



**OPTIMASI METODE PENENTUAN
KADAR METANOL DALAM DARAH
MENGUNAKAN GAS *CHROMATOGRAPHY***

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh

Hartias Rizalina
4311414006

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2018**

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 11 Oktober 2018



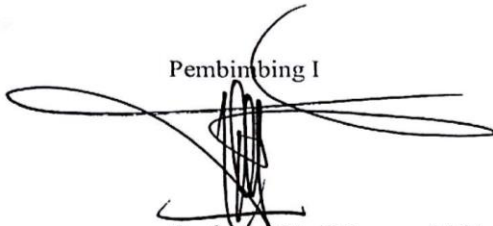
Hartias Rizalina
4311414006

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, 10 September 2018

Pembimbing I



Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si.
NIP. 196412051990021001

Pembimbing-II



Dr. Sri Mursiti, M.Si.
NIP. 196709131999032001

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Optimasi Metode Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan
Gas Chromatography

Disusun oleh

Hartias Rizalina

4311414006

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada
tanggal 26 September 2018.



Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si.
NIP. 196412051990021001

Semarang, 11 Oktober 2018

Sekretaris

Dr. Nanik Wilayati, M.Si.
NIP. 196910231996032002

Ketua Penguji

Mohammad Alauhdin, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 198101082005011002

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si.
NIP. 196412051990021001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Dr. Sri Mursiti, M.Si.
NIP. 196709131999032001

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan sesuatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri” (QS Ar Ra’d 11)

“Kesuksesan itu tidak selalu tentang materi. Tapi bagaimana kita berani bermimpi dan berani untuk memiliki cita-cita dan berani untuk memperjuangkannya”
(Tokopedia)

Persembahan:

Untuk almarhum bapak Taufik Khasan, ibuku tercinta Ida Krisnawati, mbah putri, mas Hilman Munarji, mba Rusma Nailiah, mba Shara Astatia, dan adik tersayang Izza Nurtriana.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Metode Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan *Gas Chromatography*”.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa adanya partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Nanik Wijayati, M.Si. Ketua Jurusan Kimia, dosen wali yang telah memberikan kemudahan administrasi, membimbing dan mengarahkan selama masa studi.
2. Almarhum Prof. Dr. Supartono M.S Dosen pembimbing I yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan, dan motivasi dari awal penyusunan skripsi ini hingga terselesaikannya penelitian ini.
3. Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si, Dosen pembimbing I yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan, dan motivasi dalam penyusunan akhir skripsi ini.
4. Dr. Sri Mursiti, M.Si, Dosen pembimbing II yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Kepala Laboratorium Forensik Cabang Semarang dan Kepala Subbid Kimbiofor yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Kimia Biologi Forensik.
6. Bowo Nurcahyo, S.Si, M.Biotech, Pembimbing lapangan yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
7. Dwita Srihapsari S.Si, Pembimbing instrumen yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan dalam penggunaan alat, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.

8. Mohammad Alauhdin, S.Si. M.Si., Ph.d., Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna untuk penyempurnaan skripsi ini.
9. Seluruh dosen Jurusan Kimia UNNES yang telah membagi ilmu dan pengalaman.
10. Alm bapak, ibu, serta segenap keluarga yang menjadi sumber semangat yang tak pernah berhenti memberi doa dan dukungan.
11. Teman-teman satu penelitian yang telah banyak membantu Elyta Mariana, Arisma Yanti, Ahmad Akhib AY.
12. Teman-teman Kimia angkatan 2014 lainnya yang telah banyak membantu dan selalu mendukung dan memberi doa, serta
13. Seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam penyelesaian skripsi ini
Kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi berbagai pihak yang membutuhkan.

Semarang, 11 Oktober 2018

Penulis

ABSTRAK

Rizalina, Hartias. 2018. *Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si., Pembimbing Pendamping Dr. Sri Mursiti, M.Si., dan Bowo Nurcahyo, S.Si., M. Biotech.

Kata Kunci: metanol, darah, uji validitas, GC-FID

Pemeriksaan keracunan metanol di dalam tubuh dalam dunia forensik perlu dilakukan dengan preparasi yang cepat, tepat dan akurat karena umumnya sampel yang didapatkan jumlahnya terbatas. Penentuan metanol di dalam tubuh seperti darah dapat dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID), sebelum dianalisis sampel darah perlu dipreparasi untuk menghilangkan pengotor, oleh karena itu pemilihan metode preparasi yang cepat dan tepat perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui preparasi yang paling tepat, cepat, dan akurat, dengan mengkaji berbagai jenis metode preparasi sampel yaitu metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat. Uji validitas dilakukan untuk membuktikan keandalan suatu prosedur yang digunakan berdasarkan uji linearitas, *LoD*, *LoQ*, akurasi, dan presisi. Berdasarkan hasil analisis uji validitas disimpulkan bahwa akurasi dan presisi dari metode distilasi lebih baik dibandingkan metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Oleh karena itu metode distilasi lebih tepat digunakan untuk menentukan kadar metanol dalam darah menggunakan GC-FID.

ABSTRACT

Rizalina, Hartias. 2018. Optimization of Methanol Levels Determination in Blood Using Gas Chromatography. Final Project, Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Prime Advisor Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Sc., Associate Advisor Dr. Sri Mursiti, M.Sc., and Bowo Nurcahyo, S.Sc., M. Biotech.

Keywords: methanol, blood, validity test, GC-FID

Examination of methanol poisoning in the body in the forensic world needs to be done with an appropriate, fast and accurate preparation since the amount of samples commonly obtained are very limited. Determination of methanol in the body such as blood can be analyzed using Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID), before analyzing blood samples need to be prepared to remove impurities, therefore the selection of a fast and precise preparation method needs to be done. This study aims to determine the most appropriate, fast, and accurate preparation, various types of sample preparation methods are examined in achieving those objectives, namely distillation method, liquid-liquid extraction, and solid phase extraction. Validity test is done to prove the reliability of a procedure which is used based on linearity, LoD, LoQ, accuracy, and precision tests. Based on the analysis result of validity test shows that the accuracy and precision of the distillation method is better than liquid-liquid extraction and solid phase extraction methods. Therefore, the distillation method is more appropriate to be used for determining the level of methanol in the blood using GC-FID.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN	iv
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1 LATAR BELAKANG	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Minuman Beralkohol	6
2.2 Metanol	7
2.3 Darah	9
2.4 Standar Internal	9
2.5 Distilasi	10
2.6 Ekstraksi.....	11
2.7 <i>Gas Chromatography</i>	14
2.8 Uji Validitas Metode	18
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	22

3.1	Lokasi Penelitian.....	22
3.2	Variabel Penelitian.....	22
3.3	Alat dan Bahan.....	22
3.4	Prosedur Penelitian.....	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....		26
4.1	Preparasi Sampel.....	26
4.2	Kondisi Operasi <i>Gas Chromatography</i>	28
4.3	Uji Validitas Metode.....	32
4.4	Perbandingan Validitas Hasil Uji Metode.....	40
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN.....		43
5.1	Simpulan.....	43
5.2	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....		44
LAMPIRAN.....		48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2. 1 Sifat fisika dan kimia metanol	8
2. 2 Kriteria penerimaan akurasi dari konsentrasi analit yang berbeda	20
2. 3 Tingkat presisi berdasarkan konsentrasi analit	21
4. 1 Analisis data dari <i>limit of detection (LoD)</i> dan <i>limit of quantitation (LoQ)</i> ..	33
4. 2 Hasil uji akurasi pada metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat	35
4. 3 Hasil uji presisi pada metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Metabolisme metanol.....	8
2. 2 Proses distilasi sederhana.....	10
2. 3 Proses ekstraksi cair-cair.....	12
2. 4 Proses ekstraksi fase padat.....	14
2. 5 Proses <i>gas chromatography</i>	17
2. 6 Kromatogram HS-GC-FID etanol dengan menggunakan SI n-Propanol.	17
4. 1 Kromatogram GC-FID metanol, n-Propanol, dan kloroform: (a) hasil distilasi; (b) hasil ekstraksi cair-cair; (c) hasil ekstraksi fase padat.....	31
4. 2 Kurva kalibrasi larutan metanol.....	32
4. 3 LoD, LoQ, dan daerah kerja GC-FID	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram alir percobaan	48
2. Hasil penelitian.....	56
3. Perhitungan pembuatan larutan.....	69
4. Dokumentasi penelitian.....	72
5. Hasil analisis GC-FID	76

