



**OPTIMALISASI METODE PENENTUAN KADAR
ETANOL DAN METANOL PADA MINUMAN KERAS
OPLOSAN MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS
(KG)**

SKRIPSI
diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh
Arisma Yanti
4311414013

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, 12 Oktober 2018



Arisma Yanti
4311414013

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, 2 Oktober 2018

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Nuni Widiarti, S.Pd, M.Si.
NIP. 197810282006042001

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Optimalisasi Metode Penentuan Etanol dan Metanol pada Minuman Keras
Oplosan Menggunakan Kromatografi Gas (KG)

Disusun oleh

Arisma Yanti
4311414013

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada
tanggal 12 Oktober 2018.

Semarang, 22 Oktober 2018



Ketua
Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt
NIP 19641223198803101

Sekretaris



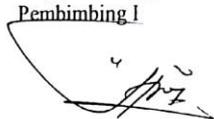
Dr. Nanik Wijayati, M.Si.
NIP. 196910231996032002

Ketua Penguji



M. Alauddin, Ph.D.
NIP. 198101082005011002

Anggota Penguji/
Pembimbing I



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

Anggota Penguji/
Pembimbing II



Nuni Widiarti, S.Pd. M.Si.
NIP. 197810282006042001

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Ia mendapat pahala (dari kebajikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya. (QS. Al-Baqarah: 286)

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan (QS. Al-Insyirah: 5-6)

Persembahan:

Untuk Ayah, Ibu, Kakak dan Adik.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimalisasi Metode Penentuan Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan Menggunakan Kromatografi Gas (KG)”. Penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt. Dekan FMIPA Unnes.
2. Dr. Nanik Wijayati, M.Si. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unnes.
3. Dr. Sri Mursiti, M.Si. Dosen Pembimbing I yang telah memberikan dukungan, arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi.
4. Nuni Widiarti, S.Pd., M.Si. Dosen Pembimbing II yang telah memberikan dukungan, arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi.
5. M.Alauhdin, Ph.D. Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk penyempurnaan skripsi.
6. KOMPOL Bowo Nurcahyo, S.Si., M.Biotech. Pembimbing lapangan yang telah memberikan saran dan arahan dalam pelaksanaan penelitian.
7. KOMBES POL Dr. Nursamran Subandi, M.Si. Kepala Laboratorium Forensik Cabang Semarang yang telah yang memberikan izin penelitian di Laboratorium Forensik.
8. AKBP Drs. Moh. Arif Budiarto, M.Si. Kepala Sub bidang Kimbiofor beserta staf subbid kimbiofor Cabang Semarang yang telah yang memberikan arahan selama penelitian di Laboratorium Forensik.
9. Seluruh pihak yang telah membantu dari pelaksanaan penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.

Kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi berbagai pihak yang membutuhkan.

Semarang, Oktober 2018

Penulis

ABSTRAK

Yanti, Arisma. 2018. Optimalisasi Metode Penentuan Kadar Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Dr. Sri Mursiti, M.Si., Nuni Widiarti, S.Pd., M.Si., Bowo Nurcahyo, S.Si., M.Biotech.

Kata Kunci: etanol, metanol, kromatografi gas, uji validitas

Telah dilakukan penelitian tentang optimalisasi metode terhadap tiga metode preparasi yaitu distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat untuk penentuan kadar etanol dan metanol dalam minuman keras oplosan dengan kromatografi gas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode preparasi yang paling tepat dan akurat dengan melakukan uji validitas. Uji validitas yang dilakukan meliputi uji linearitas, penentuan LoD dan LoQ, serta akurasi, dan presisi. Linearitas kurva standar metanol dan etanol menggunakan kromatografi gas diperoleh koefisien korelasi masing-masing sebesar 0,999 dan 0,999. Batas deteksi dan batas kuantitasi metanol lebih rendah dibandingkan dengan etanol. Uji akurasi dilakukan dengan menghitung %*recovery* dan diperoleh hasil yaitu metode distilasi metanol dan etanol masing-masing sebesar 102,79% dan 100,26%. Uji akurasi metode ekstraksi cair-cair metanol dan etanol diperoleh hasil masing-masing sebesar 61,78% dan 91,91%, sedangkan metode ekstraksi fase padat metanol dan etanol diperoleh hasil masing-masing sebesar 82,74% dan 90,22%. Uji presisi dilakukan dengan menghitung %RSD dan diperoleh hasil yaitu metode distilasi metanol dan etanol masing-masing sebesar 1,097% dan 0,726%, metode ekstraksi cair-cair metanol dan etanol masing-masing sebesar 1,964% dan 3,264%, sedangkan metode ekstraksi fase padat metanol dan etanol masing-masing sebesar 3,258% dan 1,497%. Berdasarkan hasil analisis uji validitas disimpulkan bahwa metode distilasi lebih baik daripada metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat.

ABSTRACT

Yanti, Arisma. 2018. Optimization of Ethanol and Methanol Determination Methods in Liquor. Undergraduate Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Supervisor Dr. Sri Mursiti, M.Si., Nuni Widiarti, S.Pd., M.Si., and Bowo Nurcahyo, S.Si., M.Biotech.

Keywords : ethanol, methanol, gas chromatography, validity test

Research on method optimization has been carried out against three preparation methods distillation, liquid-liquid extraction and solid phase extraction. This research aims to determine the most appropriate preparation method and accuracy of gas chromatography to determine the levels of ethanol and methanol in liquor. Validity tests include linearity, Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ), accuracy and precision tests. The linearity of the standard curve obtained by gas chromatography of methanol and ethanol, respectively 0,999 and 0,999. Methanol and ethanol detection limits were 0,0743% and 0,110%, while the limit of quantitation of methanol and ethanol were 0,2477% and 0,368%. Accuracy test was done by calculating percent recovery, which is 102,79% and 100,26% for distillation method, 61,78% and 91,91% for liquid-liquid extraction method, 82,74% and 90,22% for solid phases extraction method. The result of precision test by distillation method acquired %RSD methanol and ethanol respectively 1,097% and 0,726%. Meanwhile, %RSD by liquid-liquid extraction method were 1,964% and 3,264% and 3,258% and 1,497% by solid phase extraction method. Based on the results of the validity test analysis concluded that the distillation method is better than liquid-liquid extraction and solid phase extraction method.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN	iv
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Minuman Keras Oplosan.....	5
2.2 Etanol	7
2.3 Metanol.....	8
2.4 Macam-macam Preparasi Penentuan Kadar Etanol dan Metanol dengan Kromatografi Gas.....	9
2.5 Kromatografi Gas	13
2.6 Validasi Metode	16
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Lokasi Penelitian	22
3.2 Variabel Penelitian	22
3.3 Alat dan Bahan	23
3.4 Prosedur Penelitian.....	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Uji Linearitas, <i>Limit of Detection</i> (LoD) dan <i>Limit of Quantitation</i> (LoQ)	27
4.2 Preparasi Sampel	30

4.3 Analisis Kromatografi Gas	34
4.4 Uji Akurasi	37
4.5 Uji Presisi	40
4.6 Perbandingan Validitas Metode Preparasi	41
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Simpulan.....	44
5.2. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Analisis Uji penentuan LoD LoQ Metanol dan Etanol.....	29
Tabel 4.2 Hasil Uji akurasi Metanol dan Etanol.....	38
Tabel 4.3 Hasil Uji Presisi Metanol dan Etanol.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Metabolisme Etanol dalam Tubuh	8
Gambar 2.2 Metabolisme Metanol dalam Tubuh	9
Gambar 2.3 Rangkaian Alat Distilasi Sederhana.....	10
Gambar 2.4 Proses Ekstraksi Cair-cair	11
Gambar 2.5 Proses Ekstraksi Fase Padat	12
Gambar 2.6 Instrumen Kromatografi Gas.....	14
Gambar 2.7 Kromatogram Etanol dan n-propanol dalam Sampel Darah	16
Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Standar Metanol.....	28
Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Standar Etanol.....	28
Gambar 4.3 LoD, LoQ dan Daerah Kerja KG Metanol.....	29
Gambar 4.4 LoD, LoQ dan Daerah Kerja KG Etanol.....	30
Gambar 4.5 Hasil Kromatogram Blangko Minuman Berenergi	31
Gambar 4.6 Proses Ekstraksi Cair-Cair Sampel	33
Gambar 4.7 Proses Ekstraksi Fase Padat Sampel	34
Gambar 4.8 a). Hasil Kromatogram KG a). Distilasi b). Ekstraksi Cair-cair c). Ekstraksi Fase Padat.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja Penelitian	50
Lampiran 2 Perhitungan Pembuatan Larutan.....	58
Lampiran 3 Analisis Data Uji LoD LoQ Metanol dan Etanol	62
Lampiran 4 Analisis Data Uji Akurasi.....	63
Lampiran 5 Analisis Data Uji Presisi.....	78

