

## PENDAHULUAN

Semua orang selalu menginginkan kehidupan yang dijalani adalah kehidupan yang sehat, yang dicerminkan oleh lingkungan yang sehat. Oleh karenanya menjaga lingkungan sehat sudah menjadi kewajiban seluruh masyarakat bukan hanya pemerintah. Jika ingin memiliki kehidupan yang sehat kita harus memulainya dari diri sendiri, keluarga, terutama anak-anak yang harus ditanamkan sejak dini tentang bahaya merokok, agar dikemudian hari mereka tidak terpengaruh lingkungan sehingga menjadi perokok. Rokok merupakan benda yang sudah tidak asing lagi bagi masyarakat. Rokok adalah silinder dari kertas berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm (bervariasi tergantung negara) dengan diameter sekitar 10 mm yang berisi daun-daun tembakau yang telah dicacah (BPOM, 2004).

Rokok dibakar pada salah satu ujungnya dan dibiarkan membara agar asapnya dapat dihirup lewat mulut pada ujung lainnya. Rokok adalah hasil olahan tembakau terbungkus termasuk cerutu yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum* yang mengandung nikotin dan tar, yang bersifat adiktif, yaitu dapat menyebabkan ketergantungan (BPOM, 2004).

Berdasarkan legalitasnya rokok dibagi menjadi dua yaitu rokok berpita cukai dan rokok tanpa pita cukai. Pembagian ini berdasarkan ada tidaknya pita cukai yang ditempelkan pada pembungkus rokok. Penempelan pita cukai harus sesuai dengan peraturan perundangan yaitu UU no.11 tahun 1995 tentang barang kena pita cukai. Gangguan kesehatan akibat rokok tidak hanya ditentukan oleh

tinggi rendahnya kadar nikotin di dalam rokok tetapi ditentukan juga oleh jumlah batang rokok yang dihisap, volume asap yang dihisap, dalamnya asap rokok yang dihisap dan banyaknya hisapan saat merokok. Rokok biasanya dijual dalam bungkus berbentuk kotak atau kemasan kertas yang dapat dimasukkan dengan mudah ke dalam kantong. Sejak beberapa tahun terakhir, bungkus-bungkus tersebut juga umumnya disertai pesan kesehatan yang memperingatkan perokok akan bahaya kesehatan yang dapat ditimbulkan dari merokok.

Jumlah kematian perokok menurut penelitian organisasi kesehatan dunia (WHO), setiap satu jam sebanyak 560 orang perokok meninggal. Tembakau sebagai kandungan utama rokok merupakan satu diantara kasus penyebab kematian terbesar dan penyebab kematian dini dalam sejarah manusia yang sesungguhnya dapat dicegah (Harborne,1973).

Nikotin merupakan komponen utama dalam rokok yang paling membahayakan kesehatan. Dari 1.420 merk rokok yang telah diuji di laboratorium hanya sekitar 528 merk yang mencantumkan kadar nikotin dan tar pada kemasan. pada umumnya industri yang tidak mencantumkan kadar nikotin merupakan produksi dari industri kecil dan menengah sedangkan untuk industri skala besar sudah mencantumkan kadar nikotin, dimana kadarnya pun telah sesuai dengan peraturan yang telah ditetapkan oleh pemerintah melalui Peraturan Pemerintah No. 81 Tahun 1999 tentang pengamanan rokok bagi kesehatan yakni 1,5 mg nikotin perbatang (PP No. 81, 1999). Pada industri rokok yang tidak berpita cukai belum melakukan hal tersebut dikarenakan mereka ingin menghindari pajak atau

bisa juga karena tidak mengetahui tentang kewajibannya, sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui kandungan nikotin dalam rokok tidak berpita cukai.

Analisis nikotin dapat dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dimana bercak sampel yang sesuai dengan bercak pembanding dikerok kemudian dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, selanjutnya diidentifikasi dengan spektrofotometri. Cara yang lebih baik untuk menganalisis nikotin yaitu dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), yaitu dengan menginjeksikan sampel melewati kolom (fase diam), dengan menggunakan pelarut yang sesuai sebagai fase geraknya (Clarke, 1969).