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minuman beralkohol atau dalam masyarakat biasa disebut minuman keras, akhir-akhir ini menjadi topik yang hangat diperbincangkan. Masyarakat di beberapa wilayah Indonesia banyak mengkonsumsi minuman beralkohol yang dicampur atau biasa disebut dengan miras oplosan. Minuman beralkohol yang sering dijumpai di Indonesia adalah minuman keras tradisional, seperti tuak, arak, lapen, dan *ciu*. Minuman keras tradisional tersebut sering dicampur dengan berbagai campuran, diantaranya dioplos dengan alkohol industri (metanol) maupun dengan obat herbal seperti obat kuat atau suplemen kesehatan, sehingga tidak diketahui kadar yang ditambahkan dalam minuman tersebut (Hamidah & Yulianti, 2017).

Peraturan Keputusan Menteri Kesehatan No.151/A/SK/V/81 bahwa minuman atau obat tradisional yang tergolong dalam miras (minuman keras) yang mengandung alkohol lebih besar dari 1%. Minuman beralkohol adalah jenis minuman yang mengandung metanol dan etanol (Hamidah & Yulianti, 2017). Gerakan Nasional Anti Miras (GENAM) mencatat di Indonesia, setiap tahunnya jumlah korban meninggal dunia akibat miras mencapai 18.000 orang. Polda Jawa Tengah dan DIY mencatat kasus minuman keras tradisional periode tahun 2011 sampai saat ini telah mencapai 35 kasus penyalahgunaan minuman beralkohol yang berakibat sampai meninggal dunia yang telah diperiksa oleh tim forensik, salah satunya terjadi di Brebes korban meninggal dunia akibat minuman *ciu*/brangkal, setelah diperiksa dalam *ciu*/brangkal, urin, darah, dan lambung positif mengandung etanol dan metanol. Kasus pencampuran minuman keras beralkohol dengan bahan berbahaya yang seharusnya tidak dicampurkan oleh para konsumen minuman beralkohol masih banyak terjadi (Julia, 2016).

Metanol adalah alkohol industri yang biasanya tersedia dalam konsentrasi tinggi untuk keperluan industri. Metanol banyak digunakan dalam cat, pelarut dalam industri, pembuatan formaldehid, asam anorganik, dan biasa digunakan sebagai bahan tambahan dari etanol dalam proses denaturasi sehingga etanol menjadi toksik. Toksisitas metanol relatif lebih tinggi, bila dibandingkan dengan etanol. Efek yang ditimbulkan dari penambahan metanol dalam minuman beralkohol antara lain dapat menyebabkan perasaan senang (euforia) dan memabukkan. Efek toksik muncul akibat hasil metabolisme metanol di hati yaitu asam format yang bersifat toksik. Dosis letal metanol adalah sekitar 5628 mg/kg berat badan tikus (Smith, 2013).

Metanol jauh lebih berbahaya daripada etanol dan sangat berisiko terhadap kesehatan, tetapi justru banyak dikonsumsi sebagai bahan tambahan oleh para pecandu minuman keras tradisional. Minuman keras tradisional mengandung metanol lebih tinggi yakni sebesar 40-60% dibandingkan dengan kandungan etanol murni yang hanya sekitar 0,2%. Metanol mudah terabsorpsi di dalam tubuh dan dengan cepat akan terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Keracunan metanol dapat menimbulkan gangguan kesadaran (*inebriation*). Metanol sendiri sebenarnya tidak berbahaya, yang berbahaya adalah produk metabolitnya dan dapat menyebabkan asidosis metabolik. Produk metabolit metanol dapat menyebabkan kebutaan dan kematian setelah periode laten 6-30 jam. Metanol dimetabolisme di dalam hati oleh enzim alkohol dehidrogenase membentuk formaldehid, lalu oleh enzim formaldehid dehidrogenase dimetabolisme membentuk asam format. Kedua metabolit tersebut merupakan senyawa beracun bagi tubuh, namun asam format yang lebih beracun karena proses metabolismenya yang lebih lambat sehingga terjadi akumulasi asam format (Mumpuni, 2016).

Hamidah & Yulianti (2017), mengatakan puncak konsumsi alkohol terjadi pada kelompok dewasa berumur 21-60 tahun. Pemeriksaan toksikologi dilakukan pada sampel darah pasien yang sudah meninggal akibat minuman beralkohol terdapat kadar metanol yang tinggi yaitu lebih dari 1500 ppm dan tidak dilaporkan kadar metanol dalam urin. Spesimen yang paling sering digunakan dalam

penentuan metanol dan etanol adalah darah, sesekali urin dan terkadang air liur. Analisis kuantitatif penentuan metanol dalam cairan tubuh seperti darah atau urin sangat penting untuk mengkonfirmasi keracunan ataupun kematian akibat metanol. Kuantifikasi metanol dalam cairan tubuh dapat juga menjadi biomarker yang disengaja atau tidak disengaja seperti minuman yang dioploskan (Sudhaker & Jain, 2016).

Pada dunia forensik preparasi yang cepat, tepat dan akurat sangat diperlukan untuk mendapatkan data yang akurat dari penyelidikan, karena dalam melakukan penelitian terdapat syarat yang harus diperhatikan pada barang bukti yaitu (1) Sedikit; (2) Banyak impuritis; (3) Tidak bisa diulang. Pasal 184 ayat (1) Kitab Undang-Undang Hukum Acara Pidana ("KUHAP") disebutkan bahwa alat bukti yang sah adalah: keterangan saksi, keterangan ahli, surat, petunjuk dan keterangan terdakwa.

Penentuan metanol di dalam tubuh, seperti darah dapat dianalisis menggunakan *Gas Chromatography*. Sampel darah terlebih dahulu dipreparasi untuk menghilangkan pengotor. Pada penelitian ini sampel darah akan dipreparasi untuk menentukan kadar metanol dalam darah menggunakan *Gas Chromatography*. Tujuannya adalah untuk mengetahui preparasi yang paling tepat, cepat, dan akurat, untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan berbagai jenis metode preparasi sampel sebelum dianalisis menggunakan *Gas Chromatography* dimana metode yang akan dilakukan ada tiga yaitu, ekstraksi cair-cair, ekstraksi fase padat, dan distilasi. Optimasi dilakukan untuk menemukan metode preparasi yang paling tepat untuk sampel darah.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh para peneliti adalah penentuan kadar etanol dalam material biologi seperti darah dan urin, menggunakan metode distilasi dengan pelarut aquades dan penambahan asam tartarat, dan standar internal n-propanol, dan dikonfirmasi menggunakan *Headspace Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (Shudaker & Jain, 2016). Hernanz *et al.* (2008), ekstraksi yang paling baik untuk penentuan senyawa volatil di dalam minuman alkohol adalah ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut Dietileter-n-Pentana. Kloroform baik digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi

cair-cair untuk menentukan senyawa volatil dalam minuman alkohol (Pizzaro *et al.*, 2011). Dikarenakan kloroform bersifat hampir mirip dengan diklorometana, maka kloroform dipilih sebagai pelarut dan eluen pada ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat (Puslabfor Bareskrim Polri, 2017). Penelitian yang dilakukan Lopez *et al.* (2002), dan dilakukan kembali oleh Hernanz *et al.* (2008), mengatakan ekstraksi fase padat untuk senyawa volatil dalam minuman alkohol menggunakan penjerap Lichrolut-EN sebagai pengelusi, namun Lichrolut-EN ini harganya sangat mahal. Martineli *et al.* (2013), mengatakan florisil atau oktadesil (C18) dapat digunakan sebagai penjerap dalam ekstraksi fase padat dan dapat menjerap 15 senyawa volatil yang ada di dalam minuman alkohol, salah satunya adalah golongan alkohol.