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minuman beralkohol menjadi salah satu masalah di Indonesia. Permasalahannya adalah sering munculnya para produsen ilegal yang membuat minuman dengan kadar alkohol lebih dari 55%. Minuman beralkohol menurut peraturan presiden No 74 tahun 2013 didefinisikan sebagai suatu minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol (C_2H_5OH) yang diproses dari bahan pertanian mengandung karbohidrat dengan cara fermentasi (Presiden Republik Indonesia, 2013). Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 282/MENKES/SK/II/1998 menyatakan bahwa minuman beralkohol dibagi menjadi tiga golongan yaitu minuman beralkohol golongan A dengan kadar etanol 5%, golongan B dengan kadar etanol lebih dari 5% sampai dengan 20% dan golongan C dengan kadar etanol lebih dari 20% sampai dengan 55% (BPOM, 2016).

Minuman beralkohol dari tiga golongan tersebut dapat memberikan efek mabuk, selain itu dapat menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang mengkonsumsinya. Sering terjadi fenomena di kalangan penikmat minuman beralkohol yang mencampur atau mengoplos minuman beralkohol dengan berbagai bahan kimia memiliki resiko yang lebih tinggi dibandingkan dengan minuman beralkohol biasa. Bahan kimia yang digunakan untuk mencampur minuman beralkohol yaitu metanol. Metanol adalah sejenis alkohol yang digunakan sebagai pelarut dan penghapus cat. Metanol sering digunakan sebagai campuran produksi minuman anggur dan wine karena harganya murah dan mudah didapat. Adanya metanol dapat mengakibatkan terjadinya keracunan bahkan sampai menimbulkan kematian bagi peminumnya (Logan, 2014).

Gerakan Nasional Anti Miras pada tahun 2011 hingga 2016 mencatat jumlah korban meninggal dunia akibat minuman keras oplosan mencapai 18.000 orang. Berdasarkan hasil pemeriksaan Laboratorium Forensik Cabang Semarang yang mencakup wilayah Jawa Tengah dan DIY terdapat 35 kasus penyalahgunaan

minuman beralkohol khususnya pada minuman keras oplosan yang menyebabkan kematian dari Polres Brebes pada kasus tersebut terhadap barang bukti berupa : lambung, urin, dan darah ditemukan bahwa minuman keras oplosan yang diedarkan mengandung etanol 18,16% dan metanol 0,01% (Julia, 2016).

Etanol merupakan kandungan utama dalam minuman beralkohol, sedangkan metanol digunakan sebagai bahan tambahan yang dicampur dalam minuman beralkohol. Senyawa tersebut dapat ditentukan kadarnya dengan metode konvensional, yaitu metode berat jenis. Metode berat jenis merupakan perbandingan massa suatu zat terhadap massa sejumlah volume air pada temperatur tertentu. Metode tersebut memiliki kekurangan yaitu ketidaktepatan pengamatan pada saat cairan telah menguap semua atau belum yang mengakibatkan kesalahan dalam perhitungan. Selain metode konvensional juga digunakan metode instrumental yaitu metode kromatografi gas. Kromatografi gas merupakan metode yang dinamis untuk pengesahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap serta stabil pada pemanasan tinggi secara kualitatif dan kuantitatif (Bintang, 2010). Metode ini digunakan di laboratorium untuk pengujian etanol dan metanol pada minuman beralkohol yang disalahgunakan dengan menggunakan Gas Chromatography (GC). Metode kromatografi gas spesifik untuk identifikasi dan penentuan kadar etanol serta dapat digunakan untuk pemisahan campuran alkohol seperti metanol dan isopropanol secara simultan (Hendrayana, 2006). Pada kasus penyalahgunaan minuman beralkohol, barang bukti yang diterima berupa urin, darah, organ dalam dan cairan oral serta minuman itu sendiri (Suaniti *et al.*, 2012).

Arslan (2015) melaporkan penggunaan GC-MS untuk analisis metanol pada produk minuman beralkohol ilegal sebanyak 39 (75%) sampel terdeteksi metanol dan didapatkan nilai LoD metanol sebesar 0.79 mg/mL. Li *et al.* (2007) telah melakukan penelitian mengenai penentuan metanol dalam minuman keras menggunakan metode *full evaporation Headspace Gas Chromatography* (HS-GC) dengan volume sampel yang digunakan <30 uL dan temperatur 105 °C, hampir semua massa metanol mengalami transfer massa ke fase uap dalam waktu 2 menit. Tiscione *et al.* (2011) telah menganalisis secara kuantitatif etanol pada sampel darah dan urin menggunakan metode *Headspace Gas Chromatography*

(HS-GC) dengan detektor ionisasi nyala dan n-propanol (0,08 g/L) digunakan sebagai standar internal.

Metode preparasi penentuan etanol dan metanol dapat menggunakan distilasi dan ekstraksi. Sudhaker & Jain (2016) telah melakukan preparasi sampel pada urin dan darah dengan distilasi menggunakan pelarut air dan penambahan asam tartrat sebagai agen deprotenasi. Hernanz *et al.*, (2008) telah melakukan penelitian senyawa volatil dengan preparasi menggunakan ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Ekstraksi cair-cair dengan campuran pelarut dietil eter dan n-heptana dapat mendeteksi senyawa volatil lebih banyak. Lopez *et al.*, (2002) telah melakukan penelitian terhadap senyawa volatil dalam minuman beralkohol dengan metode preparasi ekstraksi fase padat menggunakan sorben licrolut-EN resin yang memiliki kemampuan baik dalam ekstraksi, namun harganya cukup mahal. Florisil adalah salah satu jenis sorben non-silika yang memiliki kemampuan adsorpsi yang baik berdasarkan interaksi semipolar dan harganya yang murah. Diklorometana dipilih sebagai eluen dikarenakan menjadi pelarut yang paling efisien untuk ekstraksi senyawa volatil dalam minuman beralkohol. Eluen ini juga dapat memberikan hasil *recovery* yang tinggi (Lukic *et al.*, 2006), dikarenakan kloroform memiliki sifat yang hampir sama dengan diklorometana, maka kloroform dipilih sebagai pelarut dan eluen pada ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat (Puslabfor Bareskrim Polri, 2017).

Analisis kuantitatif secara kromatografi gas menggunakan metode standar internal digunakan karena ketidakpastian yang disebabkan injeksi sampel, kecepatan aliran gas, dan keadaan kolom dapat diminimalisasi. Salah satu syarat suatu senyawa dapat digunakan sebagai standar internal adalah dapat terpisah dengan baik dari puncak analit dan mempunyai waktu retensi yang hampir sama dengan analit. Penggunaan n-propanol sebagai standar internal sangat tepat dikarenakan memiliki karakteristik yang hampir mirip dengan analit namun tidak bereaksi dengan analit serta memiliki puncak yang dekat dengan analit namun dapat dipisahkan (Sudhaker & Jain, 2016).