KCKT menjadi pilihan dalam menganalisis nikotin karena memiliki kelebihan antara lain mampu memisahkan zat berdasarkan perbedaan kepolarannya dengan baik, memiliki sensitivitas dan selektivitas tinggi sehingga dapat mendeteksi senyawa dengan kadar yang sangat kecil, yaitu dalam satuan mikro, kelebihan lain yaitu dapat dilakukan pada suhu kamar sehingga senyawa yang tidak tahan panas dapat dianalisa dengan metode ini (Gritter *et al.*, 1991).

Berdasarkan uraian diatas, ditemukan beberapa permasalahan yaitu tidak diketahuinya kadar nikotin pada rokok tidak berpita cukai, dan perlunya memastikan kadar nikotin pada rokok berpita cukai,serta apakah kedua jenis rokok tersebut memenuhi persyaratan maksimum yang ditetapkan oleh pemerintah.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kadar nikotin dan membandingkan dengan (PP No. 81, 1999) secara kualitatif dan kuantitatif pada sampel rokok berpita cukai maupun tidak berpita cukai yang diambil dari

pasar di pasar kota Bandung. Untuk itu nikotin dipisahkan dari tembakau dengan cara maserasi. Dilanjutkan dengan analisis kualitatif dan kuantitatif menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi.

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai kandungan kadar nikotin dalam beberapa sampel rokok yang tidak berpita cukai dengan yang berpita cukai yang di perdagangkan di kota Bandung.



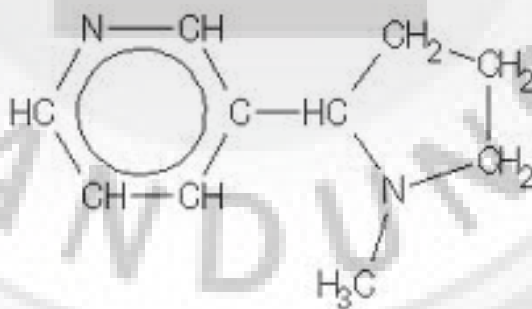
## BAB I

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1. Nikotin

##### 1.1.1. Sifat fisika kimia nikotin

Menurut *United States Pharmacopoeial* (2007) edisi 30, nikotin mengandung tidak kurang dari 99,9% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{10}H_{14}N_2$  dihitung dari zat yang kering. Nikotin mempunyai karakter berupa cairan berwarna coklat atau tidak berwarna, bersifat polar, terdiri dari atom C = 74,03% ; H = 8,7% dan N = 17,27%, nikotin mudah larut dalam air dan etanol. Nikotin merupakan alkaloid alam yang berbentuk cairan dan dan mudah menguap. Nikotin mempunyai rumus molekul  $C_{10}H_{14}N_2$ , dengan berat molekul 162,23. Nikotin mempunyai struktur kimia sebagai berikut :



**Gambar I.1** Struktur Kimia Nikotin (United States Pharmacopoeial, 2007)

### 1.1.2. Persyaratan rokok

Beberapa persyaratan mengenai pengawasan kandungan rokok dalam hubungannya dengan kesehatan antara lain (BPOM, 2004) :

1. Setiap orang yang memproduksi rokok wajib melakukan pemeriksaan kadar nikotin dan tar pada setiap hasil produksinya.
2. Wajib mencantumkan kadar nikotin dan tar pada label dengan penempatan yang jelas dan mudah dibaca, dibuat kotak dan garis pinggir hitam 1 mm dengan dasar kotak berwarna terang, dan tulisan yang digunakan berwarna hitam dengan ukuran 3 mm.
3. Wajib mencantumkan kode produksi pada setiap kemasan rokok dan mencantumkan tulisan peringatan kesehatan pada label di bagian kemasan rokok yang mudah terlihat dibaca.
4. Peringatan kesehatan pada label harus berbentuk tulisan berbunyi :  
“Merokok dapat menyebabkan kanker, serangan jantung, impotensi, gangguan kehamilan dan janin”. Perubahan atau penambahan tulisan peringatan tersebut ditetapkan lebih lanjut oleh Menteri Kesehatan.
5. Tulisan peringatan kesehatan dicantumkan dengan jelas pada label di bagian kemasan yang mudah dibaca dan dilihat, yaitu pada kemasan sisi lebar, dibuat kotak dengan garis hitam 1 mm dengan dasar kotak berwarna terang, dan tulisan menggunakan warna hitam dengan ukuran 3 mm.
6. Dilarang menggunakan tembakau yang tidak memenuhi persyaratan kesehatan, yang ditetapkan oleh Menteri Kesehatan.