Metanol dan etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil, senyawa ini sangat cocok ditetapkan kadarnya menggunakan metode *Gas Chromatography*. *Gas Chromatography* merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran (Handayani & Lestari, 2012). Prinsip penetapan kadar dengan *Gas Chromatography* adalah sampel diinjeksikan pada instrumen menggunakan gas yang mempunyai tekanan tertentu sampel dibawa menuju kolom kapiler untuk dipisahkan berdasarkan komponen penyusun dan diteruskan menuju detektor. Detektor menghasilkan sinyal pembacaan untuk dicatat oleh rekorder sehingga menghasilkan kromatogram. Kadar senyawa diketahui dengan menghitung luas area kromatogram (Riyanto, 2013).

Tiscione *et al.* (2011), mengatakan validasi metode penentuan kuantitatif etanol dalam darah dan urin menggunakan HS-GC-FID dengan dikonfirmasi menggunakan GC-MS mudah digunakan dan menghasilkan hasil yang bagus pada sensitifitas, *repeatability*, dan linearitas. Monteiro *et al.* (2014), mengatakan bahwa analisis kualitatif dan kuantitatif pada grup senyawa organik bersifat volatil menggunakan HS-GC/FID dalam sampel biologi menghasilkan respon yang bagus terlebih lagi dengan penggunaan standar internal n-Propanol. Metode ini juga sangat sensitif pada sampel dengan volume kecil, yang mana ini adalah sebuah keuntungan dalam dunia toksikologi forensik, yang biasanya mendapatkan

barang bukti yang sangat sedikit. Schlatter *et al.* (2013), mengatakan penentuan senyawa volatil dalam darah setelah keracunan metanol atau etanol menggunakan teknik GC-MS lebih lengkap, tetapi membutuhkan tenaga ahli dan peralatan yang mahal. *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) digunakan untuk menentukan senyawa volatil seperti etanol, metanol, dan aseton menghasilkan hasil yang sensitif, cepat, dan dapat diandalkan. Metode ini sangat cocok digunakan secara rutin dalam klinik dan dunia forensik.

1.2 Rumusan Masalah

Menurut latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalahnya sebagai berikut: Bagaimana pengaruh metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat pada penentuan kadar metanol dalam darah yang diuji menggunakan *Gas Chromatography*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui : Pengaruh metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat terhadap kadar metanol dalam darah yang diuji menggunakan *Gas Chromatography*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada laboratorium forensik berupa validasi instruksi kerja nomer IK.6.1.3; IK.6.1.4; IK.6.1.5 dan memudahkan penyelidikan mengenai pengaruh perlakuan preparasi dalam menentukan kadar metanol pada darah secara kuantitatif menggunakan *Gas Chromatography*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Beralkohol

Masyarakat umum sering menyebutkan alkohol sebagai etanol. Hal ini disebabkan karena memang etanol yang digunakan sebagai bahan dasar pada minuman tersebut, bukan metanol, atau grup alkohol lainnya. Etanol adalah alkohol primer yang berwujud cairan jernih, tak berwarna, mudah menguap dan mudah terbakar, dapat dikelirukan dengan air, metanol, eter, kloroform dan aseton. Etanol ini dibentuk dari peragian karbohidrat yang dikandung dari *malt* dan beberapa buah-buahan seperti *hop*, anggur dan sebagainya oleh mikroba atau melalui sintesis dari etilen (Dorland, 2006).

Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 71/m-ind/per/7/2012 tentang pengendalian dan pengawasan industri minuman beralkohol, minuman beralkohol dibedakan menjadi 3 (tiga) golongan. Minuman beralkohol golongan A adalah minuman beralkohol dengan kadar etanol 1% sampai 5%, misalnya bir. Minuman beralkohol golongan B adalah minuman beralkohol dengan kadar etanol 5% sampai 20%, misalnya anggur. Minuman beralkohol golongan C adalah minuman beralkohol dengan kadar etanol 20% sampai 55%, misalnya wiski dan brendi (Hidayat, 2012).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan No.151/A/SK/V/81 tentang minuman alkohol bahwa minuman atau obat tradisional yang tergolong dalam minuman keras mengandung alkohol >1%. Kandungan alkohol minuman berkisar dari 4-6% (volume/volume) untuk bir, 10-15% untuk minuman anggur, dan 40% dan lebih tinggi untuk spiritus hasil distilasi. *Proof* (kekuatan alkohol) minuman mengandung alkohol adalah dua kali persen alkoholnya (sebagai contoh: alkohol 40% adalah 80 *proof*) (Fleming *et al.*, 2007).

Minuman beralkohol tradisional lebih berbahaya dibandingkan dengan minuman beralkohol biasa karena minuman beralkohol tradisional merupakan

minuman beralkohol berkadar tinggi yang diracik sendiri dengan cara mencampurkan bahan lain-lain ke dalamnya. Bahan-bahan yang biasanya dicampurkan adalah susu, madu, minuman bersoda, dan minuman energi. Bahan-bahan tersebut dicampurkan untuk mendapatkan efek alkohol yang lebih meningkat. Efek minuman alkohol dapat ditentukan dari jumlah kadar alkohol yang terdapat dalam darah (*Blood Alcohol Contain/BAC*) sebagai gambaran, satu gelas anggur yang memiliki kadar alkohol 11-18% akan meningkatkan kadar BAC sebanyak 15-20 mg/100 ml darah, setelah beberapa kali minum maka kadar alkohol dalam darah juga akan meningkat dan akan terjadi penekanan pusat-pusat saraf seperti saraf pernafasan dan jantung, otak akan kekurangan oksigen sehingga dapat menyebabkan kematian (Lestari, 2015).

2.2 Metanol

Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Pada keadaan atmosfer, berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas. Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, dan bahan bakar. Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri (Hikmah, 2010).

Metanol juga dikenal sebagai alkohol kayu dan pada umumnya digunakan sebagai pelarut. Metanol dapat menyebabkan asidosis metabolik karena toksisitasnya, gejala neurologis dan bahkan kematian apabila tertelan. Metanol konstituen dari banyak industri pelarut tersedia secara komersial dan minuman keras yang tercemar buruk. Toksisitas metanol masih menjadi masalah umum di banyak bagian dunia berkembang, terutama di kalangan anggota kelas sosial ekonomi rendah (Hikmah, 2010).

2.2.1 Sifat-sifat Metanol

Metanol memiliki rumus molekul CH_3OH , metanol berbentuk cairan bening tak berwarna, bersifat non ionik, memiliki bau khas, larut dalam air dan pelarut organik, metanol juga mudah larut dalam air dingin dan air panas.