Tingkat kevalidan suatu metode analisis dapat diketahui dari dua faktor yaitu pada pengaruh metode preparasi dan validitas instrumen. Validasi metode merupakan salah metode yang cukup penting dalam suatu analisis, karena dapat

membuktikan keandalan suatu metode dari suatu prosedur yang digunakan. Validasi metode dapat dilakukan dengan mengukur beberapa parameter : uji linieritas, akurasi (ketepatan), dan presisi (sensitivitas) (Aradea, 2014).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan akan dilakukan uji metode preparasi yang tepat dalam penentuan kadar etanol dan metanol dalam minuman keras oplosan menggunakan kromatografi gas.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah metode preparasi yang paling tepat terhadap kromatografi gas untuk penentuan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan?
2. Bagaimana keakuratan instrumen kromatografi gas (*agilent 6890 series*) terhadap penentuan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian yang diharapkan dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui metode preparasi yang paling tepat dalam menentukan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan.
2. Mengetahui keakuratan instrumen kromatografi gas (*agilent 6890 series*) dalam menentukan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan.

1.4 Manfaat

Manfaat yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi mengenai metode preparasi yang paling tepat dalam menentukan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan.
2. Memberikan informasi mengenai keakuratan instrumen kromatografi gas (*agilent 6890 series*) dalam menentukan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Keras Oplosan

Minuman keras oplosan lebih berbahaya dibandingkan dengan minuman keras biasa karena minuman keras oplosan merupakan minuman yang diracik sendiri dengan cara mencampurkan bahan lain-lain ke dalamnya. Minuman beralkohol dioplos dimaksudkan untuk mempercepat sensasi euforia. Efek ini dihasilkan oleh kadar alkohol yang terkandung dalam jenis minuman yang merupakan zat psikoaktif (Logan, 2014). Bahan-bahan yang biasanya dicampurkan adalah susu, madu, minuman bersoda, dan minuman energi. Bahan-bahan tersebut dicampurkan untuk mendapatkan efek alkohol yang lebih meningkat. Pada produk tertentu, untuk menghasilkan cita rasa yang diinginkan, dapat dilakukan penambahan bahan-bahan tertentu seperti herbal dan buah-buahan (Lestari, 2015).

Minuman beralkohol atau yang biasa disebut minuman keras menurut Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 74 Tahun 2013 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. Minuman beralkohol yang biasa dikonsumsi adalah etil alkohol atau biasa disebut dengan etanol. Berdasarkan Peraturan Menteri Perindustrian No. 71/M-Ind/PER/7/2012 tentang Pengendalian dan Pengawasan Industri Minuman Beralkohol, batas maksimum etanol yang diizinkan adalah tidak melebihi 55%.

Adapun beberapa minuman beralkohol yang diperbolehkan beredar tetapi tetap dalam pengawasan yaitu berupa pengawasan dalam produksi, peredaran, dan penjualan. Peraturan Presiden Republik Indonesia no. 74 Tahun 2003 menjelaskan beberapa golongan minuman beralkohol, yaitu:

- a. Golongan A: minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar dari 1% sampai dengan 5%.

- b. Golongan B: minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar lebih dari 5% sampai dengan 20%.
- c. Golongan C: minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar lebih dari 20% sampai dengan 55%.

Hermasyah & Novia (2014) menjelaskan selain pengelompokan tersebut di atas, terdapat satu kategori khusus minuman beralkohol yaitu minuman beralkohol tradisional. Minuman beralkohol tradisional adalah minuman beralkohol yang dibuat secara tradisional dan turun temurun yang dikemas secara sederhana dan pembuatannya dilakukan sewaktu-waktu, serta dipergunakan untuk kebutuhan adat istiadat atau upacara keagamaan. Beberapa daerah di negara kita bahkan memiliki minuman beralkohol tradisional khas, antara lain :

a. Cap Tikus

Cap tikus merupakan minuman beralkohol dari Manado dan Minahasa yang dibuat dari hasil penyulingan Sagoer, yaitu cairan yang disadap dari pohon enau dan mengandung sedikit kadar alkohol sekitar lebih dari 40%.

b. Ciu

Ciu merupakan minuman beralkohol dari daerah Bekonang, Sukoharjo yang dibuat melalui fermentasi beras hingga menghasilkan kadar alkohol mencapai lebih dari 50%.

c. Moke/sopi

Moke/sopi merupakan minuman beralkohol dari Maluku, Flores (NTT) dan Papua yang dibuat dari hasil penyulingan cairan yang disadap dari pohon enau/aren dengan kadar alkohol yang berkisar sekitar 50%.

d. Lapen

Lapen merupakan minuman beralkohol dari Yogyakarta yang dibuat dari campuran beragam alkohol dengan gula serta zat perasa (essen) yang didiamkan minimal 12 jam.

e. Arak Bali

Arak Bali merupakan hasil fermentasi beras ketan mirip dengan cukrik atau fermentasi dari sari kelapa dan buah-buahan lain kadar alkoholnya 37-50%.

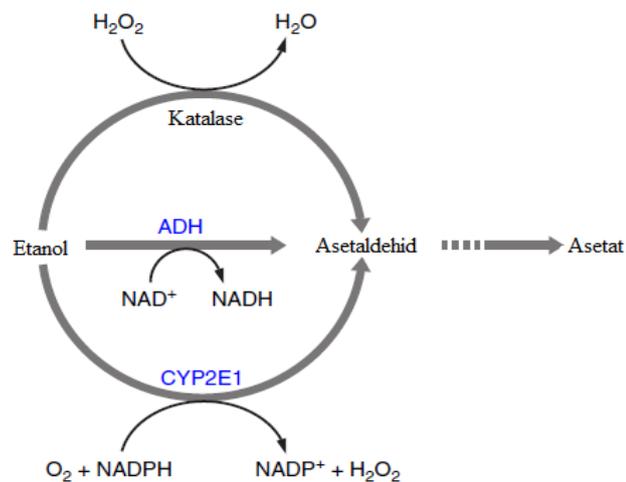
Prastya (2014) menjelaskan kandungan minuman keras golongan A berupa: Air (89-91% dari berat), Alkohol (3,5-4% dari berat), Karbohidrat (4-5%

dari berat), Protein (0,2-0,4% dari berat), Karbondioksida (0,4-0,45% dari berat), Garam mineral (0,02% dari berat). Minuman beralkohol dibuat dengan cara fermentasi khamir dari bahan baku yang mengandung pati atau gula tinggi. Bahan baku yang umum dipakai adalah biji-bijian (seperti jagung, beras, gandum, dan barley), umbi-umbian (seperti kentang dan ubi kayu), buah-buahan (seperti anggur, apel, pear, cherry), tanaman palem (seperti aren, kelapa, siwalan, nipah), gula tebu dan gula bit.

2.2 Etanol

Etanol atau $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (etil alkohol) diperoleh dari hasil fermentasi suatu zat yang biasanya banyak mengandung glukosa oleh mikroorganisme anaerobik. Karakteristik dari etanol yaitu memiliki titik didih $78,4\text{ }^\circ\text{C}$, memiliki berat molekul sebesar $46,07\text{ gr/grmol}$, titik lebur pada $-112\text{ }^\circ\text{C}$, nilai densitas sebesar $0,7893\text{ gr/mL}$, nilai indeks bias sebesar $1,36143$ dengan viskositas pada temperatur $20\text{ }^\circ\text{C}$ sebesar $1,17\text{ gr/mL}$, panas penguapan yang dihasilkan dapat mencapai $200,6\text{ kal/gr}$, tidak berwarna, mudah menguap, dan dapat bercampur dengan air dan eter sehingga etanol digunakan sebagai pelarut berbagai senyawa. Etanol di dalam dunia medis sering digunakan sebagai pelarut obat, desinfektan, dan pengawet. Etanol di dalam dunia industri digunakan secara luas sebagai pelarut (Puri *et al.*, 2010).