7. Tembakau yang digunakan harus diolah agar kadar nikotin dan tar pada produk yang dihasilkan memenuhi persyaratan. Untuk itu menteri yang bertanggung jawab di bidang perkebunan atau pertanian menggerakkan dan mendorong digunakannya ilmu pengetahuan dan teknologi untuk menghasilkan tembakau dengan kadar nikotin dan tar yang sesuai persyaratan.
8. Produk rokok impor harus memenuhi kadar nikotin dan tar serta tanda peringatan kesehatan yang dipersyaratkan di atas.
9. Semua produk rokok sebelum diedarkan wajib didaftarkan pada departemen yang bertanggung jawab di bidang kesehatan dengan pembuktian kadar nikotin dan tar yang memenuhi ketentuan. Hal ini berlaku bagi setiap orang yang memproduksi atau memasukkan rokok ke wilayah Indonesia. Tata cara pendaftaran diatur oleh Keputusan Menteri.
10. Iklan dan promosi hanya dapat dilakukan oleh orang yang memproduksi rokok dan atau yang memasukkan rokok dalam wilayah Indonesia.
11. Materi iklan yang dilarang:
  - a) Merangsang dan menyarankan untuk merokok.
  - b) Menggambarkan atau menyarankan bahwa merokok memberikan manfaat bagi kesehatan.
  - c) Memperagakan atau menggambarkan dalam bentuk gambar, tulisan atau gabungan keduanya, rokok atau orang sedang merokok, atau orang yang mengarah sedang merokok.

- d) Ditujukan terhadap atau menampilkan dalam bentuk gambar atau tulisan anak dan atau wanita hamil.
  - e) Mencantumkan nama produk yang bersangkutan adalah rokok.
12. Iklan harus mencantumkan peringatan bahaya rokok bagi kesehatan yang ditetapkan, yang ditulis dengan huruf yang jelas sehingga mudah terbaca dan dalam ukuran yang proporsional disesuaikan dengan ukuran iklan tersebut.

### **1.2. Ekstrak Tembakau**

Ekstrak tumbuhan merupakan material yang diperoleh dengan cara menyari bahan tumbuhan dengan pelarut tertentu. Ekstrak tembakau merupakan material yang berasal dari tumbuhan tembakau yang diperoleh dengan cara menyari tumbuhan tembakau dengan pelarut yang sesuai (Saifudin, 2011). Ditinjau dari suhu, ekstraksi dibagi menjadi dua golongan yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Ekstraksi panas misalnya refluks, sedangkan ekstraksi dingin yaitu maserasi. Pada penelitian ini, ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, yaitu dengan merendam tembakau yang telah dipisahkan dari filter dan kertas pembungkus rokok dalam etanol selama 24 jam (Hendayana, 1994).

### **1.3. Kromatografi**

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen (berupa molekul) yang berada pada larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak, akan melewati kolom yang merupakan fase diam. Molekul yang



memiliki ikatan yang kuat dengan kolom akan cenderung bergerak lebih lambat dibanding molekul yang berikatan lemah. Dengan ini, berbagai macam tipe molekul dapat dipisahkan berdasarkan pergerakan pada kolom. Setelah komponen terelusi dari kolom, komponen tersebut dapat dianalisa dengan menggunakan detektor atau dapat dikumpulkan untuk analisa lebih lanjut (Sudjadi, 2007;379).