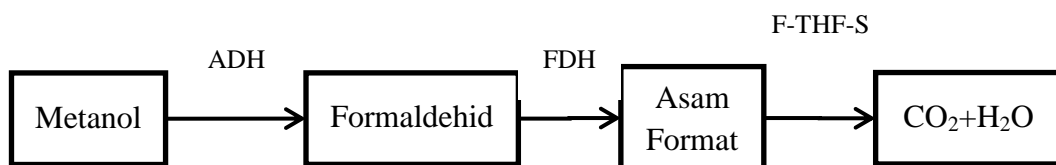
Tabel 2. 1 Sifat fisika dan kimia metanol

Sifat Fisika dan Kimia Metanol	Keterangan
Massa molar	32,04 g/mol
Wujud	Cairan tidak berwarna
<i>Specific gravity</i>	0,7915 g/mL
Titik leleh	-97,8 °C, -144 °F
Titik didih	64,5 °C, 148,1 °F
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Tekanan uap	12,3 kPa (@20 °C)

(Smith, 2013)

2.2.2 Metabolisme Metanol

Metanol relatif memiliki toksisitas yang rendah. Efek toksik muncul akibat hasil metabolisme metanol di hati yaitu asam format yang bersifat toksik. Metanol diubah menjadi formaldehid di hati oleh enzim alkohol dehidrogenase. Formaldehid dioksidasi oleh enzim formaldehid dehidrogenase menjadi asam format. Metabolisme asam format tergantung pada kadar tetrahidrofolat yang akan membentuk *10-formyl tetrahydrofolate* yang dapat mengubah asam format menjadi karbon dioksida (CO₂) dan air (H₂O). Waktu paruh asam format sekitar 20 jam pada manusia (Shindyapina *et al.*, 2014).



Gambar 2. 1 Metabolisme metanol (Shindyapina *et al.*, 2014) ADH : *alcohol dehydrogenase*; FDH : *formaldehyde dehydrogenase*; F-THF-S: *10-formyl tetrahydrofolate synthetase*.

Formaldehid bersifat toksik namun akibat proses metabolismenya yang cepat menjadi asam format sekitar 1-2 menit, kadarnya hampir tidak pernah terdeteksi pada tubuh setelah keracunan metanol. Asam format dimetabolisme lebih lambat sehingga terjadi akumulasi asam format dalam tubuh pada keracunan metanol. Asidosis metabolik terjadi akibat efek asam format terakumulasi yang menghambat aktifitas *Cytochrome oxidase* pada mitokondria sehingga mengganggu proses metabolisme oksidasi intrasel dan memicu metabolisme anaerobic (Kraut *et al.*, 2008).

2.3 Darah

Manusia memiliki sistem peredaran darah tertutup yang berarti darah mengalir dalam pembuluh darah dan disirkulasikan oleh jantung. Darah dipompa oleh jantung menuju paru-paru untuk melepaskan sisa metabolisme berupa karbon dioksida dan menyerap oksigen melalui pembuluh arteri pulmonalis, lalu dibawa kembali ke jantung melalui vena pulmonalis. Darah dikirimkan ke seluruh tubuh oleh saluran pembuluh darah aorta. Darah kemudian kembali ke jantung melalui pembuluh darah vena cava superior dan vena cava inferior. Darah juga mengangkut bahan-bahan sisa metabolisme, obat-obatan dan bahan kimia asing ke hati untuk diuraikan dan ke ginjal untuk dibuang sebagai air seni.

Darah mengandung metanol dikarenakan setelah metanol masuk ke dalam tubuh kemudian ke dalam lambung, usus 12 jari, dan setelah itu terjadi metabolisme metanol dihati. Apabila hati terjadi sirosis, maka hati akan rusak dan vena portahepatik langsung melewati hati tanpa proses metabolisme metanol dan dibawa ke jantung oleh darah, dan ke ginjal untuk dibuang bersama urin (Pearce, 2006).

Matriks biologi yang paling sering digunakan dalam menganalisis kadar obat atau senyawa lain adalah darah, serum, plasma, urine, dan saliva, dalam hal memperoleh matriks biologi (terutama darah) dari subjek dapat dilakukan dengan cara invasif melalui vena (*Venipuncture*) (Evans *et al.*, 2015). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hamidah & Yulianti (2017), mengatakan terdapat 70% sampel meninggal dengan kadar metanol darah lebih dari 300 ppm. Terdapat 1 sampel (10%) dengan kadar metanol yang belum dikategorikan dalam dosis toksik minimum karena kurang dari 100 ppm dan 2 sampel (20%) termasuk dalam dosis toksik. 30% sampel mempunyai kadar metanol darah yang sangat ekstrim yaitu lebih dari 1500 ppm.

2.4 Standar Internal

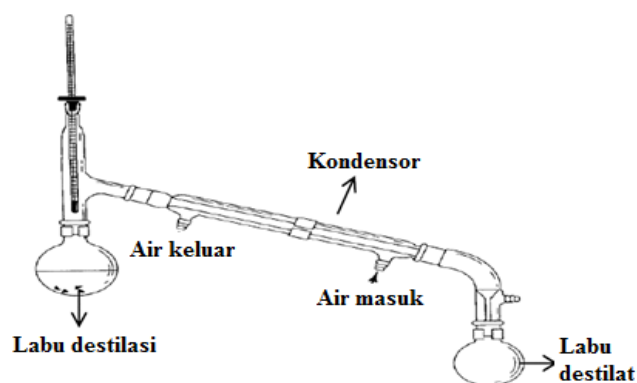
Analisis kuantitatif secara *gas chromatography* menggunakan metode standar internal. Metode standar internal digunakan karena terdapat ketidakpastian

yang disebabkan injeksi sampel dan kecepatan aliran. Metode ini seringkali digunakan untuk sampel yang tidak sesuai atau tidak mungkin diinjeksi langsung pada *Gas Chromatography*. Standar internal yang telah diukur dengan seksama dimasukkan ke dalam setiap sampel. Puncak standar internal dan puncak lainnya harus terpisah dengan baik sebagai syarat keberhasilan metode ini (Hidayat, 2015). n-Propanol dipilih sebagai standar internal dalam penentuan kadar etanol dalam darah dan urin. Hal ini karena sifatnya yang hampir mirip dengan analit tetapi tidak bereaksi dengan analit serta memiliki puncak yang dekat dengan analit namun dapat dipisahkan (Shudaker & Jain, 2016).

2.5 Distilasi

Distilasi adalah salah satu teknik yang sering digunakan untuk memisahkan cairan dalam campuran biner. Prinsip distilasi sederhana adalah pemisahan dua zat atau lebih yang mempunyai perbedaan titik didih. Zat yang memiliki titik didih rendah akan cepat terdistilasi daripada zat yang bertitik didih tinggi. Alkohol yakni etanol dan metanol yang masing-masingnya dicampur dengan air, akan terdistilasi dahulu (Simanjuntak, 2009).

Pada pemisahan metanol dalam darah, metanol akan menguap pada suhu titik didih metanol yaitu $64,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sudhaker & Jain (2016), metode dengan cara distilasi untuk menentukan jumlah etanol dalam darah dan urin dalam sampel ini sangat sensitif, mudah, dan juga sampel yang digunakan untuk distilasi cukup sedikit yaitu 1 mL.



Gambar 2. 2 Proses distilasi sederhana (Irawan, 2010).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan kandungan kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Proses pemisahan terjadi berdasarkan perbedaan kelarutan dari komponen-komponen dalam campuran. Pada skala laboratorium ekstraksi dapat dilakukan secara *batch* dengan menggunakan corong pisah untuk ekstraksi cair-cair (Handayani & Lestari, 2012).

Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah jenis pelarut. Jenis pelarut yang digunakan akan menentukan selektivitas dan daya melarutkan (*solvent power*). Pelarut untuk ekstraksi harus mempunyai sifat-sifat sebagai berikut:

- 1) mempunyai daya larut besar terhadap larutan yang akan diekstraksi;
- 2) tidak bersifat racun;
- 3) tidak bersifat korosif;
- 4) tidak mudah membeku pada suhu rendah;
- 5) harganya murah dan mudah diperoleh; dan
- 6) tidak mudah rusak dalam penyimpanan atau pekerjaannya.

