

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Kurma

Kurma adalah sejenis tumbuhan (*Palma*) atau dikenal dalam bahasa ilmiah sebagai *Phoenix dactylifera L.* Tanaman kurma hidup di tempat yang memiliki penyinaran penuh oleh matahari. Tanaman kurma tidak dapat tumbuh baik jika diletakkan dalam ruangan. Tanaman kurma mampu tumbuh pada musim kemarau yang sangat panjang. Beberapa tanaman kurma yang memiliki kualitas tinggi dipanen secara langsung (FAO 2004).

Kurma memiliki daftar panjang kandungan nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh. Kurma matang mengandung gula sekitar 80%, sisanya terdiri dari protein, lemak dan produk mineral termasuk tembaga, besi, magnesium dan asam folat. Lima butir kurma (sekitar 45 g) mengandung sekitar 115 kal, hampir semuanya dari karbohidrat (Mansouri *et al.* 2004). Kurma mengandung banyak kalori dan nutrisi .

Tabel II.1 Kandungan nutrisi kurma

Komponen Nutrisi	Nilai per 100 g	Komponen Mineral	Nilai per 100 g
Air	22,5	Kalsium (Ca)	32
Energi	275	Besi (Fe)	1,15
Protein	1,97	Magnesium (Mg)	35
Lemak total	0,45	Fosfor (P)	40
Karbohidrat	73,51	Kalium (K)	652
Serat pangan	7,5	Natrium (Na)	3
Abu	1,58	Seng (Zn)	0,29
		Tembaga (Cu)	0,2888
		Mangan (Mn)	0,298
		Selenium (Se)	1,9
Komponen Vitamin	Nilai per 100 g	Komponen Lemak	Nilai per 100 g
Vitamin C	0	Asam lemak tak jenuh total	0,191
Thiamin	0,09	Asam lemak jenuh total	0,149
Riboflavin	0,1	Asam lemak total	0,340
Niasin	2,2	Asam lemak total	
Asam pantotenat	0,78		
Vitamin B6	0,192		
Asam folat	13		
Vitamin A	50		
Vitamin E	0,1		

Sumber: Besbes (2004).

Kadar glukosanya yang tinggi sangat baik bila dijadikan sebagai sumber energi tubuh. (Lehninger 1982).

2.2 Tinjauan Tentang Nabidz

Sahal bin sa'ad berkata," Abu Usaid As-Sa'idi mengundang Rasulullah SAW di hari pernikahannya, Saat itu, istrinya membantu mereka, padahal ia adalah pengantin wanita". Sahl berkata, "Taukah kalian minuman apa yang disuguhkan olehnya (istrinya) kepada Rasulullah SAW?" Ia merendam kurma di dalam kuili pada waktu malam. Ketika beliau makan, ia memberikan minuman tersebut kepada beliau." (H.R. Bukhari) (Baqi, 2014).

Cara membuat minuman nabidz dalam riwayat Imam Muslim sebagai berikut: Aisyah pernah ditanya tentang nabidz, kemudian ia memanggil seorang budak wanita asal Habasyah. "Bertanyalah kepada wanita ini!" Kata Aisyah. "Karena ia dahulu pernah membuat nabidz untuk Rasulullah SAW," tambahnya. Lalu wanita asal Habasyah itu berkata, "Aku pernah membuat nabidz untuk beliau dalam sebuah kantung kulit pada malam hari. Kemudian aku mengikatnya dan menggantungnya. Lalu di pagi harinya beliau SAW meminumnya." Dari Aisyah dia berkata, "Kami biasa membuat perasan untuk Rasulullah SAW di dalam air minum yang bertali di atasnya, kami membuat rendaman di pagi hari dan meminumnya di sore hari, atau membuat rendaman di sore hari lalu meminumnya di pagi hari." (H.R. Muslim).

Nabidz dibedakan antara meminumnya sampai kadar yang memabukkan dengan kadar yang tidak sampai memabukkan. Yang pertama, yakni meminumnya sampai kadar memabukkan, merupakan dosa besar dan menyebabkan peminumnya dijatuhi hukuman *hadd* serta ditolak kesaksiannya. Sedangkan mengenai

yang kedua, yakni meminumnya tidak sampai pada kadar yang memabukkan, terdapat perbedaan pendapat sebagai berikut:

- a. Menurut Imam Malik, termasuk dosa besar dan menyebabkan peminumnya dijatuhi hukuman *hadd*, serta ditolak kesaksiannya.
- b. Menurut Imam Syafii dan sebagian ulama mazhab Maliki, termasuk dosa kecil, tidak menyebabkan dijatuhi *hadd* dan tidak pula ditolak kesaksiannya.
- c. Menurut Abu Hanifah, tidak berdosa dan bahkan boleh meminumnya. Jika seseorang tidak mabuk kecuali ketika meminum gelas yang keempat, maka yang diharamkan baginya hanyalah meminum gelas yang keempat.