Etanol memiliki sifat anti depresan yang membuat beberapa orang menyalahgunakan minuman beralkohol ini. Absorpsi etanol berlangsung lebih cepat di usus daripada di lambung. Alkohol mengalami metabolisme presistemik oleh enzim alkohol dehidrogenase atau ADH, sitokrom P450 dan katalase menjadi asetaldehid yang bersifat toksik, karsinogenik, sangat reaktif, dan menyebabkan kecanduan (Gunawan *et al.*, 2012). Skema metabolisme etanol dalam tubuh tersaji pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Metabolisme Etanol dalam Tubuh
(Sumber: Dorokhov *et al.*, 2015)

Kadar etanol yang tinggi dapat diperoleh dalam arak dengan beberapa kali distilasi untuk tujuan bahan bakar (Yeliana & Wirawan, 2005). Telah dilakukan penentuan kadar etanol dalam arak yang beredar di pasaran dengan kadar etanol sekitar 20,08 – 70,08% (b/v). Minuman beralkohol yang mempunyai kadar etanol melebihi 55% dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian. Hal ini merupakan salah satu kasus penyalahgunaan minuman beralkohol yang terjadi di masyarakat (Suaniti & Widya, 2011).

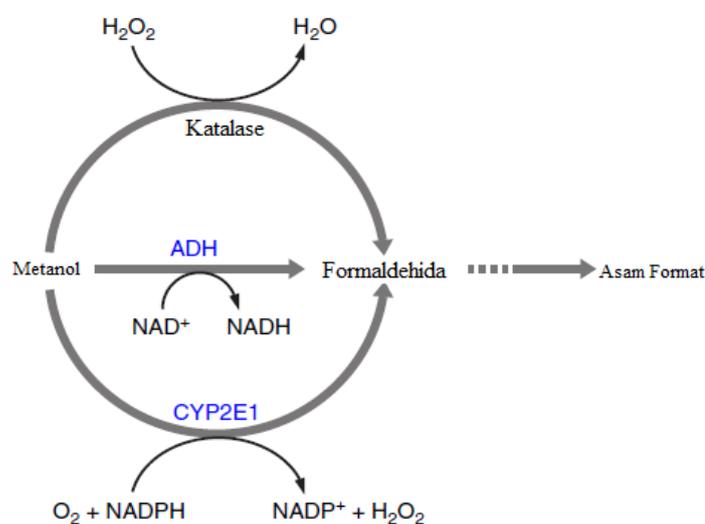
2.3 Metanol

Metanol merupakan alkohol yang paling sederhana dengan rumus kimia CH₃OH. Sifat-sifat fisika dan kimia metanol antara lain : titik leleh -97,8 °C, titik didih 64,5 °C, berat molekul 32,04 g/mol, sangat larut dalam air, mudah menguap, tak berwarna, mudah terbakar, beracun dan berbau khas serta banyak digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi (Puri *et al.*, 2010).

Metanol di dalam dunia industri digunakan sebagai bahan pembuatan asetaldehid, cairan antibeku, pestisida dan pelarut. Gejala keracunan metanol dapat berupa sakit kepala, gangguan pada saluran cerna, gelisah, sesak nafas, penglihatan kabur hingga kebutaan (Darmono, 2009). Penggunaan metanol untuk konsumsi tidak diperbolehkan karena metanol adalah zat tidak layak konsumsi dan beracun bagi tubuh. Metanol mempunyai dosis toksik yang lebih tinggi. Efek utama metanol dapat memabukkan, produk metaboliknya dapat menyebabkan

asidosis metabolik, kebutaan, dan kematian setelah periode laten 6-48 jam (Hamidah & Yulianti, 2017).

Metanol cepat diserap baik melalui oral, inhalasi maupun kulit. Reaksi metanol yang masuk ke dalam tubuh dapat segera terabsorpsi dan terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Proses pemecahan metanol dalam tubuh dapat terjadi dengan cara oksidasi metanol menjadi formaldehid kemudian menjadi asam format dan juga dapat langsung diekskresikan melalui urin atau dapat dilanjutkan dengan proses oksidasi yang merubah metanol menjadi karbon dioksida (Dorokhov *et al.*, 2015). Skema metabolisme metanol dalam tubuh tersaji pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Metabolisme Metanol dalam Tubuh
(Sumber: Dorokhov *et al.*, 2015)

2.4 Macam-macam Preparasi Penentuan Kadar Etanol dan Metanol dengan Kromatografi Gas

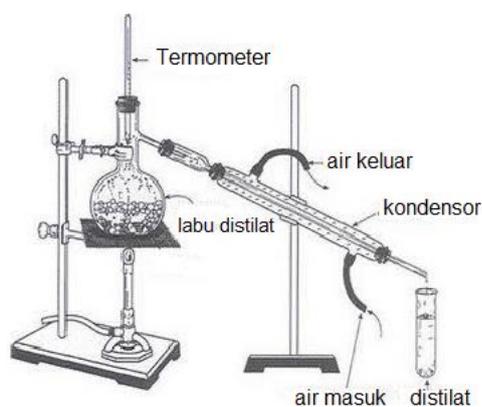
2.4.1 Distilasi

Distilasi adalah teknik pemisahan kimia untuk memisahkan dua atau lebih komponen yang memiliki perbedaan titik didih. Suatu campuran dapat dipisahkan dengan distilasi untuk memperoleh senyawa murni. Senyawa yang terdapat dalam campuran akan menguap saat mencapai titik didih masing-masing (Walangare *et al.*, 2013).

Dasar pemisahan pada distilasi adalah perbedaan titik didih cairan pada tekanan tertentu. Pemisahan dengan distilasi melibatkan penguapan diferensial dari suatu campuran cairan diikuti dengan penampungan material yang menguap dengan cara pendinginan dan pengembunan. Beberapa teknik distilasi lebih cocok

untuk pekerjaan-pekerjaan preparatif di laboratorium dan industri, pada beberapa contoh adalah pemurnian alkohol, pemisahan minyak bumi menjadi fraksi-fraksinya, dan pembuatan minyak atsiri (Soebagio *et al.*, 2005).

Minuman beralkohol yang telah dikonsumsi akan diekskresikan dalam bentuk cairan biologis seperti urin dan darah. Alkohol yang bersifat volatil, minuman oplosan diperlukan pemurnian untuk mendapatkan senyawa alkohol yang terkandung didalamnya. Sudhaker & Jain (2016) telah melakukan preparasi sampel pada urin dan darah dengan distilasi. Distilat yang didapatkan dari proses distilasi akan diukur kadarnya dan diketahui jenis alkohol yang terkandung pada minuman tersebut menggunakan GC (*Gas Chromatography*). Skema rangkaian alat distilasi sederhana tersaji pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Rangkaian Alat Distilasi Sederhana
(Sumber: Walangare *et al.*, 2013)

2.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material yang lainnya. Metode ekstraksi dapat berupa ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat (Sulihono *et al.*, 2012).

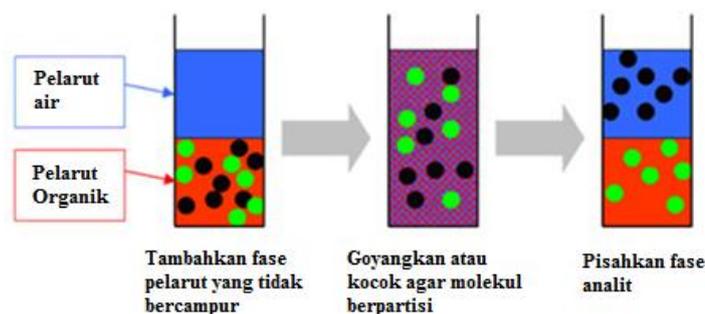
2.4.2.1 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair adalah pemisahan zat dari cairan pembawa (diluen) menggunakan pelarut cair. Pada ekstraksi cair-cair sampel berupa fase cair yang mengandung komponen yang akan dipisahkan, sedangkan pelarut merupakan zat cair yang ditambahkan untuk mengekstrak komponen tertentu dari sampel.

Beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah temperatur ekstraksi, waktu ekstraksi, solven rasio, serta kecepatan putaran pengaduk (Jos, 2002).

