	0,3398	0,11546404
1	210,2989	210,4491	-0,1502	0,02256004
$\Sigma (Yi-Yc)^2$				0,22536678
Sy/x				0,274084403
LOD				0,003916051
LOQ				0,013053503

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\Sigma(Yi-Yc)^2}{n-2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{0,2254}{5-2}}$$

$$S_{y/x} = 0,2741$$

$$\diamond \text{ LOD} = \frac{3 \times S_{y/x}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0,2741}{209,97} = 0,0039\%$$

$$\diamond \text{ LOQ} = \frac{10 \times S_{y/x}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 0,2741}{209,97} = 0,0130\%$$

2. Nilai LOD dan LOQ Etanol

Konsentrasi Standar Etanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,5	181,8279	202,356	-20,5281	421,4028896
1	367,0095	373,711	-6,7015	44,91010225
5	1764,4742	1744,551	19,9232	396,9338982
10	3480,8849	3458,101	22,7839	519,1060992
20	6869,5547	6885,201	-15,6463	244,8067037
Σ (Yi-Yc)²				1627,159693
Sy/x				23,28919415
LOD				0,203867942
LOQ				0,679559807

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - Y_c)^2}{n-2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{0,2254}{5-2}}$$

$$S_{y/x} = 0,2741$$

$$\diamond \text{ LOD} = \frac{3 \times S_{y/x}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 23,2892}{342,71} = 0,2038\%$$

$$\diamond \text{ LOQ} = \frac{10 \times S_{y/x}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 23,2892}{342,71} = 0,6795\%$$

Lampiran 5. Penentuan Presisi Sampel

Pengulangan	Metanol		Etanol	
	Konsentrasi (%)	(Xi- $\bar{X}$) ²	Konsentrasi (%)	(Xi- $\bar{X}$) ²
Replika 1	4,2463	0,002405903	13,7571	0,000209767
Replika 2	4,2614	0,001152602	13,7537	0,000319814
Replika 3	4,3077	0,000152522	13,7719	1,00278E-07
Replika 4	4,2737	0,000468723	13,7397	0,001016547
Replika 5	4,3643	0,004754103	13,8358	0,00412378
Replika 6	4,3187	0,000545222	13,7713	8,02778E-08
$\bar{X}$	4,29535		13,77158333	
$\Sigma (Xi-\bar{X})^2$	0,009479075		0,005670088	
SD	0,043540958		0,033675179	
%RSD	1,013676597		0,244526559	

❖ Metanol

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\Sigma(Xi-\bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,009479075}{6-1}} \\
 &= 0,043540958 \\
 \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,043540958}{4,29535} \times 100\% \\
 &= 1,0136\%
 \end{aligned}$$

❖ Etanol

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\Sigma(Xi-\bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,005670088}{6-1}} \\
 &= 0,033675179 \\
 \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,033675179}{13,77158333} \times 100\%$$

$$= 0,2445\%$$

Lampiran 6. Penentuan Akurasi

Sampel Uji	Luas Area	Konsentrasi Sampel Uji (%)	Konsentrasi Spike (%)	Konsentrasi sampel + spike (%)	Recovery (%)
Metanol	904,5302	4,2954	0,01	4,305620327	102,2032671
Etanol	4919,8804	13,7716	0,5	14,2653538	98,75075953

1. Metanol

$$\begin{aligned} \text{❖ Konsentrasi sampel+spike (A)} &= \frac{\text{Luas Area} - \text{Intersep}}{\text{Slope}} \\ &= \frac{904,5302 - 0,4791}{209,97} \\ &= 4,305620327\% \\ \text{❖ Konsentrasi sampel uji (B)} &= 4,2954\% \\ \text{❖ Konsentrasi spike (C)} &= \frac{\text{Volume standar} \times \text{Konsentrasi standar}}{\text{Volume total}} \\ &= \frac{1 \text{ mL} \times 0,1\%}{10 \text{ mL}} \\ &= 0,01\% \\ \%Recovery &= \frac{A - B}{C} \times 100\% \\ &= \frac{4,305620327\% - 4,2954\%}{0,01\%} \times 100\% \\ &= 102,20\%. \end{aligned}$$