(Hosen, 1993 dalam Fatwa MUI).

2.3 Tinjauan Tentang Alkohol

Dalam ilmu kimia, alkohol dikenal sebagai golongan senyawa organik yang mengandung gugus $-OH$ yang terikat pada atom C. Golongan senyawa ini disebut juga alkohol. Sedangkan dalam pengertian umum yang dimaksud dengan alkohol adalah etanol dengan rumus molekul C_2H_5OH (Depkes R.I.,2008).

Alkohol yang beredar di Indonesia dikenal ada beberapa macam yaitu: Alkohol anhidrat, kadar alkoholnya 99,2 %; alkohol kuat (spiritus fortiori) kadar alkoholnya 96 %; alkohol encer (spiritus dilutus) dengan kadar alkoholnya 70 %.

Etanol (C_2H_6O), BM (46,07), bobot jenis 0,8119 sampai 0,8139, cairan tak berwarna, jernih, mudah menguap, bau khas, rasa panas. Mudah terbakar dengan memberikan nyala biru yang tidak berasap. Etanol sangat mudah larut dalam air, dalam *kloroform* dan dalam *eter* (Depkes R.I.,2008). Etanol adalah senyawa golongan

alkohol yang tidak berwarna, bersifat polar, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan dan dapat membentuk ikatan hydrogen antar molekul-molekulnya (Reynolds, 1989). Pengaruh kandungan atau kadar etanol yang berbeda dalam darah disajikan pada tabel II.3.

Tabel II.2 Tingkat Kandungan Etanol dan Pengaruhnya dalam Darah

Tingkat kandungan alkohol dalam darah (% v/v)	Pengaruh
0,05	Hilang koordinasi
0,15-0,20	Racun
0,30-0,40	Tidak sadar
0,50	Kemungkinan mati

Sumber: Jones *et al.* 1987 dalam Darwis 1993 Fatwa MUI .

Satu pint (0,568 liter) etanol murni masuk ke dalam tubuh manusia akan mengakibatkan kematian. Disamping penyebab mabuk, etanol dapat pula menurunkan semangat (depresi), penyebab kurang gizi, dan penyakit cardiovascular. Etanol dapat diserap oleh darah dan metabolisme oleh enzim yang dihasilkan oleh sel-sel hati. Tingkat detoksifikasi adalah sekitar satu ons etanol murni perjam (Darwis, 1993 dalam Fatwa MUI).

Keracunan metanol disebabkan karena oksidasi metanol oleh enzim dehidrogenase alkohol menjadi formaldehid, dan selanjutnya dimetabolisme menjadi asam format oleh dehidrogenase formaldehid. Asam format merupakan metabolik toksik yang berperan pada terjadinya gangguan tajam penglihatan, asidosis metabolik, kebutaan dan kematian pada penderita keracunan metanol (JOI, 2010).

2.4 Tinjauan Tentang Minuman Beralkohol

Minuman Beralkohol adalah minuman yang mengandung ethanol yang diproses dari bahan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat dengan cara fermentasi dan destilasi atau fementasi tanpa destilasi, baik dengan cara memberikan perlakuan terlebih dahulu atau tidak, menambahkan bahan lain atau tidak maupun yang diproses dengan cara mencampur konsentrat dengan ethanol atau dengan cara pengenceran minuman mengandung ethanol yang berasal dari fermentasi.

Menurut peraturan menteri perdagangan nomor 20/M-DAG/PER/4/2014, minuman beralkohol dikelompokkan dalam golongan sebagai berikut:

- a. Minuman beralkohol golongan A adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau ethanol (C_2H_5OH) dengan kadar sampai dengan 5 % (lima per seratus);
- b. Minuman beralkohol golongan B adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau ethanol (C_2H_5OH) dengan kadar lebih dari 5 % (lima per seratus) sampai 20 % (dua puluh per seratus); dan
- c. Minuman beralkohol golongan C adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau ethanol (C_2H_5OH) dengan kadar lebih

dari 20 % (dua puluh perseratus) sampai dengan 55 % (lima puluh lima per seratus).

Satuan yang digunakan dalam industri alkohol atau minuman yang mengandung alkohol biasanya “proof gallon”, “taxt gallon”, dan “barrel”. Standar proof gallon artinya apabila produk mengandung 50 persen (v/v) etanol atau maka disebut 100 proof (Darwis, 1993 dalam Fatwa MUI).