Prinsip dasar dari pemisahan ekstraksi cair-cair berdasarkan koefisien partisi dari analit pada kedua pelarut atau berdasarkan kelarutan analit pada kedua pelarut tersebut. Ketika sampel dan campuran pelarut telah bercampur, dua lapisan akan terbentuk dan salah satunya mengandung banyak komponen yang akan diekstraksi. Lapisan yang terbentuk dipisahkan kemudian salah satu lapisan yang mengandung komponen yang akan diambil dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* (Simpson, 2000).

Hernanz *et al.*, (2008) telah melakukan penelitian penentuan metanol dengan preparasi menggunakan ekstraksi cair-cair. Penggunaan campuran pelarut pada ekstraksi cair-cair menggunakan dietil eter dan n-heptana memberikan hasil yang efektif. Pemilihan pelarut yang tepat dalam ekstraksi diperlukan agar analit yang diinginkan dapat terekstrak sempurna. Proses ekstraksi cair-cair tersaji pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Proses Ekstraksi Cair-cair
(Sumber: Chambers *et al.*, 2013)

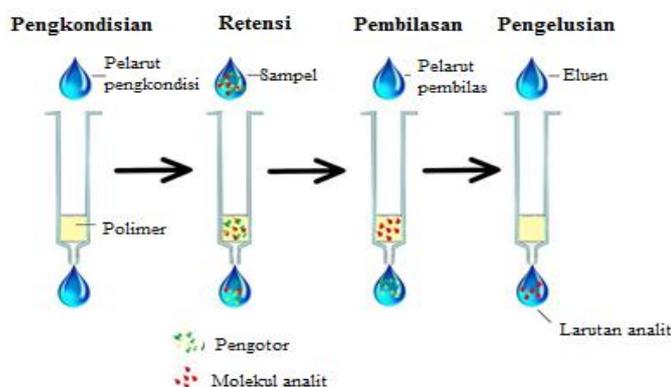
2.4.2.2 Ekstraksi Fase Padat

Ekstraksi fase padat merupakan metode ekstraksi dengan melewati analit pada kolom yang berisi adsorben fase padat (Si-Gel C-18, Extrelut) dan dielusi dengan pelarut tertentu. Keunggulan ekstraksi fase padat yaitu pemisahan analit dari matriks lebih efisien, volume pelarut ekstraksi yang digunakan kecil dan hanya memerlukan satu tahap (Wirasuta, 2008).

Lopez *et al.*, (2002) telah melakukan penelitian mengenai penentuan senyawa volatil dalam minuman beralkohol dengan metode preparasi ekstraksi

fase padat. *Sorbent* licrolut-EN resin memiliki kemampuan yang baik dalam ekstraksi, namun harganya cukup mahal. Florisil adalah salah satu jenis *sorbent* non-silika. Florisil atau Octadecylsilica C18 memiliki kemampuan adsorpsi yang baik berdasarkan interaksi non-polar dan harganya yang murah (Lukic *et al.*, 2006). Diklorometana dipilih sebagai eluen dikarenakan terbukti menjadi pelarut yang paling efisien untuk ekstraksi senyawa volatil minuman beralkohol dalam berbagai kasus. Eluen Diklorometana juga memberikan hasil *recovery* yang tinggi.

Adapun empat langkah utama dalam penggunaan ekstraksi fase padat adalah seperti tersaji pada Gambar 2.5. Tahap pertama yaitu pengondisian, 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, merupakan proses pemasukan larutan sampel. 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 yang dilakukan dengan penambahan larutan yang mampu menghilangkan sisa matriks yang tertinggal tetapi tidak mempengaruhi interaksi analit dengan penjerap. Tahap terakhir yaitu pengelusian yang dilakukan dengan penambahan larutan yang mampu memutuskan ikatan analit dengan penjerap (Gandjar, 2014).



Gambar 2.5 Proses Ekstraksi Fase Padat
(Sumber: Gandjar, 2014)

2.5 Kromatografi Gas

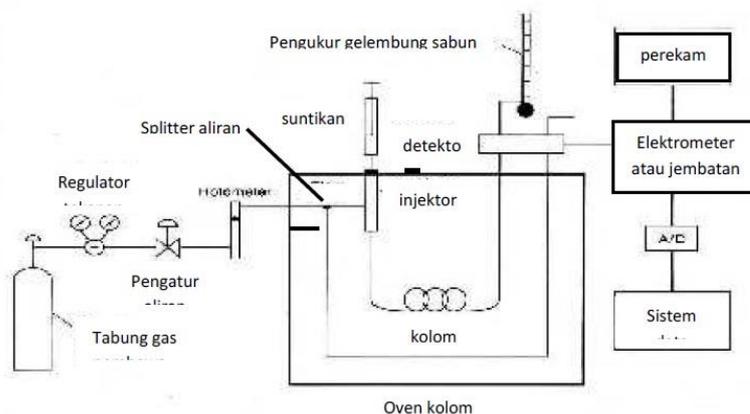
Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan koefisien partisi dari senyawa yang diuapkan antara fase cair dan fase gas yang dilewatkan dalam kolom dengan bantuan gas pembawa. Kromatografi selalu melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan yang terikat pada permukaan padatan, sedangkan fase gerak dapat berupa cairan yang disebut eluen atau pelarut, atau gas pembawa yang inert. Gas pembawa dalam kromatografi gas dapat menggunakan gas nitrogen, helium atau argon (Bintang, 2010). Metode pemisahan secara kromatografi terus berkembang dengan peralatan yang lebih modern, dengan hasil pemisahan yang lebih selektif, akurat dan dapat digunakan untuk sampel dengan jumlah yang sangat kecil (Soebagio *et al.*, 2005).

Analisis kuantitatif secara kromatografi gas menggunakan metode standar internal. Metode standar internal merupakan suatu metode dengan menggunakan komponen yang memiliki kesamaan struktur kimia dengan sampel maupun standar, tetapi tidak terdapat dalam sampel. Salah satu alasan digunakan standar internal adalah jika suatu sampel memerlukan suatu perlakuan seperti ekstraksi sampel, maka penambahan standar internal dapat mengoreksi hilangnya sampel-sampel. Selain Metode standar internal juga berfungsi untuk mengeliminasi kesalahan dalam proses injeksi sampel dalam kromatografi gas. Puncak standar internal dan puncak lainnya harus terpisah dengan baik sebagai syarat keberhasilan metode ini (Riyanto, 2013).

Syarat-syarat suatu senyawa dapat digunakan sebagai standar internal antara lain terpisah dengan baik dari senyawa puncak-puncak analit, waktu retensi yang hampir sama dengan analit, tidak terdapat dalam sampel, mempunyai kemiripan sifat-sifat dengan analit, tidak reaktif dengan sampel atau dengan fase gerak. Penggunaan n-propanol sebagai standar internal sangat tepat dikarenakan memiliki karakteristik yang hampir mirip dengan analit namun tidak bereaksi dengan analit serta memiliki puncak yang dekat dengan analit (Sudhaker & Jain, 2016).

Prinsip kerja kromatografi gas yaitu, sampel yang telah diuapkan dimasukkan ke dalam kolom, kemudian komponen-komponen tersebut

terdistribusi dalam kesetimbangan antara fase diam dan fase gerak. Setelah melewati kolom, komponen yang keluar dari kolom ditangkap oleh detektor dan direkam oleh komputer sebagai kromatogram. Skema peralatan kromatografi gas tersaji pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Instrumen Kromatografi Gas
(Sumber: Bintang, 2010)

Komponen-komponen dasar peralatan kromatografi gas, yaitu :

2.6.1 Gas pembawa

Gas pembawa diletakkan dalam tabung bertekanan yang dihubungkan dengan regulator tekanan, pengatur aliran, dan rotometer. Dalam sistem penyimpanan gas ini terdapat suatu bahan penyaring molekul untuk menyerap air ataupun pengotor lainnya. Laju alir gas dikontrol oleh regulator tekanan dan pengatur aliran. Gas pembawa harus bersifat inert dan murni. Gas pembawa yang sering digunakan adalah N_2 , He, H_2 , dan Ar.