2. Etanol

$$\begin{aligned} \text{❖ Konsentrasi sampel+spike (A)} &= \frac{\text{Luas Area} - \text{Intersep}}{\text{Slope}} \\ &= \frac{4919,8804 - 31,001}{342,71} \\ &= 14,2653538\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \diamond \text{ Konsentrasi sampel uji (B)} = 13,7716\% \\
& \diamond \text{ Konsentrasi spike (C)} = \frac{\text{Volume standar} \times \text{Konsentrasi standar}}{\text{Volume total}} \\
& \quad = \frac{1 \text{ mL} \times 5\%}{10 \text{ mL}} \\
& \quad = 0,5\% \\
& \% \text{Recovery} = \frac{A - B}{C} \times 100\% \\
& \quad = \frac{14,2653538\% - 13,7716\%}{0,5\%} \times 100\% \\
& \quad = 98,75\%
\end{aligned}$$

Lampiran 7. Penentuan Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

1. Volume pipet ukur

a. Pipet ukur 1 mL

- ❖ Faktor kalibrasi pipet ukur

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,006 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0025 \text{ mL}$$

- ❖ Faktor muai pipet ukur

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{1 \text{ mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25 - 20) ^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0006 \text{ mL}$$

- ❖ Ketidakpastian gabungan pipet ukur 1 mL

$$\begin{aligned}
\mu_{Vc} &= \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2} \\
&= \sqrt{(0,0025)^2 + (0,0006)^2} \\
&= 0,0025 \text{ mL}
\end{aligned}$$

b. Pipet ukur 10 mL

- ❖ Faktor kalibrasi pipet ukur

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,05 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0204 \text{ mL}$$

- ❖ Faktor muai pipet ukur

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{10\text{mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25-20)^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0061 \text{ mL}$$

- ❖ Ketidakpastian gabungan pipet ukur 10 mL

$$\begin{aligned}\mu_{Vc} &= \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2} \\ &= \sqrt{(0,0204)^2 + (0,0061)^2} \\ &= 0,0204 \text{ mL}\end{aligned}$$

2. Volume labu ukur 10 mL

- ❖ Faktor kalibrasi labu ukur

$$\mu_{kal} = \frac{s}{k} = \frac{0,025 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0102 \text{ mL}$$

- ❖ Faktor muai pipet ukur

$$\mu_{muai} = \frac{V \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times \Delta T}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = \frac{10\text{mL} \times 2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C} \times (25-20)^\circ\text{C}}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{muai} = 0,0061 \text{ mL}$$

- ❖ Ketidakpastian gabungan pipet ukur 10 mL

$$\begin{aligned}\mu_{Vc} &= \sqrt{(\mu_{kal})^2 + (\mu_{muai})^2} \\ &= \sqrt{(0,0102)^2 + (0,0061)^2} \\ &= 0,0102 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Ketidakpastian asal kurva kalibrasi

a. Metanol

Konsentrasi Metanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,01	2,733	2,5788	0,1542	0,023778
0,05	10,7641	10,9776	-0,2135	0,045582
0,1	21,342	21,4761	-0,1341	0,017983
0,5	105,8039	105,4641	0,3398	0,115464
1	210,2989	210,4491	-0,1502	0,02256
Rata-rata	70,18838		Jumlah	0,225367
	Sy/x			0,274084
	N			5
	P			3

Sampel	Luas Area	Konsentrasi (%)	xi-x̄	(xi-x̄) ²
Replika 1	892,0812	0,01	-0,322	0,103684
Replika 2	895,2471	0,05	-0,282	0,079524
Replika 3	904,9705	0,1	-0,232	0,053824
Replika 4	897,8353	0,5	0,168	0,028224
Replika 5	916,8604	1	0,668	0,446224
Replika 6	907,2711			
Rata-rata	902,3776	0,332	Jumlah	0,71148

$$S_x = \frac{S_{y/x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_{\text{sampel}} - y_{\text{standar}})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_x = \frac{0,2741}{209,97} \times \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{5} + \frac{(902,3776 - 70,1884)^2}{(209,97)^2 \times (0,7115)}}$$

$$S_x = 0,0062$$

b. Etanol

Konsentrasi Etanol (%)	Luas Area (Yi)	Yc	Yi-Yc	(Yi-Yc) ²
0,5	181,8279	202,356	-20,5281	421,4029
1	367,0095	373,711	-6,7015	44,9101
5	1764,4742	1744,551	19,9232	396,9339
10	3480,8849	3458,101	22,7839	519,1061
20	6869,5547	6885,201	-15,6463	244,8067
Rata-rata	2532,75024		Jumlah	1627,16
	Sy/x			23,28919
	N			5
	P			3