2.6.1 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair adalah perpisahan satu komponen bahan atau lebih dari suatu campuran dipisahkan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi cair-cair selalu terdiri atas sedikitnya dua tahap, yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fasa cair itu sesempurna mungkin (Rahayu, 2009).

Ada tiga faktor penting yang berpengaruh dalam peningkatan karakteristik hasil dalam ekstraksi cair-cair:

- 1) perbandingan pelarut-umpan

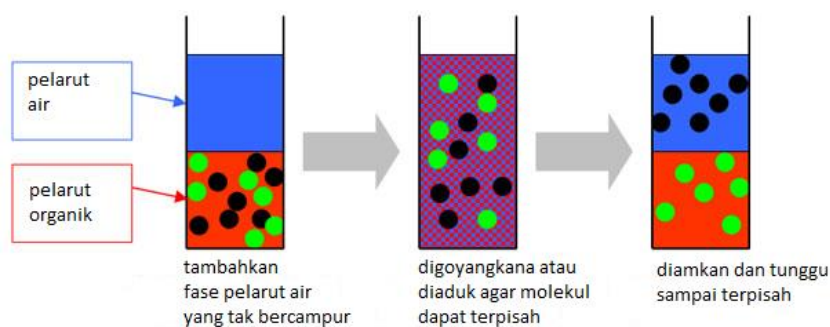
Perbandingan antara jumlah pelarut dan analit yang digunakan akan meningkatkan hasil ekstraksi.

- 2) waktu ekstraksi

Ekstraksi yang efisien adalah maksimumnya pengambilan solut dengan waktu ekstraksi yang lebih cepat.

3) kecepatan pengadukan

Kecepatan pengadukan yang efisien maka pengadukan yang baik adalah yang memberikan hasil ekstraksi maksimum dengan kecepatan pengadukan minimum, sehingga konsumsi energi menjadi minimum (Chambers *et al.*, 2013).



Gambar 2. 3 Proses ekstraksi cair-cair (Chambers *et al.*, 2013).

Hasil penelitian Hernanz *et al.* (2008), metode ekstraksi cair-cair adalah metode yang bagus digunakan dalam ekstraksi sejumlah besar senyawa volatil seperti pada golongan alkohol. Penelitian yang dilakukan Pizarro *et al.* (2011), pada ekstraksi cair-cair untuk senyawa volatil, pelarut ekstraksi yang digunakan massa jenisnya harus lebih besar daripada air seperti, Kloroform, Karbontetraklorida, Tetrakloroetilena, Diklorometana, dan Karbon disulfida.

2.6.2 Ekstraksi fase padat

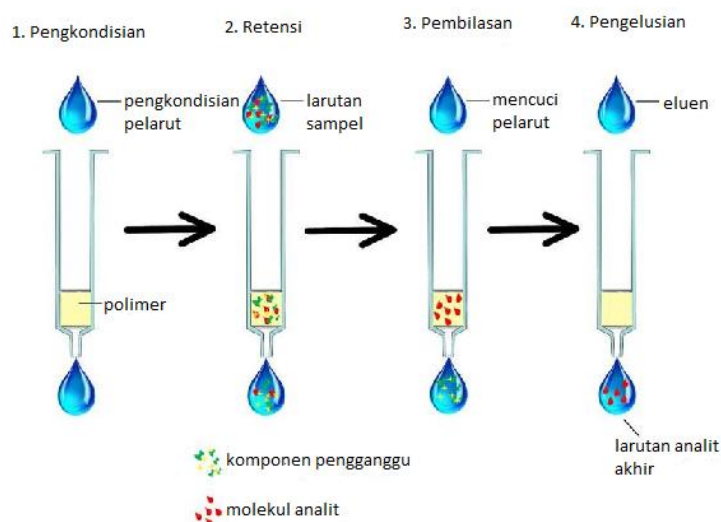
Ekstraksi fase padat (*Solid Phase Extraction*) dapat digunakan untuk pemisahan, purifikasi sampel dalam bidang industri farmasi, maupun analisis toksikologi seperti darah, serum, cairan dan makanan (Rahmatia, 2016). Proses ekstraksi ini dilakukan dengan melewati larutan sampel melalui suatu lapisan partikel penjerap, analit yang diinginkan akan berpindah dari larutan sampel dan terkonsentrasi pada lapisan penjerap. Analit kemudian dipindahkan dari penjerap dengan penambahan pelarut pengelusi. Ekstraksi fase padat mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan ekstraksi fase cair-cair yaitu hemat pelarut, waktu pengerjaan relatif singkat, hasil ekstraksi tidak membentuk emulsi serta cukup selektif. Pemilihan penjerap didasarkan pada kemampuan berikatan dengan analit, ikatan antara analit dengan penjerap harus lebih kuat dibandingkan ikatan antara

analit dengan matriks sampel, sehingga analit akan tertahan pada penjerap (Botsoglou, 2001).

Ekstraksi fase padat memiliki empat tahap utama, yaitu tahap pertama pengkondisian (*conditioning*), merupakan tahapan yang dilakukan dengan penambahan pelarut yang mampu mengaktifkan penjerap serta mampu membasahi permukaan penjerap sehingga analit yang terdapat dalam larutan sampel dapat berinteraksi dengan penjerap. Tahap kedua yaitu retensi (*retention/loading*) merupakan proses pemasukan larutan sampel, dimana pada proses ini analit yang diinginkan akan tertahan pada penjerap sementara komponen lain dari matriks yang tidak diinginkan akan keluar dari *cartridge*. Tahap ketiga dilanjutkan dengan pembilasan (*washing*) yang dilakukan dengan penambahan larutan yang mampu menghilangkan sisa matriks yang tertinggal tetapi tidak mempengaruhi interaksi analit dengan penjerap. Tahap terakhir yaitu pengelusian (*elutioning*) yang dilakukan dengan penambahan larutan yang mampu memutuskan ikatan analit dengan penjerap (Botsoglou, 2001).

Hernanz *et al.* (2008), mengatakan ekstraksi fase padat memiliki keunggulan yaitu waktu ekstraksi yang lebih rendah dan penggunaan pelarut yang sedikit. Penelitian Martineli *et al.* (2013), ekstraksi fase padat menggunakan lorisil dapat untuk mengamati senyawa organik bersifat volatil, menunjukkan hasil yang lebih banyak daripada metode ekstraksi cair-cair menggunakan diklorometana.

Ekstraksi fase padat juga memiliki proses pemisahan yang efisien, untuk memperoleh *recovery* yang tinggi (>99%). Ekstraksi fase padat lebih mudah dilakukan daripada ekstraksi cair-cair, karena ekstraksi cair-cair diperlukan beberapa kali ekstraksi agar diperoleh *recovery* yang tinggi. Ekstraksi fase padat memiliki kerugian, yaitu banyaknya jenis *cartridge* (berisi penjerap tertentu) yang beredar di pasaran sehingga reproduibilitas hasil bervariasi jika digunakan *cartridge* yang berbeda, selain itu dapat terjadi adsorpsi yang bolak-balik pada *cartridge* ekstraksi fase padat (Handayani & Lestari, 2012).



Gambar 2.4 Proses ekstraksi fase padat (Rahmatia, 2016).

2.7 Gas Chromatography

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan distribusi komponen – komponen dalam fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak dapat berupa cairan atau gas, sedangkan fasa diam dapat berupa padatan atau cairan. Jika fasa geraknya berupa cairan, maka disebut kromatografi cair (*Liquid Chromatography*) dan jika fasa gerak berupa gas, maka disebut kromatografi gas (*Gas Chromatography*) (McNair & Miller, 2009).