2.6.2 Sistem injeksi sampel

Sampel dimasukkan dengan sebuah suntikan yang kemudian melewati suatu karet atau piringan tipis yang terbuat dari silikon, untuk mendapatkan efisiensi dan resolusi sebaik mungkin sampel dimasukkan ke dalam aliran gas dalam jumlah sedikit mungkin dan dalam waktu yang secepat mungkin. Banyaknya sampel yang dimasukkan kira-kira 0,1 sampai dengan 10 μL .

2.6.3 Kolom

Ada dua jenis kolom yang digunakan dalam kromatografi gas, yaitu :

2.6.3.1 Kolom kapiler

Kolom kapiler memiliki panjang berkisar antara 10 sampai dengan 100 m atau lebih dan memiliki efisiensi cukup tinggi, namun memiliki kapasitas sampel sangat rendah ($< 0.01 \mu\text{L}$). Kapasitas kolom kapiler dapat ditingkatkan dengan *coating* suatu bahan berpori seperti grafit, oksida logam atau silikat pada bagian dalam *tube*.

2.6.3.2 Kolom packed

Kolom ini terbuat dari *tube* logam atau dari gelas yang memiliki diameter dalam sebesar 1 sampai 8 mm, terbungkus oleh suatu padatan. Kolom ini mempunyai panjang 2 sampai 20 m.

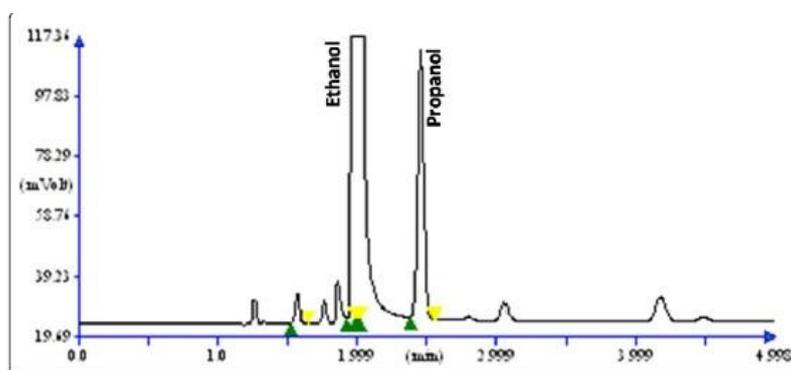
2.6.4 Sistem deteksi

Sistem deteksi untuk kromatografi gas harus mempunyai kemampuan merespon sampel yang keluar dari kolom secara cepat dan akurat. Interval puncak yang melewati detektor biasanya berjarak satu detik atau kurang, sehingga detektor harus juga memiliki kemampuan untuk merekam respon secara penuh selama beberapa periode tertentu. Sifat lainnya yang harus dimiliki detektor yaitu respon yang linear, stabilitas yang cukup baik dalam waktu yang lama, dan respon yang seragam untuk berbagai macam senyawa. Terdapat beberapa jenis detektor dalam kromatografi gas, diantaranya *Thermal Conductivity Detector* (TCD), *Flame Ionization Detector* (FID), *Electrone Capture Detector* (ECD), dan *Flame Photometric Detector* (FPD) (Skoog dan West, 1980).

Kromatografi gas sistem detektor yang umum digunakan adalah detektor ionisasi nyala atau *Flame Ionisation Detektor* (FID). Detektor ionisasi nyala dapat digunakan hampir untuk semua senyawa organik sampai batas rendah satu nanogram, dan respon linear yang terluas berkisar 10^6 . FID memiliki kemampuan detektor terkecil 5×10^{-12} g/detik dan suhu tertinggi $400 \text{ }^\circ\text{C}$. Dalam hal memperoleh tanggapan detektor ionisasi nyala yang optimal sebaiknya kecepatan aliran $\text{H}_2 \pm 30$ mL/menit dan O_2 sepuluh kalinya. GC-FID merupakan metode yang sangat sensitif, cepat, dan dapat diandalkan untuk menentukan sejumlah besar senyawa volatil di berbagai sampel biologis (Gandjar & Rohman, 2014).

Kromatogram merupakan kurva yang diperoleh dari pengukuran kromatografi. Kromatogram terdiri dari sejumlah puncak yang menunjukkan jumlah komponen yang terdapat dalam cuplikan, sedangkan luas puncak

menunjukkan konsentrasi komponen dalam cuplikan (Hendrayana, 2006). Sudhaker & Jain (2016) melaporkan penentuan etanol dalam sampel darah menggunakan metode kromatografi gas. Kondisi kromatografi gas (*Perkin Elmer Clarus 600*) yang digunakan yaitu kolom kapiler yang memiliki etilvinilbenzena-divinilbenzena (EVB-DVB), fase stasioner (30 m panjang, 0.125 mm ID), gas pembawa helium (99,99%) dengan laju alir 1 mL / menit, suhu oven 160 °C, suhu injektor dan detektor 200 °C. Gambar 2.7 menunjukkan bahwa waktu retensi etanol dan propanol masing-masing 1,992 dan 2,452 menit.



Gambar 7 Kromatogram Etanol dan n-propanol dalam Sampel Darah

(Sumber: Sudhaker & Jain, 2016)

2.6 Validasi Metode

Tujuan utama yang harus dicapai dari suatu kegiatan analisis kimia adalah dihasilkannya data hasil uji yang absah (*valid*). Secara sederhana hasil uji yang absah dapat digambarkan sebagai hasil uji yang mempunyai akurasi, dan presisi yang baik.

Validasi seperti yang tertuang dalam ISO/IEC 17025 diartikan sebagai kegiatan konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti yang objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus harus dipenuhi (Aradea, 2014). Tujuan dari validasi metode adalah untuk mengetahui penyimpangan yang tidak dapat dihindari dari suatu metode kondisi normal seluruh elemen terkait telah dilaksanakan dengan baik. Beberapa manfaat validasi metode analisis adalah untuk mengevaluasi hasil kerja suatu metode analisis, menjamin prosedur analisis,

menjamin keakuratan dan kedapatulangan hasil prosedur analisis serta mengurangi resiko penyimpangan yang mungkin timbul (Wulandari, 2007).

Parameter-parameter untuk kerja metode ditentukan dengan menggunakan peralatan yang memenuhi spesifikasi dalam proses validasi metode, bekerja dengan baik dan terkalibrasi secara memadai. Secara umum, validasi metode mencakup penentuan yang berkaitan dengan alat dan metode (Nugroho, 2006). Hasil uji validasi dari metode analisis dapat dinyatakan dalam beberapa parameter yaitu :

2.6.1 Uji Linearitas

Linearitas adalah suatu metode analisis untuk mengetahui adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respon instrumen. Linearitas menyatakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan respon (y) dengan konsentrasi (x). Uji linearitas dilakukan dengan suatu seri larutan standar yang terdiri dari minimal lima konsentrasi yang berbeda dengan rentang 50-150 % dari kadar analit dalam sampel. Parameter hubungan kelinearan yang digunakan yaitu koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R^2) pada analisis regresi linier $y = bx + a$ (b adalah *slope*, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Koefisien determinasi adalah kedekatan garis linear dengan titik sebenarnya, sedangkan koefisien korelasi adalah suatu ukuran hubungan linier antara luas area dengan konsentrasi. Linearitas metode dapat menggambarkan ketelitian pengerjaan analisis suatu metode yang ditunjukkan oleh nilai koefisien korelasi sebesar $>0,997$ (Handayani & Lestari, 2012).

2.6.2 Uji *Limit of Detection* (LoD)

Limit of Detection atau limit deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung

dengan mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko (Hidayati, 2013).