Meminum minuman keras dalam agama islam hukumnya haram. Minuman keras yang diharamkan adalah Khmar dimana meminumnya termasuk dosa besar, dan menyebabkan peminumnya dijatuhi hukuman *hadd* serta ditolak kesaksiannya (*syahadah*)-nya berdasarkan ijma', baik meminumnya itu sampai mabuk atau tidak (Hosen, 1993 dalam Fatwa MUI). Aisyah meriwayatkan dari Rasulullah SAW, beliau bersabda: “ Semua jenis minuman yang memabukkan adalah haram. (HR. Bukhari) (Baqi, 2014).

2.5 Tinjauan Tentang Metode Kromatografi Gas

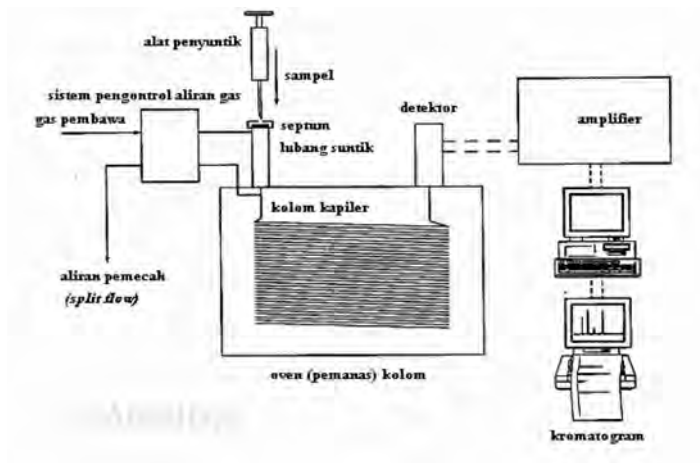
Kromatografi gas (KG) merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran. Kegunaan umum KG adalah untuk : melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. KG dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non-destruktif tergantung pada detector yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.1 Prinsip Kromatografi Gas

Prinsip Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang mana solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solute dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solute dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solute akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi. Ada 2 jenis kromatografi gas yaitu kromatografi gas-cair (KGC) dan kromatografi gas-padat (KGP). Pada KGC fase diam yang digunakan adalah cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solute akan terlarut dalam fase diam, mekanisme *sorpsi*-nya adalah partisi sedangkan pada KGP digunakan fase diam padatan (kadang-kadang polimerik) dengan mekanisme *sorpsi*-nya adalah adsorpsi (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.2 Tinjauan Sistem Peralatan Kromatografi Gas

Diagram skematik peralatan kromatografi gas dengan komponen utama adalah : control dan penyediaan gas pembawa; ruang suntik sampel; kolom yang diletakkan dalam *oven* yang dikontrol secara termostatik; system deteksi dan pencatat (detector dan recorder); serta komputer yang dilengkapi dengan pengolahan data (Gandjar dan Rohman, 2011).



Gambar 2.1 Diagram skematik pada KG
(Sumber: Kealey and Haines, 2002)

2.5.3 Fase Gerak

Fase gerak disebut juga gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solute ke kolom, karenanya gas pembawa tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa adalah: tidak reaktif; murni/kering; dan dapat disimpan pada tangki tekanan tinggi. Pemilihan gas pembawa tergantung pada penggunaan spesifik dan jenis detektor yang digunakan. Helium merupakan tipe gas pembawa yang sering digunakan karena memberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik yaitu mengurangi pelebaran pita.

Tabel II.3 Gas pembawa dan pemakaian detektor

Gas pembawa	Detektor
Hidrogen	Hantar panas
Helium	Hantar panas
	Ionisasi nyala
	Fotometri nyala
	Termoionik
Nitrogen	Ionisasi nyala
	Tangkap electron
	Fotometri nyala
	Termoionik
Argon	Ionisasi nyala
Argon + metana 5%	Tangkap electron
Karbon dioksida	Hantar panas

(Sumber: Gandjar dan Rohman, 2011).

Untuk setiap pemisahan dengan KG terdapat kecepatan optimum gas pembawa yang utamanya tergantung pada diameter kolom. Pada dasarnya, kecepatan alir gas pembawa berbanding lurus dengan penampang kolom, dan penampang kolom tergantung jari-jari pangkat dua. Gas pembawa bekerja paling efisien pada kecepatan alir tertentu. Gas helium akan efisien pada kecepatan alir 40 ml/ menit (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.4 Ruang Suntik

Ruang suntik atau *inlet* berfungsi untuk menghantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan tersendiri (terpisah dari kolom) dan biasanya 10-15°C lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikan. Sampel disuntikan kedalam aliran gas pembawa dan sebelumnya masuk ke kolom, gas pembawa dibagi menjadi 2 aliran. Satu aliran akan masuk ke kolom dan satunya lagi akan dibuang. Laju alir di dalam kedua aliran diukur dan ditentukan nisbah (rasio) pemecahannya. Jika 1 sampel dimasukkan ke dalam pemecah aliran yang mempunyai nisbah pemecahan 1:100, maka sebanyak 0,01 sampel masuk ke kolom sedangkan sisanya dibuang. Penyuntikan dilakukan dengan menggunakan alat penyuntik mikro (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.5 Kolom