Kegunaan umum dari *Gas Chromatography* adalah untuk pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Bagian-bagian dasar yang ada di *Gas Chromatography*:

1) Gas Pembawa

Gas pembawa atau dengan kata lain fase gerak karena tujuan utamanya yaitu membawa sampel (*solute*) menuju kolom dan tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa yaitu murni dan tidak reaktif, gas pembawa keadaan murni agar tidak berpengaruh pada detektor dan disimpan dalam tangki bertekanan tinggi.

2) Sistem injeksi sampel

Komponen utama selanjutnya adalah ruang suntik atau inlet. Fungsinya adalah untuk menghantarkan sampel ke aliran gas pembawa menuju kolom. Pada *Gas Chromatography* biasanya yang digunakan yaitu sampel berupa cairan, dan di injeksikan ke dalam kotak panas yang berfungsi untuk mengubah sampel cair menjadi fase gas (*flash vaporization*) tanpa terfraksinasi dan terdekomposisi. Sampel yang diperlukan biasanya sangat kecil, oleh karena itu akan digunakan teknik pemecah suntikan (*split injection*) sehingga aliran gas akan dibagi 2 setelah sampel diinjeksikan, satu aliran akan dimasukkan ke dalam kolom, dan aliran lainnya akan dibuang.

3) Kolom

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam, sehingga termasuk komponen yang sentral. Kolom yang berfungsi sebagai pemisah mengandung fase diam yang berupa adsorben *Gas Chromatography* padat atau cair. Kolom tersebut terbuat dari logam, gelas, atau silika (Handayani & Lestari, 2012). Kolom HP-Innowax yang memiliki polaritas tinggi dan batas suhu atas yang tinggi, dan ditargetkan untuk aplikasi makanan, pelarut, alkohol, dan minyak wangi

4) Fase Diam

Fase diam yang dipilih berdasarkan polaritas dari sampel yang akan diujikan dengan prinsip "*like dissolve like*". Fase diam yang digunakan adalah polietilen glikol pada kolom HP-Innowax.

5) Detektor

Detektor merupakan perangkat yang berada diujung kolom tempat keluarnya fase gerak yang membawa sampel yang telah dipisahkan menjadi komponennya. Detektor harus mempunyai karakteristik sebagai berikut :

- a) sensitivitas yang tinggi;
- b) stabil;
- c) waktu respon terhadap senyawa yang cepat;
- d) respon yang baik pada semua komponen organik; dan
- e) kemudahan penggunaan.

Flame-ionization detector (FID) adalah detektor yang paling populer dikarenakan memiliki sensitivitas yang tinggi 0,02 coulomb per gram dari hidrokarbon. Detektor ini tidak sensitif terhadap kebanyakan bahan anorganik termasuk air, sehingga pelarut dapat diinjeksikan dan tidak mengganggu hasil kromatogram. Pada pemakaian FID ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, pertama, kecepatan alir O₂ (udara) dan H₂, untuk memperoleh tanggapan FID yang optimal sebaiknya kecepatan aliran H₂ ± 30mL/menit dan O₂ sepuluh kalinya. Kedua adalah suhu FID harus di atas 100 °C. Hal ini bertujuan untuk mencegah kondensasi uap air yang mengakibatkan FID berkarat atau kehilangan (menurun) sensitivitasnya. Detektor ini jauh lebih peka daripada detektor daya hantar panas. Kepekaan *Flame-ionization detector* akan lebih meningkat kalau N₂ digunakan sebagai gas pembawa. Pontes *et al.* (2009), mengatakan FID merupakan metode yang sangat sensitif, cepat, dan dapat diandalkan untuk menentukan sejumlah besar senyawa volatil di berbagai sampel biologis.

6) Pengaturan Suhu Kolom

Gas Chromatography didasarkan pada dua sifat senyawa yang dipisahkan yakni kelarutan senyawa dan titik didih senyawa, karena titik didih senyawa berhubungan dengan suhu maka suhu merupakan faktor utama dalam kromatografi gas. Suhu kolom dapat berkisar antara -100 °C – 400 °C.

Ada dua jenis pemisahan suhu dalam *Gas Chromatography* yaitu:

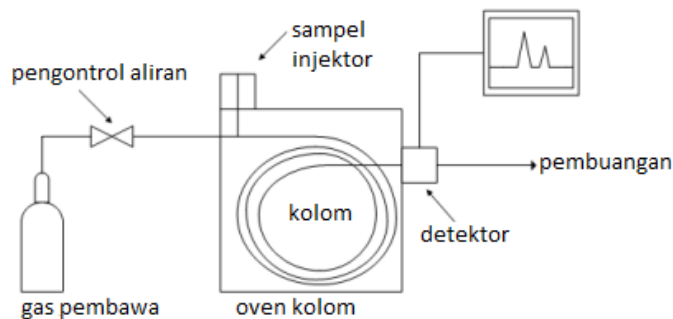
a) Pemisahan Isotermal

Pemisahan dengan suhu ini dilakukan untuk analisis rutin dan suhu yang digunakan yaitu beberapa derajat di bawah titik didih komponen campuran utama. Pemisahan jenis ini perlu diperhatikan, dikarenakan jika suhu terlalu tinggi maka komponen akan terelusi tanpa terpisah, tetapi jika suhu terlalu rendah maka sampel akan terlalu lama dikolom sehingga semakin lebar puncaknya.

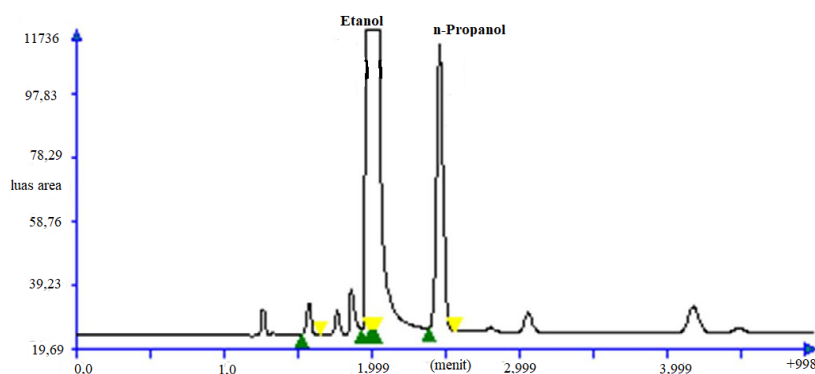
b) Pemisahan Suhu Terprogram

Pemisahan ini dilakukan dengan suhu terendah dari titik didih campuran, lalu diatur penambahan suhunya secara berkala dengan kecepatan

kira-kira 3-5 °C/menit sehingga didapatkan pemisahan yang optimum (Handayani & Lestari, 2012).



Gambar 2. 5 Proses *gas chromatography* (Handayani & Lestari, 2012).



Gambar 2. 6 Kromatogram HS-GC-FID etanol dengan menggunakan SI n-Propanol dalam sampel darah (Shudaker & Jain, 2016).

Pada gambar di atas merupakan hasil kromatogram HS-GC-FID etanol menggunakan standar internal n-Propanol dalam sampel darah. Menunjukkan hasil pemisahan kromatogram yang bagus, menghasilkan kromatogram etanol yang muncul pada waktu retensi 1,992 menit dan standar internal n-Propanol pada waktu retensi 2,452 menit. (Shudaker & Jain, 2016).

Suaniti *et al.* (2012), mengatakan kondisi analisis *gas chromatography* yang digunakan yaitu suhu injektor 250 °C, suhu detektor 300 °C dengan split rasio 1:20, suhu awal kolom 50 °C ditahan dua menit pada suhu tersebut, ditingkatkan secara bertahap sebesar 10 °C/menit sampai suhu mencapai 220 °C dan ditahan selama lima menit. Laju alir dari kolom yang terpilih adalah 0,7 mL/menit, laju alir gas helium 40 mL/menit, laju alir nitrogen 50 mL/menit dan laju udara sebagai pengoksida 450 mL/menit.