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

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (2.1)$$

$$LoD = \frac{3 \times SD}{b} \dots\dots\dots (2.2)$$

Keterangan

- x : Nilai data pengukuran
- \bar{x} : Rata rata pengukuran
- b : *slope*
- n : Jumlah ulangan
- SD : *Standar Deviation*
- LoD : *Limit of Detectiton*

2.6.3 Uji Limit of Quantitation (LoQ)

Limit of Quantitation (LoQ) adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat (Hidayat, 2013). Parameter ini digunakan untuk pengujian kuantitatif analit dengan jumlah kecil yang terkandung dalam sampel dan digunakan untuk pengukuran cemaran serta produk degradasi.

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

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (2.3)$$

$$LoQ = \frac{10 \times SD}{b} \dots\dots\dots (2.4)$$

Keterangan

- x : Nilai data pengukuran
- \bar{x} : Rata rata pengukuran
- b : *slope*
- n : Jumlah ulangan
- SD : *Standar Deviation*
- LoQ : *Limit of Quantitation*

2.6.4 Uji Akurasi

Hidayati (2013) mendefinisikan bahwa akurasi adalah suatu kedekatan kesesuaian antara hasil suatu pengukuran dan nilai benar dari kuantitas yang diukur atau suatu pengukuran posisi yaitu seberapa dekat pengukuran terhadap nilai benar yang diperkirakan. Ada tiga macam metode yang dapat dilakukan untuk uji akurasi, antara lain :

- a. Material standar dilakukan dengan membandingkan hasil akurasi analisis uji terhadap cuplikan acuan standar atau *Standar Reference Material*.
- b. Metode baku dilakukam dengan membandingkan hasil analisis analit dengan metode yang divalidasi terhadap hasil dengan metode standar.
- c. Perolehan kembali (*recovery*) dilakukan dengan menambahkan sejumlah kadar analit yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam matriks sampel yang akan dianalisis.

Uji perolehan kembali (*recovery*) lebih sering digunakan dibanding dengan material standar dan metode baku, karena uji *recovery* lebih mudah dilakukan dan dengan biaya yang lebih murah. Uji perolehan kembali dilakukan mengukur ketepatan hasil dari analisis yang telah dilakukan. Dicoba dua perlakuan yang diambil dari satu contoh atau contoh yang sama, masing-masing satu untuk contoh yang ditambahkan standar dan satu lagi untuk larutan blangko (contoh tanpa penambahan larutan standar). Uji akurasi dapat diukur dengan menentukan persentase perolehan kembali (%*recovery*) dari analit yang ditambahkan ke dalam contoh. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai %*recovery* dari suatu standar antara 90-110% (Riyanto, 2014). Namun jika komponen yang dianalisis merupakan *trace analysis* maka %*recovery* yang disyaratkan adalah $100\% \pm 20$.

$$\% Recovery = \frac{\text{konsentrasi terukur}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100\% \dots\dots\dots (2.5)$$

2.6.5 Uji Presisi

Presisi adalah suatu ukuran penyebaran (disperse suatu kumpulan hasil), kedekatan dari suatu rangkaian pengukuran berulang-ulang satu sama lain. Ketelitian prosedur analisis menyatakan kedekatan hasil dari sederet pengukuran yang diperoleh dari contoh yang homogen pada kondisi tertentu (Chan, 2004).

Presisi diterapkan pada pengukuran berulang-ulang sehingga menunjukkan hasil pengukuran individual didistribusikan sekitar nilai rata-rata tanpa menghiraukan letak nilai rata-rata terhadap nilai benar. Presisi dapat dinyatakan dengan berbagai cara antara lain dengan simpangan baku, simpangan rata-rata atau kisaran yang merupakan selisih hasil pengukuran yang terbesar dan terkecil (Hidayat, 1989).

Menurut Riyanto (2014), presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*) dan presisi antara (*intermediate precision*). Parameter presisi tersebut antara lain:

Penentuan presisi biasanya dilakukan tiga pendekatan yang berbeda, yaitu :

a. Presisi Antara (*Intermediate Precision*)

Presisi antara merupakan bagian dari presisi yang dilakukan dengan cara mengulang pemeriksaan terhadap contoh uji dengan alat, waktu, analisis yang berbeda, namun dalam laboratorium yang sama.

b. Keterulangan (*Repeatability*)

Keterulangan (*Repeatability*) yaitu ketelitian yang diperoleh dari hasil pengulangan dengan menggunakan metode, operator, peralatan, laboratorium, dan dalam interval pemeriksaan waktu yang singkat. Pemeriksaan keterulangan bertujuan untuk mengetahui konsistensi analit, tingkat kesulitan metode dan kesesuaian metode.

c. Ketertiruan (*Reproduceability*)

Ketertiruan (*Reproduceability*) ketelitian yang dihitung dari hasil penetapan ulangan dengan menggunakan metode yang sama, namun dilakukan oleh analisis, peralatan, laboratorium dan waktu yang berbeda.

Presisi dinyatakan sebagai persentase *Relative Standard Deviation* (%RSD) dari suatu seri pengukuran (Riyanto, 2014).

Berikut merupakan rumus RSD :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots(2.6)$$

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \dots\dots\dots(2.7)$$

Keterangan :

SD : Nilai standart deviasi
RSD : Nilai *Relative Standard Deviation*
 x : Nilai data pengukuran
 \bar{x} : rata-rata pengukuran
 n : jumlah ulangan

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)

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, didapat simpulan sebagai berikut.

1. Metode preparasi yang paling tepat untuk penentuan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan menggunakan kromatografi gas adalah metode distilasi dengan hasil validitas uji akurasi yang dinyatakan dalam %*Recovery* metanol dan etanol masing-masing sebesar 102,79% dan 100,26%, sedangkan uji presisi yang dinyatakan dalam %RSD metanol dan etanol masing-masing sebesar 1,097% dan 0,726%.
2. Keakuratan instrumen kromatografi gas (*agilent 6890 series*) dalam pengukuran diperoleh nilai LoD dan LoQ pada metanol adalah 0,0743% dan 0,2477%, sedangkan nilai etanol adalah 0,110% dan 0,368%.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut sebagai berikut:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan pelarut yang paling tepat dalam penentuan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan dengan metode preparasi ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang adsorben yang paling tepat dalam penentuan kadar etanol dan metanol dalam minuman keras oplosan dengan metode ekstraksi fase padat.
3. Untuk melakukan uji *recovery* sebaiknya memperhatikan penambahan *spike*, sehingga konsentrasi yang diperoleh dapat melebihi limit kuantitasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, A. 2018. Penetapan Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Beralkohol dengan Kromatografi Gas di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Aradea, A. 2014. *Your reliable partner for accredited lab*. Semarang : PT Merck Tbk.
- Arslan, M. M., Zeren, C., Aydin, Z., Akcan, R., Dokuyucu, R., Keten, A., & Cekin, N. (2015). Analysis of methanol and its derivatives in illegally produced alcoholic beverages. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 15(2): 117-122.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2016). *Peraturan Kepala Badan pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.14 tahun 2016 tentang Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol*.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta : Erlangga.
- Chan, C.C., L. Herman., Y.C.Lee, & X.M. Zhang. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Perfomance Verifycation*. Canada : John Wiley & Sons.
- Chambers, A., Andrew, J., Juncong, Y., Alexander, G., & Christoph, H. 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.
- Darmono. 2009. *Toksikologi Narkoba dan Alkohol*. UIP: Jakarta.
- Dorokhov, Y. L., V. Anastasia, E. V. Shindyapina, Sheshukova, & V. K. Tatiana. 2015. Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. *Physiol Rev*, 95: 603-644. Tersedia di <http://physrev.physiology.org> [diakses 22-11-2017].
- Gandjar, I., & Rohman, A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gunawan, S., Rianto, S., Nafrialdi, & Elysabeth, E. 2012. *Farmakologi dan Terapi* (5th ed.). Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hamidah, M. & K. Yulianti. 2017. Temuan Post Mortem Akibat Keracunan Metanol. *E-Jurnal Medika*, 6(7): 1-7.
- 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. *Jurnal Majalah*, 1(3): 117-135.
- Hendrayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hermasyah & Novia. 2014. Penentuan Kadar Etanol Hasil Fermentasi Secara Enzimatis. *Jurnal Molekul*, 1(2): 121-127.
- Hernanz, D., V. Gallo, A. F. Recamales, A. J. M. Martines, & F. J. Heredia. 2008. Comparison of the Effectiveness of Solid-Phase and Ultrasound-Mediated Liquid-Liquid Extractions to Determine the Volatile Compounds of Wine. *Talanta*, 7(6): 929-935.
- Hidayat, A. 1989. *Pengendalian dan Evaluasi Unjuk Kerja Metode Analisis Kimia*. Pusat Pembinaan Latihan Keterampilan dan Kejuruan Industri: Warta AKAB.
- Hidayati, E.N. 2013. Perbandingan Metode Destruksi Pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. *Skripsi*. Semarang : Universitas Negeri Semarang.
- Ibrahim, (2007). Pengembangan dan Validasi Metode Analisis. *Jurnal Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung*, 1-15.
- Jos, B. 2002. Peningkatan Mutu Heavy Gas Oil (HGO) secara Ekstraksi Cair-Cair dengan Solven Dimethylsulfoxide (DMSO). *Reaktor Chemical Engineering Journal*, 6(2): 92-95.
- Julia, Shinta Riski. 2016. Efek Minuman Keras Oplosan Terhadap Perubahan Histopatologi Lambung Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Lestari, I. 2015. Pengaruh penambahan susu, madu, minuman bersoda dan minuman energi terhadap kadar alkohol pada minuman keras. *Jurnal Kesehatan Prima*, 9(1): 1383-1390.
- Li, H., Zhan, H., Fu, S., Liu, M., & Chai, X. S. 2007. Rapid determination of methanol in black liquors by full evaporation headspace gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 16(4): 133–136.
- Logan, Barry Kerr. 2014. Alcohol Content of Beer and Malt Beverages Alcohol Content of Beer and Malt Beverages : Forensic Considerations.
- 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*, 9(6): 167-177.