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Ada 2 jenis kolom pada KG yaitu:

a. Kolom kemas (*packing column*)

Efisiensi kolom ini akan meningkat dengan semakin bertambah halusness partikel fase diam. Semakin kecil diameter partikel fase diam, maka efisiensinya akan meningkat. Ukuran partikel fase diam biasanya berkisaran antara 60-80 mesh (250-170 μ m). Untuk kromatografi gas-cair dipakai lapisan tipis pada padatan pendukung dengan ketebalan 1-10 μ m, dan maksimum fase diam cair yang terdapat pada padatan pendukung adalah 10 %.

b. Kolom kapiler

Adanya rongga pada bagian dalam kolom ini yang menyerupai pipa (tube) maka kolom ini disebut juga “*open tubular columns*”. Kemampuan kolom ini memberikan harga jumlah pelat teori yang sangat besar (>300.000 pelat) (Gandjar dan Rohman, 2011).

Tabel II.4 Perbandingan kolom kemas dan kolom kapiler

Parameter	Kolom kemas	Kolom kapiler
Tabung	Baja tahan karat (<i>stainless steel</i>)	Silika (SiO ₃) dengan kemurnian yang sangat tinggi (kandungan logam <1 ppm).
Panjang	1-5 m	5-60 m
Diameter dalam	2-4 mm	0,10-0,53 mm
Jumlah lempeng/meter	1000	5000
Total lempeng	5000	300.000
Tebal lapisan film	10 mikron	0,05-1 mikron
Resolusi	Rendah	Tinggi
Kec.alir(mL/menit)	10-60	0,5-1,5
Kapasitas	10/puncak	<100 ng/puncak

(Sumber : Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.6 Oven

Termostat oven berfungsi untuk mengatur suhu kolom, pengaturan suhu kolom sangat penting disebabkan pemisahan fisik komponen-komponen terjadi di dalam kolom sangat dipengaruhi oleh suhu dalam oven. Beberapa fase diam jika digunakan suhu yang terlalu tinggi akan terurai secara perlahan-lahan (Gandjar dan Rohman, 2011).

Tabel II.5 Suhu minimum dan maksimum beberapa fase diam pada KG

Fase diam	Suhu minimum (⁰ C)	Suhu maksimum (⁰ C)
Apiezon L	50	255
Metil silicon	0 (untuk gom 100)	300-350
Fenil / metil silicon	0	300
Carbowax (polietilen glikol)	10-30	255
Sianosilikon	0	275
Alkil ftalat	20	225
Dexsil (polikarboranilena siloksan)	50	450

(Sumber: Gandjar dan Rohman, 2011)

Pemisahan pada kromatografi gas dapat dilakukan pada suhu yang tetap biasanya disebut pemisahan isothermal, dapat dilakukan dengan menggunakan suhu yang berubah secara terkendali disebut

pemisahan dengan suhu terprogram. Pemisahan isothermal paling baik dipakai pada analisis rutin. Ada dua hal yang harus diperhatikan terkait dengan pemisahan isothermal, yaitu:

- 1) jika suhu terlalu tinggi maka komponen akan terelusi tanpa terpisah, sementara jika suhu terlalu rendah maka komponen yang bertitik didih tinggi akan keluar sangat lambat bahkan tetap tertinggal didalam kolom. □
- 2) terkait masalah diatas pemisahan dapat dilakukan dengan suhu terprogram.

Pemisahan dengan suhu terprogram mempunyai keuntungan, yakni mampu meningkatkan resolusi komponen dalam suatu campuran, mempunyai titik didih pada kisaran yang agak luas. Pemograman suhu dilakukan dengan menaikkan suhu dari suhu tertentu ke suhu berikutnya dan terkendali dalam waktu tertentu (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.5.7 Detektor

Detektor pada KG adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik. Suhu pada detector dan sambungan antara kolom dan detector harus cukup tinggi untuk mencegah pengembunan (kondensasi) yang akan mengakibatkan terjadinya pelebaran puncak dan menghilangnya puncak komponen (McNair and Bonelli, 1988).