2.8 Uji Validitas Metode

Validasi metode menurut United States Pharmacopeia dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Adapun beberapa uji analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis yaitu:

2.8.1 Uji Linearitas

Linearitas merupakan suatu metode uji untuk mengetahui adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respon detektor. Linearitas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan respon detektor (y) dengan konsentrasi (x) (Riyanto, 2014). Linearitas menyatakan terdapat hubungan korelasi atau tidak, digunakan koefisien korelasi (r), dengan analisis regresi $y=bx+a$ adalah nilai $r \geq 0,99$ (Miller & Miller, 2005).

2.8.2 Uji *Limit of Detection* (LOD)

Limit of Detection adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. *Limit of detection* merupakan parameter uji batas (Hidayati, 2013). Harmita (2004) menyatakan bahwa untuk penentuan *limit of detection* dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) dengan rumus:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (1)$$

$$LoD = \frac{3SD}{b} \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

x : Nilai data pengukuran

\bar{x} : Rata-rata pengukuran

n : Jumlah ulangan

b : Slope

SD : *Standar Deviation*

LoD : *Limit of Detection*

2.8.3 Uji *Limit of Quantitation* (LOQ)

Limit of Quantitation (LoQ) adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi (Hidayat, 2013). Parameter ini digunakan untuk pengujian kuantitatif analit dengan jumlah kecil yang terkandung dalam sampel.

Harmita (2004) menyatakan bahwa untuk penentuan *limit of quantitation* dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) dengan rumus:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (3)$$

$$LoQ = \frac{10SD}{b} \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan:

x : Nilai data pengukuran

\bar{x} : Rata-rata pengukuran

n : Jumlah ulangan

b : Slope

SD : *Standar Deviation*

LoQ : *Limit of Quantitation*

2.8.4 Uji Akurasi

Akurasi adalah kedekatan hasil uji yang diperoleh dari prosedur nilai yang sebenarnya. Metode akurasi didasarkan pada penentuan persen perolehan kembali dengan menambahkan sejumlah kadar analit yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam matriks sampel yang akan dianalisis. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai presentase *recovery* dari suatu standar antara 90-110%, namun jika komponen yang dianalisis merupakan *trace analysis* maka presentase *recovery* yang disyaratkan adalah 100% \pm 20 (Riyanto, 2014).

Perhitungan perolehan kembali dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% Recovery = \frac{\text{konsentrasi terukur}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots (5)$$

Tabel 2.2 Kriteria penerimaan akurasi dari konsentrasi analit yang berbeda

Konsentrasi terukur analit	Rata-rata <i>recovery</i> (%)
$10 < x \leq 100$ (%)	98-102
$1 < x \leq 10$ (%)	97-103
$0,1 < x \leq 1$ (%)	95-105
$0,001 < x \leq 0,1$ (%)	90-107
$100 \text{ ppb} < x \leq 1 \text{ ppm}$	80-110
$10 \text{ ppb} < x \leq 100 \text{ ppb}$	60-115
$1 \text{ ppb} < x \leq 10 \text{ ppb}$	40-120

(Harmita, 2004).

2.8.5 Uji Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan kedekatan antara nilai hasil pengukuran dari sampel yang homogen pada kondisi normal (sampel yang sama diuji secara berurutan dengan menggunakan alat yang sama). Presisi dapat dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu, keterulangan (*repeatability*), yaitu keseksamaan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya. Presisi antara (*intermediate precision*), yaitu keseksamaan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya. Ketertiruan (*reproducibility*) merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain. Suatu nilai ketelitian dinyatakan dalam *Relative Standar Deviation* (% RSD). Besarnya RSD menyatakan tingkat ketelitian analisis, semakin kecil RSD yang dihasilkan maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya. Presisi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

a. Simpangan baku

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (6)$$

Keterangan:

x : Nilai data pengukuran

\bar{x} : Rata-rata pengukuran

n : Jumlah ulangan

SD : *Standar Deviation*

b. Persen relatif standar deviasi

Persen relatif standar deviasi (%RSD) dapat dihitung dengan rumus:

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \dots\dots\dots(7)$$

Keterangan:

SD : *Standar Deviation*

\bar{x} : Rata-rata pengukuran

Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai $RSD \leq 2\%$. Kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang dianalisis, jumlah sampel dan kondisi laboratorium. Nilai RSD atau koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis (Harmita, 2004). Apabila nilai RSD lebih dari 2% maka perlu dibandingkan dengan nilai RSD CV Horwitz. Horwitz yaitu suatu kurva berbentuk terompet yang menghubungkan *reproducibilitas* (presisi yang dinyatakan sebagai %RSD) dengan konsentrasi analit (Riyanto, 2014). Presisi metode analisis diekspresikan sebagai fungsi dari konsentrasi melalui persamaan:

$$CV \text{ Horwitz} = \frac{2}{3} (2^{(1-0,5 \log c)}) \dots\dots\dots(8)$$

Keterangan:

c : Fraksi konsentrasi

Tabel 2. 3 Tingkat presisi berdasarkan konsentrasi analit

Jumlah komponen terukur dalam sampel (x)	Tingkat presisi (y)
$x \geq 10,00 \%$	$y \leq 2 \%$
$1,00 \% \leq x \leq 10,00 \%$	$y \leq 2 \%$
$0,10 \% \leq x \leq 1,00 \%$	$y \leq 10 \%$
$x \leq 0,10 \%$	$y \leq 20 \%$

(Riyanto, 2014)

RSD menunjukkan ketelitian dari metode uji :

$RSD \leq 1\%$ (sangat teliti)

$1\% < RSD \leq 2\%$ (teliti)

$2\% < RSD \leq 5\%$ (ketelitian sedang)

$RSD > 5\%$ (tidak teliti) (Riyanto, 2014).

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan. Maka diperoleh simpulan sebagai berikut:

Penentuan kadar metanol dalam darah yang diuji menggunakan *gas chromatography* memberikan hasil yang paling optimum pada metode distilasi. Berdasarkan nilai dari %RSD dan %*recovery*, metode distilasi menghasilkan %RSD sebesar 2,16% dan %*recovery* sebesar 98,37%

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam penentuan LoD dan LoQ pada setiap metode, agar diketahui besarnya LoD dan LoQ untuk setiap metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan pelarut yang paling optimal untuk metode cair-cair.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada metode ekstraksi fase padat dalam penggunaan adsorben lain untuk menghasilkan *recovery* yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, A. 2018. Validasi Metode Penetapan Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Beralkohol dengan Kromatografi Gas di Badan Reserse Kriminal POLRI Pusat Laboratorium Forensik. *Skripsi*. Yogyakarta: FMIPA Universitas Islam Indonesia.
- Aradea, A. 2014. *Your reliable partner for accredited lab*. Semarang: PT Merck Tbk.
- Botsoglou, N.A. & D.J. Fletouris. 2001. *Drug Residues in Foods Pharmacology, Food Safety, and Analysis*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Chambers A.G., J.P. Andrew, Y. Juncong, G.C. Alexander, & H.B. Christoph. 2013. Multiplexed Quantitation of Endogenous Proteins in Dried Blood Spots by Multiple Reaction Monitoring-Mass Spectrometry. *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 12(3): 781-791.
- Dorland, W. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Evans, C., A. Mark, B. Peter, D. Jeffrey, A.J. Christopher, L. Wenkui, & L. Steve. 2015. Sampling for Clinical Pharmacokinetic Determinations: Considerations from the IQ Consortium Microsampling Working Group. *Journal The AAPS*, 17(2): 292-300.
- Fleming, M., S.J. Mihic, & R.A. Harris. 2007. *Etanol Dasar Farmakologi Terapi*. Jakarta: Egc.
- Hadi, A., N. Rachmaniah, & A. Saladini. 2009. *Pengendalian Mutu Internal Pengujian Parameter Kualitas Lingkungan*. Jakarta: Kementerian Negara Lingkungan Hidup RI.
- Hamidah, M. & K. Yulianti. 2017. Temuan Post Mortem Akibat Keracunan Metanol. *E-Jurnal Medika*, 6(7): 1-5.
- Handayani, H.N. & N.O. Lestari. 2012. Isolasi Metamfetamina di dalam Urin dengan Menggunakan *Solid Phase Extraction* (SPE). *Tugas Akhir*. Bandung: Politeknik Negeri Bandung.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Ilmu Kefarmasian*, 1(3): 119-222.
- Hernanz, D., V. Gallo, & A.N.F. Recamales. 2008. Comparison of The Effectiveness of Solid-Phase and Ultrasound-Mediated Liquid-Liquid Extractions to Determine the Volatile Compounds of Wine. *Talanta*, 76(4): 929-935.