- Lukic, I., M. Banovic, D. Persuric, S. Radeka, & B. Sladonja. Determination of Volatile Compounds in Grape Distillates by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11(1): 238-244.
- Martinelli, M., A. A. r. Alves, T. M. Uekane, A. H. Oliveira, R. S. Campos, C. M. Rezende, & M. J. O. Fonesca. 2013. Analysis oVolatile Compounds in Fuyu Persimmon: Comparison of Extraction Techniques by GC-qMS, *Prosiding 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies*. Brasil: Rio de Janeiro.
- Muna, E. D. M., C. H. B. Bizarri, J. R. M. Maciel, G. P. Rocha, & I. O. Araujo. 2013. Method Validation for Methanol Quantification Present in Working Places. *Journal of Physics*, 1(1): 1-8.
- Nugroho, C.A. 2006. Pengaruh Minuman Beralkohol Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik dan Berat Vesikula Seminalis Mencit. *Skripsi*. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Widya Mandala Madiun.
- Pizarro, C., C. S. Gonzales, N. P. 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*, 12(18): 1576-1584.
- Pontes, H., P. G. D. Pinho, S. Casal, H. Carmo, A. Santos, T. Magalhaes, F. Remiao, F. Carvalho, & M. L. Bastos. 2009. GC Determination of Acetone, Acetaldehyde, Ethanol, and Methanol in Biological Matrices and Cell Culture. *Journal of Chromatographic Science*, 4(7): 272-278.
- Prastya, D.T, Indah L., Ayu P. 2014. Gambaran Kadar Alkohol Pada Minuman Oplosan Yang Dijual Bebas Di Kelurahan Banyu Urip Kecamatan Sawahan Surabaya tahun 2013. *Jurnal Analisis Kesehatan Sains*, 3(I): 166-169.
- Puri, T.M., Fadillah, S., Nipolin, S.M., Deniz, M., Fierlindo, A.P., Rudy, C., Velysia, N., Tri, H.I., Ferriansyah, G., Ellyana, P., Irwan, H.S., Wahyudi, A. 2010. *Telaah Kimia : Metanol-Etanol*. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik Dan Medikolegal. RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- Puslabfor Bareskrim Polri. 2017. *Instruksi Kerja Laboratorium Forensik Cabang Semarang*. Semarang: Labforcab Semarang.
- Presiden Republik Indonesia. (2013). *Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 74 tahun 2013 tentang Pengendalian dan Pengawasan Minuman Beralkohol*.

- Riyanto, Fajar Dwi. 2013. Penetapan Kadar Etanol dan profil Senyawa yang terdapat dalam Hasil Produksi CIU Rumahan Dusun Sentul Desa Bekonang Kabupaten Sukoharjo dengan Metode Kromatografi Gas. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Sanata Dharma.
- Riyanto. 2014. Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi. Yogyakarta: Deepublish. ISBN 978
- Skoog, D.A., dan West, D.M, (1980), *Principles of Instrumental Analysis*, Second Edition, Sounders College, Philadelphia.
- Simpson, N. J. 2000. *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications*. New York: CRC Press.
- Soebagio., Endang Budiasih., M.Sodiq Ibnu., Hayuni Retno Widiarti & Munzil. 2005. *Kimia Analitik II*. Malang : UM Press. ISBN : 979-495-711-9.
- Suaniti, N. M., & Widya, N. 2011. Ethanol levels in arak market by gas chromatography techniques. *International Conference on Chemistry and Biochemistry*. Bali: Udayana University.
- Suaniti, N., Asih, I., & Astuti, N. 2012. Deteksi etanol setelah konsumsi arak dalam urin dengan gas chromatography. *Jurnal Kimia*, 6(2): 123-126.
- Sudhaker, S., & Jain, R. 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. *Madridge Journal of Analytical Sciences and Instrumentation*, 1(1): 1-3.
- Sulihono, Andreas., Benyamin Tarihoran & Tuti Emilia Agustina. 2012. Pengaruh Waktu, Temperatur, dan Jenis Pelarut terhadap Ekstraksi Pektin dari Kulit Jeruk Bali (Citrus Maxima). *Jurnal Teknik Kimia*, 18(4): 2-8.
- Tiscione, N. B., Alford, I., Yeatman, D. T., & Shan, X. 2011. Ethanol analysis by headspace gas chromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 1(3): 501-511.
- Vazquez, C. L., M. H. Bollain, K. Berstsch, & I. Orriols. 2010. Fast Determination of Principal Volatile Compounds in Distilled Spirits. *Food Control*, 2(1): 1436-1441.
- Walangare, K.B.A, A. S. M. Lumenta, J. O. Wuwung, B. A. Sugiarto. 2013. Rancang Bangun Alat Konversi Air Laut Menjadi Air Minum Dengan Proses Destilasi Sederhana Menggunakan Pemanas Elektrik. *e-Jurnal Teknik Elektro dan Komputer*, 2(2): 1-2.
- Wang, M. L., Wang, J. T., & Choong, Y. M. 2004. A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 187-196.

- Widyastuti.2018. Validasi metode penentuan kadar metanol dan etanol pada distilat minuman beralkohol menggunakan Gas Chromatography di Badan Reserse Kriminal POLRI Pusat Laboratorium Forensik. *Tugas Akhir*.Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia.
- Wirasuta, M. A. 2008. Analisis toksikologi forensik dan interpretasi temuan analisis. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*, 1(1): 47-55.
- Wonorahardjo, Surjani. 2016. Metode-metode pemisahan kimia. jakarta : PT indeks ISBN : 978-979-062-514-3.
- Wulandari, N. 2007. Validasi Metode Spektrofotometri Derivatif Ultraviolet untuk Penentuan Reserpin dalam Tablet Obat. *Skripsi*. Bogor : Departemen Kimia FMIPA IPB
- Yeliana, & Wirawan, I. 2005. Arak bali sebagai bahan bakar alternatif. *Jurnal Jurusan Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Udayana*.