Tabel II.6 Jenis-jenis detektor, batas deteksi, jenis sampel-sampelnya dan kecepatan alir gas pembawa

Jenis detektor	Jenis sampel	Batas deteksi	Kecepatan air (mL/menit)		
			Gas pembawa	H ₂	Udara
Hantaran panas	Senyawa umum	5-100 ng	15-30	-	-
Ionisasi nyaa	Hidrokarbon	10-100 pg	20-60	30-40	200-500
Penangkap elektron	Halogen organik, pestisida	0,05-1 pg	30-60	-	-
Nitrogen-fosfor	Senyawa nitrogen organik dan fosfat organik	0,1-10 g	20-40	1-5	70-100
Fotometri nyala (393 nm)	Senyawa-senyawa sulfur	10-100 pg	20-40	50-70	60-80
Fotometri nyala (526 nm)	Senyawa-senyawa fosfor	1-10 pg	20-40	12-170	100-150
Fotoionisasi	Senyawa-senyawa yang	2 pg	30-40	-	-

	terionisasi dengan UV				
Konduktivitas elektrolitik	Halogen,N,S	0,5 pg CL 2 pg S 4 pg N	20-40	80	-
<i>Fourier Transform</i> -infra red(FT-IR)	Senyawa-senyawa organik	1000 pg	3-10	-	-
Selektifitas massa	Sesuai untuk senyawa apapun	10 pg-10 ng	0,5-30	-	-
Emisi atom	Sesuai untuk elemen apapun	0,1-20 pg	60-70	-	-

(Sumber: Kealey and Haines,2002).

2.5.8 Fase Diam

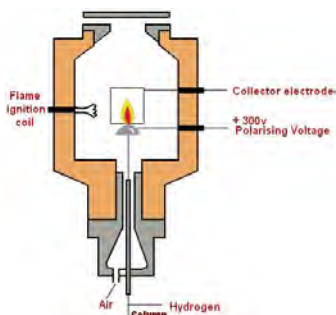
Jenis fase diam akan menentukan urutan elusi komponen-komponen dalam campuran. Fase diam yang dipakai pada kolom kapiler dapat bersifat non polar, polar, atau semi polar. Fase diam polar seperti carbowax 20M sesuai untuk golongan sampel alkohol; amina; aromatic; keton dengan suhu maksimum 250⁰C (Gandjar dan Rohman, 2011)

2.5.9 Komputer, Integrator, atau Rekorder

Alat pengumpul data seperti komputer, integrator, atau rekorder, dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (pengguna). Rekorder saat ini jarang digunakan karena rekorder tidak dapat mengintegrasikan data, sementara itu baik integrator maupun komputer mampu mengintegrasikan puncak-puncak dalam kromatogram. Komputer mempunyai keuntungan lebih karena komputer secara elektronik mampu menyimpan kromatogram untuk evaluasi di kemudian hari (Gandjar dan Rohman, 2011).

2.6 Kromatografi Gas-Ionisasi Nyala (KG-FID)

Pada dasarnya senyawa organik bila dibakar akan terurai menjadi pecahan sederhana bermuatan positif, biasanya terdiri atas satu karbon (C^+). Pecahan ini meningkatkan daya hantar di sekitar nyala, tempat yang telah dipasang elektrod, dan peningkatan daya hantar ini dapat diukur dengan mudah dan direkam. Sampel yang dibawa oleh gas pembawa mengalir ke dalam nyala dan diuraikan menjadi ion. Detektor ionisasi nyala (FID) ini mengukur jumlah atom karbon, pada dasarnya bersifat umum untuk hampir semua senyawa organik (senyawa fluoro tinggi dan karbon disulfida tidak terdeteksi) (Gandjar dan Rohman, 2011).



Gambar 2.2 Detektor ionisasi nyala (FID)

2.7 Parameter Kromatografi

2.7.1 Waktu Retensi atau Waktu Tambat

Waktu tambat atau waktu retensi (*retention time*) adalah selang waktu yang diperlukan oleh analit mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya secara maksimal ditangkap oleh detektor, yang diukur pada puncak maksimum kromatogram. Waktu tambat analit yang tertahan pada fase diam dinyatakan sebagai t_R . Sedangkan waktu tambat analit yang tidak tertahan pada fase diam atau sering disebut sebagai waktu tambat fase gerak dinyatakan sebagai t_M . Harga t_M akan lebih kecil dari harga t_R , karena yang akan mencapai ujung kolom lebih dahulu adalah fase geraknya (Mulja dan Suharman, 1995).

Waktu retensi analit dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$t_R = \left(\frac{V_S}{V_M} Kd + 1 \right) t_M$$

Keterangan:

t_R = waktu retensi analit

t_M = waktu tambat fase gerak

K_d = koefisien distribusi

V_m = volume fase gerak

V_s = volume fase diam

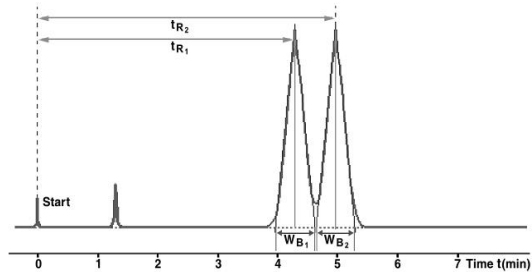
Pada persamaan ini, tampak bahwa harga t_M , V_m , dan V_s dapat diatur. Dengan demikian, harga t_R akan menjadi spesifik untuk tiap-tiap analit (Mulja dan Suharman, 1995).