- Hidayati, E.N. 2013. Perhitungan Metode Destruksi pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Hidayat, M.S. 2012. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 71/M-Ind/Per/7/2012 Tentang Pengendalian dan Pengawasan Industri Minuman Beralkohol. *Menteri Perindustrian Republik Indonesia*, 1(762): 10-41.
- Hidayat, R., S.P. Pasaribu, & C. Saleh. 2015. Penggunaan Internal Standar Nitrobenzena untuk Penentuan Kuantitatif *Btex* dalam Kondensat Gas Alam dengan Kromatografi Gas. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(2): 90-96.
- Hikmah, M.N. & Zuliyana. 2010. Produksi Metil Ester (Biodiesel) dari Minyak Dedak dan Metanol dengan Proses Esterifikasi dan Transesterifikasi. *Skripsi*. Semarang: FMIPA Universitas Diponegoro.
- Irawan, B. 2010. Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstrak dan Destilasi Berbagai Komposisi Pelarut. Semarang.
- Julia, S.R. 2016. Efek Minuman Keras Oplosan Terhadap Perubahan Histopatologi Lambung Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Kraut, J.A. & I. Kurtz. 2008. Toxic alcohol ingestions: clinical features, diagnosis, and management. *Journal of the American Society of Nephrology*, 3(1): 208-250.
- Lestari, I. 2015. Pengaruh Penambahan Susu, Madu, Minuman Bersoda dan Minuman Energi terhadap Kadar Alkohol pada Minuman Keras. *Jurnal Kesehatan Prima*, 9(1): 1383-1384.
- Lopez, R., M. Aznar, J. Cacho, & V. Ferreira. 2002. Determination of Minor and Trace Volatile compounds in Wine by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1): 167-177.
- Martinesi, M., A.A.R. Alves, & T.M. Uekane. 2013. Analysis of Volatile Compounds in 'Fuyu' Persimmon: Comparison of Extraction Techniques by GC-qMS. *15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies*. Brasil: Universitas Federal Rio de Janeiro.
- McNair, H.M. & M. Miller. 2009. *Basic Gas Chromatography (2nd ed)*. United States of America: A John Wiley & Sons, Inc.
- Mergen, G., Z. Kayalt, E. Dural, V. Aliyev, S. Kaya, S. Yalcin, A. Karaku, & T. Soylemezolu. 2010. Simultaneous Headspace-GC-FID Analysis for Methanol and Ethanol in Blood, Saliva, and Urine: Validation of Method and Comparison of Specimens. *Chromatography Online*, 1: 1-5.

- Miller, J.C. & J.N. Miller. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry (5th ed)*. England: Pearson Education Limited, 111.
- Monteiro, C., J.M. Franco, & P. Proenca. 2014. Qualitative and Quantitative Analysis of a Group of Volatile Organic Compounds in Biological Samples by HS-GC/FID: Application in Practical Cases. *Forensic Science International*, 243(1): 137-143.
- Muna, E.D.M., C.H.B. Bizarri, J.R.M Maciel, G.P Rocha, & I. Araujo. 2013. Method Validation for Methanol Quantification Present in Working Places. *Journal of Physics*, 575(1): 1-3.
- Mumpuni, R.Y. 2016. Tata Laksana Keracunan Minuman Keras Oplosan (Metanol dan *Ethylene Glycol*) dengan Fomepizole, Etanol, dan Hemodialisis. *Journal of Nursing Care & Biomolecular*, 1(1): 1-8.
- Pearce, E.C. 2006. *Anatomi dan Fisiologis untuk Para Medis (2nd ed)*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Pizzaro, C., C.S Gonzalez, N. Perez, D. Notario, & J.M.G. Saiz. 2011. Development of a Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Method for the Simultaneous Determination of the Main Compounds Causing Cork Taint and Brett Character in Wines Using Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1218(1): 1576-1584.
- Pontes, H., P. Guedes, & S. Casal. 2009. GC Determination of Acetone, Acetaldehyde, Ethanol, and Methanol in Biological Matrices and Cell Culture. *Journal of Chromatographic Science*. 47(1): 272-278.
- Poole, C.F. & S.K. Poole. 2010. Extraction of Organic Compounds with Room Temperature Ionic Liquids. *Journal of Chromatography A*. 1217(1): 2269-2284.
- Puslabfor Bareskrim Polri. 2017. *Instruksi Kerja Laboratorium Forensik Cabang Semarang*. Semarang: Labforcab Semarang.
- Rahayu, S. 2009. Pengaruh Perbandingan Berat Bahan dan Waktu Ekstraksi Terhadap Minyak Biji Pepaya Terambil. *Jurnal Industri dan Informasi*, 4(5): 147-151.
- Rahmatia, T.U. 2016. Metode SPE (*Solid Phase Extraction*) sebagai Alternatif Terbaru dalam Analisis dan Pemurnian Senyawa Obat. *Jurnal Farmaka*, 14(2): 151-171.
- Riyanto, F.D. 2013. Penetapan Kadar Etanol dan Profil Senyawa yang Terdapat dalam Hasil Produksi "Ciu" Rumah Dusun Sentul Desa Bekonang Kabupaten Sukoharjo dengan Metode Kromatografi Gas. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

- Riyanto, P.D., 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi* (1st ed.). Yogyakarta: Deepublish.
- Schlatter, J., F. Chiadmi, V. Gandon, & P. Chariot. 2013. Simultaneous Determination of Methanol, Acetaldehyde, Acetone, and Ethanol in Human Blood by Gas Chromatography with Flame Ionization Detection. *Human and Experimental Toxicology*, 1(1): 1-7.
- Smith, R.D. 2013. Material Safety Data Sheet Methyl alcohol. *Science lab.com*, 21 Mei. Hlm. 1-6.
- Shindyapina, A.V., I.V. Petrunia, T.V. Komarova, E.V. Sheshukova. 2014. Dietary Methanol Regulates Human Gene Activity. *Journal Plos One*, 9(7): 1-6.
- Simanjuntak, R. 2009. Studi Pembuatan Etanol Ddari Limbah Gula (Molase). *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Suaniti, N.M., I.A.R.A. Asih, & N.P.W. Astuti. 2012. Deteksi Etanol Setelah Konsumsi Arak dalam Urin dengan Gas Chromatography. *Jurnal Kimia*, 6(2): 123-124.
- Sudhaker, S. & R. Jain. 2016. Effect of Using Propanol as Internal Standard on Quantitative Determination of Ethanol in Different Biological Matrices by Head Space-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Journal Madridge Of Analytical Sciences And Instrumentation*, 1(1): 1-3.
- Tarigan, E.Y. 2012. Optimasi dan Validasi Metode Analisis Raberprazol dalam Plasma In Vitro secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Tiscione, N.B., I. Alford, D.T. Yeatman, & X. Shan. 2011. Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 35(1): 501-511.