Sampel	Luas Area	Konsentrasi (%)	xi- $\bar{x}$	(xi- $\bar{x}$) ²
Replika 1	4745,7257	0,5	-6,8	46,24
Replika 2	4744,5327	1	-6,3	39,69
Replika 3	4750,7952	5	-2,3	5,29
Replika 4	4739,7373	10	2,7	7,29
Replika 5	4772,6687	20	12,7	161,29
Replika 6	4750,5939			
Rata-rata	4750,675583	7,3	Jumlah	259,8

$$S_x = \frac{\frac{S_y}{b}}{\frac{x}{b}} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_{\text{sampel}} - y_{\text{standar}})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_x = \frac{23,2892}{342,71} \times \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{5} + \frac{(4750,6756 - 2532,7502)^2}{(342,71)^2 \times (259,8)}}$$

$$S_x = 0,0566$$

4. Ketidakpastian presisi

a. Metanol

Luas Area	C Hasil (%) (Xi)	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$
892,0812	4,2463	-0,04905	0,002405903
895,2471	4,2614	-0,03395	0,001152602
904,9705	4,3077	0,01235	0,000152522
897,8353	4,2737	-0,02165	0,000468723
916,8604	4,3643	0,06895	0,004754103
907,2711	4,3187	0,02335	0,000545222
$\bar{X}$	4,29535	jumlah	0,009479075

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,009479075}{6-1}} \\
 &= 0,043540958
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \mu_p &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\
 &= \frac{0,0435}{\sqrt{6}} \\
 &= 0,0177
 \end{aligned}$$

b. Etanol

Luas Area	C Hasil (%) (Xi)	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$
4745,7257	13,7571	-0,014483333	0,000209767
4744,5327	13,7537	-0,017883333	0,000319814
4750,7952	13,7719	0,000316667	1,00278E-07
4739,7373	13,7397	-0,031883333	0,001016547
4772,6687	13,8358	0,064216667	0,00412378
4750,5939	13,7713	-0,000283333	8,02778E-08
$\bar{X}$	13,77158333	jumlah	0,005670088

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,005670088}{6-1}} \\
 &= 0,033675179
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\mu_p &= \frac{SD}{\sqrt{n}} \\ &= \frac{0,0337}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0137\end{aligned}$$

5. Ketidakpastian gabungan

Sumber Ketidakpastian	Nilai (X)	Satuan	Ketidakpastian Baku (μx)	$\mu x/X$	$(\mu x/X)^2$
Pipet ukur	1	mL	0,0025	0,0025	6,25E-06
Pipet ukur	10	mL	0,0204	0,00204	4,16E-06
Labu ukur	10	mL	0,0102	0,00102	1,04E-06
Kurva kalibrasi metanol	4,2954	%	0,0062	0,001443	2,08E-06
Kurva kalibrasi etanol	13,7716	%	0,0566	0,00411	1,69E-05
Presisi sampel metanol	1,0136	%	0,0177	0,017463	0,000305
Presisi sampel etanol	0,2445	%	0,0137	0,056056	0,00314

a. Metanol

$$\frac{\mu_{\text{met}}}{\text{kadar}} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{\text{pipet 1mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{pipet 10mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{labu 10mL}}}{\text{volume labu}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{kurva kalibrasi}}}{\text{konsentrasi}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{presisi}}}{\text{presisi}}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{met}} = \sqrt{\left(\frac{0,0025\text{mL}}{1\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0204\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0102\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0062\%}{4,2954\%}\right)^2 + \left(\frac{0,0177\%}{1,0136\%}\right)^2} \times 4,2953\%$$

$$\mu_{\text{met}} = 0,0767\%$$

b. Etanol

$$\frac{\mu_{\text{et}}}{\text{kadar}} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{\text{pipet 1mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{pipet 10mL}}}{\text{volume pipet}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{labu 10mL}}}{\text{volume labu}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{kurva kalibrasi}}}{\text{konsentrasi}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{presisi}}}{\text{presisi}}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{et}} = \sqrt{\left(\frac{0,0025\text{mL}}{1\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0204\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0102\text{mL}}{10\text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{0,0566\%}{13,7716\%}\right)^2 + \left(\frac{0,0137\%}{0,2445\%}\right)^2} \times 13,7716\%$$

$$\mu_{\text{et}} = 0,7754\%$$

6. Ketidakpastian diperluas

a. Metanol

$$\begin{aligned}U &= \mu g \times k \\&= 0,0766\% \times 2 \\&= 0,1532\%\end{aligned}$$

Jadi hasil perhitungan ketidakpastian penentuan kadar metanol dengan tingkat kepercayaan 95% sebesar $4,2954 \pm 0,1532 \%$.

b. Etanol

$$\begin{aligned}U &= \mu g \times k \\&= 0,7751\% \times 2 \\&= 1,5502\%\end{aligned}$$

Jadi hasil perhitungan ketidakpastian penentuan kadar etanol dengan tingkat kepercayaan 95% sebesar $13,7716 \pm 1,5502 \%$.