2.7.2 Resolusi (R_s) dan Faktor Selektivitas (α)

Resolusi (R_s) didefinisikan sebagai rasio antara waktu retensi yang berbeda t_1 dan t_2 dari dua peak dan rata-rata lebar area W_1 dan W_2 dari dua peak pada garis dasarnya, yang dapat ditunjukkan sebagai berikut:

$$R_s = \frac{t_2 - t_1}{0,5(w_1 + w_2)}$$

$R_s = 1$ dapat diartikan bahwa sekitar 4% dua peak yang berdekatan *overlap* dan mampu untuk analisa beberapa kromatogram. Untuk pemisahan yang baik, harga R_s mendekati atau lebih dari 1,5 (Cazes, 2004).



Gambar 2.3 Pemisahan Dua Analit (Sumber: Cazes, 2004)

Faktor selektivitas dari sistem kromatografi adalah waktu retensi relative dari kedua peak pada suatu kromatogram dihitung dengan membandingkan faktor kapasitas dari peak yang terelusi di akhir (K_2) dan peak yang terelusi di awal (K_1). Faktor selektivitas lebih dari 2 akan memberikan hasil yang baik (Cazes, 2004).

Rumus:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$

2.7.3 Faktor Kapasitas atau Faktor Retensi (k')

Faktor kapasitas (k) didefinisikan sebagai perbandingan waktu yang dibutuhkan solut berada dalam fase diam dan waktu yang dibutuhkan solut dalam fase gerak (Cazes, 2004)

Harga faktor kapasitas (k') optimal adalah berkisar antara 2-10. Sedangkan untuk campuran yang kompleks, harga k' bisa diperluas menjadi 0.5-20 agar memberikan waktu peak-peak pada komponen muncul (Skoog *et al.*, 2007).

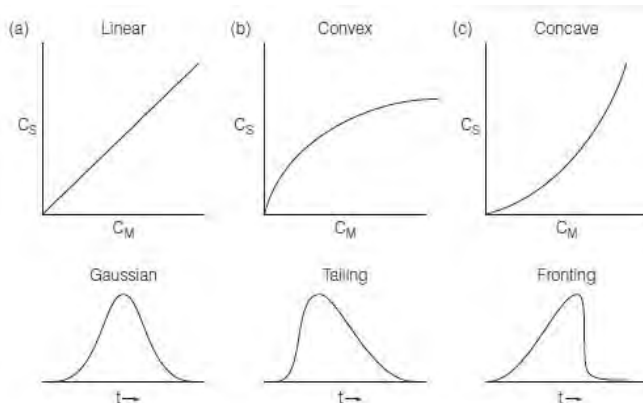
Faktor kapasitas dinyatakan dalam persamaan :

$$k = \frac{KV_s}{V_m} = \frac{VR - V_m}{V_m} = \frac{TR - T_m}{T_m}$$

2.7.4 Puncak Asimetri

Selama pemisahan kromatografi, solut individual akan membentuk profil konsentrasi atau simetri atau dikenal juga dengan profil Gaussian dalam aliran fase gerak. Profil, dikenal juga dengan puncak atau pita, secara perlahan-lahan akan melebar dan sering juga membentuk profil yang asimetrik karena solut-solut melanjutkan migrasinya ke fase diam. Profil konsentrasi solute yang bermigrasi akan simetris jika rasio distribusi solute konstan selama di kisaran konsentrasi keseluruhan puncak, sebagaimana ditunjukkan oleh isotherm sorpsi yang linier yang merupakan plot konsentrasi solut dalam fase diam (C_s) terhadap konsentrasi solut dalam fase gerak (C_m). kurva isotherm dapat berubah menjadi dua puncak asimetris yakni membentuk puncak yang berekor (*tailing*) dan adanya puncak pendahulu (*fronting*) jika ada perubahan rasio distribusi solute ke arah yang lebih besar. *Tailing* dan *fronting* tidak dikehendaki karena dapat menyebabkan pemisahan kurang baik dan data retensi kurang reproduisibel (Gandjar dan Rohman, 2014).

Penentuan asimetri puncak dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan Faktor Asimetri (AF)= b/a . Dengan a adalah paruh awal puncak yang diukur pada 10% tinggi puncak. Sementara b adalah paruh pengikut pada puncak yang diukur pada 10% tinggi puncak. Idealnya nilai faktor asimetri ini dalam rentang 0,95-1,15.



Gambar 2.4 Isoterm sorpsi serta profil-profil puncak yang dihasilkan. (a) Isoterm linier (b) Puncak *tailing* (c) puncak *fronting* (Kealey dan Haines, 2002).

2.8 Tinjauan tentang Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan proses yang dilakukan melalui percobaan laboratorium dimana karakteristik dari suatu prosedur memenuhi persyaratan untuk aplikasi analisis (USP, 2014). Validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reprodusiibel dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar dan Rohman, 2014).

Sedangkan menurut Harmita (2004), validasi metode analisis adalah suatu tindakan parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam penggunaannya.

Suatu metode analisis harus divalidasi untuk memastikan bahwa parameter kejanya cukup mampu untuk mengatasi

problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi ketika :

1. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi masalah analisis tertentu.
2. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu masalah yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi.
3. Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu.
4. Metode baku yang digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.
5. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antara dua metode seperti metode baru dan metode baku.

(Gandjar dan Rohman, 2014).

USP 36 tahun 2013 membagi metode-metode analisis ke dalam beberapa kategori, yaitu:

1. Kategori I merupakan prosedur analisis untuk mengkuantifikasi komponen utama atau bahan aktif (termasuk pengawet) pada produk farmasi.
2. Kategori II merupakan prosedur analisis untuk menentukan cemaran (impurities) atau senyawa hasil degradasi pada produk akhir farmasi.. Metode ini melingkupi perhitungan kembali secara kuantitatif dan uji batas.
3. Kategori III merupakan prosedur analisis untuk

menentukan performa karakteristik (contoh : disolusi, pelepasan obat).

4. Kategori IV uji identifikasi

Table 2.7 Data yang Diperlukan untuk Uji Validasi (USP, 2014).

Karakteristik analisis	Kategori I	Kategori II		Kategori III	Kategori IV
		Kuantitatif	Limit tes		
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifisitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
LOD	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
LOQ	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linieritas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Range	Ya	Ya	*	*	Tidak

*mungkin diperlukan, tergantung pada spesifikasi tes yang dilakukan.

Pengujian kategori dua dapat dibagi lagi menjadi dua sub kategori yaitu analisis kuantitatif dan uji batas. Jika yang diharapkan adalah informasi kuantitatifnya maka parameter

LOD tidak begitu penting, tetapi parameter yang lain dibutuhkan.

Sistem kromatografi harus dievaluasi untuk mengetahui apakah instrumen dapat memberikan data dengan kualitas yang dapat diterima atau dengan kata lain, bahwa pelaksanaan dari tes kesesuaian sistem (*SST/System Suitability Test*) menghasilkan data yang sesuai. *Relative standard deviation* (RSD) dihubungkan dengan kemampuan keterulangan dari waktu retensi yang harus kurang dari atau sama dengan 1% (untuk $n=5$), *tailing factor* (T) harus kurang dari atau sama dengan 2, Resolusi (R_s) harus lebih besar dari 2, Jumlah pelat teori (N) harus lebih besar dari 2000, dan harga faktor kapasitas harus lebih besar dari 2 (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

2.9 Validasi Metode Analisis

Validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan padakasaran analit yang akan dianalisis (USP, 2014). Hasil validasi dapat menjadi tolak ukur perlu atau tidaknya dilakukan perubahan dalam suatu metode atau prosedur. Apabila dilakukan perubahan, maka setelah perubahan tersebut perlu dilakukan validasi ulang (USP, 2014).

2.9.1 Ketepatan (akurasi)

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan nilai hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Parameter akurasi yang digunakan adalah persen perolehan kembali (% *recovery*). Akurasi ditentukan dengan cara menentukan kadar analit dalam

cuplikan yang dibuat khusus dengan mencampurkan analit dalam jumlah tertentu dalam sampel tiruan yang tidak mengandung analit (Hubschmann, 2001).

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{konsentrasi analit yang ditentukan}}{\text{Konsentrasi analit sebenarnya}} \times 100\%$$

2.9.2 Presisi

Presisi adalah derajat kesamaan dari hasil penentuan berulang kali yang dapat dinyatakan dengan koefisien variasi. Uji presisi yang dilakukan dibedakan menjadi dua macam yaitu uji presisi alat dan uji presisi metode. Presisi metode merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan diekspresikan sebagai standar deviasi dan standar deviasi relatif atau disebut juga koefisien variasi. Makin kecil harga koefisien variasi, maka presisi suatu metode analisis dikatakan semakin baik, nilai RSD antara 1-2 % (Gandjar dan Rohman, 2011). Penentuan presisi dapat dibagi dalam kategori, keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan merupakan ketepatan (*precision*) yang ditentukan pada kondisi percobaan yang sama baik analisisnya, peralatan yang digunakan, tempat, maupun waktunya. Presisi antara merupakan ketepatan pada kondisi percobaan pada tempat percobaan yang sama dengan perbedaan kondisi percobaan diantaranya, peralatan yang digunakan, reagent dan kolom. Ketertiruan mempresentasikan presisi hasil yang didapat yang dilakukan pada tempat percobaan yang lain (Yuwono dan Indrayanto, 2005). Presisi antara dilakukan pada laboratorium yang sama dengan operator, peralatan dan hari yang berbeda.