Lampiran 8. Uji Kesesuaian Sistem

1. Penentuan nilai lempeng

Kadar etanol 0,5%	Rt (menit)	Width (menit)	N
Replika 1	6,975	0,0344	657796,444
Replika 2	6,977	0,0351	632183,557
Replika 3	6,977	0,0344	658173,729
Rata-rata			649384,5767

❖ Replika 1

Diketahui : Rt (menit) = 6,975
W (menit) = 0,0344
Ditanya : N...?

Dijawab : $N = 16 \left(\frac{Rt}{W} \right)^2$

$$N = 16 \left(\frac{6,975}{0,0344} \right)^2$$

$$N = 657796,444$$

❖ **Replika 2**

Diketahui : $Rt \text{ (menit)} = 6,977$
 $W \text{ (menit)} = 0,0351$

Ditanya : N...?

Dijawab : $N = 16 \left(\frac{Rt}{W} \right)^2$

$$N = 16 \left(\frac{6,977}{0,0351} \right)^2$$

$$N = 632183,557$$

❖ **Replika 3**

Diketahui : $Rt \text{ (menit)} = 6,977$
 $W \text{ (menit)} = 0,0344$

Ditanya : N...?

Dijawab : $N = 16 \left(\frac{Rt}{W} \right)^2$

$$N = 16 \left(\frac{6,977}{0,0344} \right)^2$$

$$N = 658173,729$$

2. Penentuan presisi instrumen

Pengulangan	Metanol (0,1%)		Etanol 0,5%	
	Rt (menit)	Luas Area	Rt (menit)	Luas Area
Replika 1	6,568	20,1346	6,972	171,3135
Replika 2	6,568	20,388	6,977	177,3904
Replika 3	6,568	20,2203	6,976	173,8451
Replika 4	6,569	19,5324	6,978	177,7334
Replika 5	6,568	19,8554	6,979	173,0898
Replika 6	6,57	19,4667	6,976	172,6700
SD		0,3779		2,6297
RSD (%)		1,8958		1,5083

❖ Metanol

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= 0,3779 \\
 \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3779}{19,9329} \times 100\% \\
 &= 1,8958\%
 \end{aligned}$$

❖ Etanol

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= 2,6297 \\
 \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,6297}{174,3404} \times 100\% \\
 &= 1,5083\%
 \end{aligned}$$

3. Penentuan nilai resolusi

Pengulangan	Metanol (0,1%)		Etanol 0,5%		Resolusi (Rs)
	Rt (menit)	Width (menit)	Rt (menit)	Width (menit)	
Replika 1	6,568	0,0399	6,972	0,0342	10,9042
Replika 2	6,568	0,0392	6,977	0,0344	11,1141
Replika 3	6,568	0,0404	6,976	0,0336	11,0270
Replika 4	6,569	0,0421	6,978	0,0351	10,5959
Replika 5	6,568	0,0418	6,979	0,0356	10,6202
Replika 6	6,57	0,0394	6,976	0,0345	10,9878
Rata-rata					10,8749

❖ Replika 1

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W_2 + W_1)}$$

$$R_s = \frac{6,972 - 6,568}{0,5 (0,0342 + 0,0399)}$$

$$R_s = 10,9042$$

❖ Replika 2

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W_2 + W_1)}$$

$$R_s = \frac{6,977 - 6,568}{0,5 (0,0344 + 0,0392)}$$

$$R_s = 11,1141$$

❖ Replika 3

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W_2 + W_1)}$$

$$R_s = \frac{6,976 - 6,568}{0,5 (0,0336 + 0,0404)}$$

$$R_s = 11,0270$$

❖ Replika 4

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W2 + W1)}$$

$$R_s = \frac{6,978 - 6,569}{0,5 (0,0351 + 0,0421)}$$

$$R_s = 10,5959$$

❖ **Replika 5**

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W2 + W1)}$$

$$R_s = \frac{6,979 - 6,568}{0,5 (0,0356 + 0,0418)}$$

$$R_s = 10,6202$$

❖ **Replika 6**

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5 (W2 + W1)}$$

$$R_s = \frac{6,976 - 6,570}{0,5 (0,0345 + 0,0394)}$$

$$R_s = 10,9878$$