Dokumentasi presisi seharusnya mencakup simpangan baku, standar deviasi relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV), dan kisaran kepercayaan. Presisi seringkali diekspresikan dengan standar deviasi (SD) atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Rumus SD dapat dinyatakan:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X - Xr)^2}{N - 1}}$$

Keterangan:

X = Nilai dari masing-masing pengukuran

Xr = rata-rata (mean) dari pengukuran

N = frekuensi penetapan

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

Keterangan:

RSD = Standar deviasi relative (%)

SD = standar deviasi

Xr = rata-rata

2.9.3 Batas Deteksi (LOD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi. LOD dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*, S). Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada

standar deviasi blanko, standar deviasi intersep y garis regresi (Gandjar dan Rohman, 2011)

$$\text{LOD} = 3,3 (\text{SD}/\text{S})$$

2.9.4 Batas Kuantifikasi (LOQ)

Didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2011).

$$\text{LOQ} = 10(\text{SD}/\text{S})$$

2.9.5 Linieritas

Uji linearitas akan memberikan bukti adanya hubungan linier antara kadar analit dengan reseptor detektor. Pengujian linieritas dilakukan pada kadar 25-200% dari konsentrasi analit yang diperkirakan (Anonom,2000). Sebagai parameter linieritas adalah koefisien korelasi (r) pada regresi linier $y = bx + a$. Linieritas memenuhi persyaratan apabila harga r hitung lebih besar dari harga r tabel, yang berarti terdapat korelasi linier antara variabel bebas (x) dan variabel tergantung (y) dan menghitung nilai koefisien variasi dari fungsi ($V_x/0$) (Ermer and Miller, 2005).

Linieritas merukan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang

menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan Rohman, 2008).

Penggunaan koefisien korelasi (r), tidak direkomendasikan untuk digunakan sendirian untuk mengukur linieritas. Koefisien korelasi mendiskripsikan hubungan antara dua parameter acak, dan tidak menunjukkan hubungan untuk kalibrasi analitis. Koefisien korelasi tidak menunjukkan linieritas, kecuali jika $r > 0,999$. Jika $r < 0,999$, parameter lain seperti nilai V_{ox} , X_p , tes linier ANOVA, dan lain-lain dapat dihitung. (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

2.9.6 Derajat Keterpisahan atau Resolusi (Rs)

Keterpisahan adalah parameter yang menggambarkan pemisahan antara dua puncak komponen sampel dalam kolom (Skoog, 2007). Untuk mencapai pemisahan yang sempurna antara komponen A dan B, maka harga resolusi harus $> 1,5$ (Skoog,2007). Sedangkan harga $R_s = 1-1,5$ menggambarkan kromatogram dari dua komponen tersebut terpisah 98-99% (Mulya dan Syahrani,1991).

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(w_1 + w_2)}$$

Keteranga :

t_{R1} dan t_{R2} = waktu retensi puncak senyawa 1 dan 2

W_1 dan W_2 = lebar setengah puncak senyawa 1 dan 2

2.9.7 Waktu Tambat (T_R)

Waktu tambat atau waktu retensi adalah selang waktu yang diperlukan oleh solut mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detector (Skoog, 2007). Waktu retensi untuk setiap senyawa mempunyai harga yang berbeda-beda dan bersifat karakteristik, tetapi tidak spesifik.

$$T_R = T_M \left(\frac{k + V_S}{V_M} \right)$$

Keterangan:

T_R = waktu tambat analit (menit)

T_M = waktu tambat fase gerak (menit)

K = koefisien distribusi analit di dalam fase diam dan fase gerak

V_S = volume fase diam

V_M = volume fase gerak

2.9.8 Faktor Selektivitas (α)

Faktor selektivitas menggambarkan posisi relative dua puncak komponen yang berdekatan yaitu perbandingan waktu tambat komponen A dengan komponen B (Skoog, 2007). Selektivitas dapat dibuktikan dengan pemisahan yang baik antara analit dengan komponen yang lain. Bukti dari persyaratan ini didapatkan resolusi analit dari komponen lain lebih besar dari 1,5 – 2,0 (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

Untuk pemisahan yang baik ditunjukkan dengan harga (> 1), artinya kedua puncak komponen dapat terpisah (Gritter,1991).

$$\alpha = \frac{t_{Ra}}{t_{Rb}}$$

Keterangan :

α = faktor selektifitas

t_{Ra} = waktu tambat komponen A

t_{Rb} = waktu tambat komponen B