### **1.3.1. Kromatografi cair kinerja tinggi**

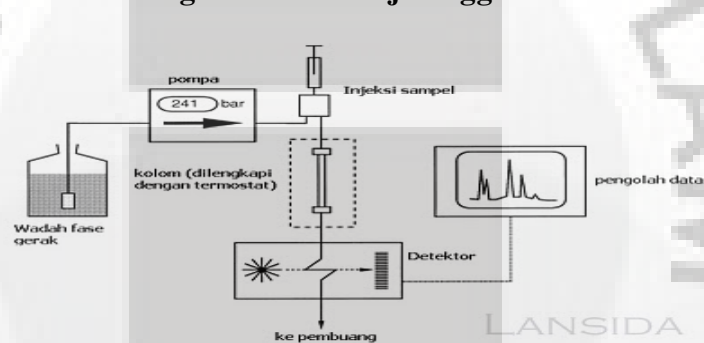
Kromatografi cairan kinerja tinggi merupakan salah satu teknik pemisahan campuran secara modern. Teknik KCKT ini merupakan salah satu teknik kromatografi cair-cair, yang dapat digunakan baik untuk keperluan pemisahan maupun analisis kuantitatif. Analisis kuantitatif dengan teknik KCKT didasarkan pada pengukuran luas area puncak analit dalam kromatogram, dibandingkan dengan luas area standar. Pada prakteknya, perbandingan kurang menghasilkan data yang akurat bila hanya melibatkan satu standar. Oleh karena itu, maka perbandingan dilakukan dengan menggunakan teknik kurva kalibrasi (Hendayana, 2006: 83-85).

Kelebihan KCKT antara lain (Putra, 2004:8):

1. Mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran
2. Resolusinya baik
3. Mudah melaksanakannya
4. Kecepatan analisis dan kepekaannya tinggi
5. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis
6. Dapat digunakan bermacam-macam detector
7. Kolom dapat digunakan kembali

8. Mudah melakukan *recovery* cuplikan
9. Tekniknya tidak begitu tergantung pada keahlian operator dan reproduibilitasnya lebih baik
10. Instrumennya memungkinkan untuk bekerja secara otomatis dan kuantitatif
11. Waktu analisis umumnya singkat
12. Kromatografi cair preparatif memungkinkan dalam skala besar
13. Ideal untuk molekul besar dan ion

### 1.3.2. Instrumen kromatografi cair kinerja tinggi



**Gambar1.2** Diagram skematik alat kromatografi cair kinerja tinggi (Rohman, 2009)

#### a) Fasa gerak

Fasa gerak dalam KCKT adalah berupa zat cair dan disebut juga eluen atau pelarut. Berbeda dengan kromatografi gas, KCKT mempunyai lebih banyak pilihan fasa gerak dibandingkan dengan fasa gerak untuk kromatografi gas. Dalam kromatografi gas, fasa gerak hanya sebagai pembawa solut melewati kolom menuju detektor. Sebaliknya dalam KCKT, fasa gerak selain berfungsi membawa komponen-komponen campuran menuju detektor. Fasa gerak dapat berinteraksi dengan solut. Oleh karena itu, fasa gerak dalam KCKT

merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan proses pemisahan. Persyaratan fasa gerak KCKT dimana zat cair yang akan digunakan sebagai fasa gerak KCKT harus memenuhi persyaratan sebagai berikut (Hendayana, 2006: 83-85) :

1. Zat cair harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk cuplikan yang akan di analisis.
2. Zat cair harus murni sekali untuk menghindari masuknya kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram.
3. Zat cair harus jernih sekali untuk menghindari penyumbatan pada kolom.
4. Zat cair harus mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun.
5. Zat cair tidak kental.
6. Sesuai dengan detektor.

Fasa gerak untuk kromatografi partisi, adsorpsi, dan penukar ion bersifat interaktif dalam arti fasa gerak berinteraksi dengan komponen-komponen cuplikan. Akibatnya, waktu retensi sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut. Sebaliknya fasa gerak untuk kromatografi eksklusi bersifat non interaktif. Oleh karena itu, waktu retensi dengan kromatografi ini tidak bergantung pada komposisi fasa gerak (Hendayana, 2006: 83-85).

b) Pompa

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat,

reproduksibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis pompa dalam KCKT yaitu: pompa dengan tekanan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan. Tipe pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan (Gandjar dan Rohman, 2007: 382-383).

c) Unit sistem penyuntikan sampel

Kadang kala, faktor ketidaktepatan pengukuran KCKT terletak pada keterulangan pemasukan cuplikan ke dalam pengepakan kolom. Masalahnya, kebanyakan memasukan cuplikan ke dalam kolom dapat menyebabkan pelebaran pita. Oleh karena itu, cuplikan yang dimasukkan harus sekecil mungkin kurang lebih beberapa puluh mikroliter. Selain itu, perlu diusahakan tekanan tidak menurun ketika memasukan cuplikan ke dalam aliran fasa gerak. Berikut beberapa teknik pemasukan cuplikan ke dalam sistem KCKT :

1. Injeksi

Jarum disuntikkan melalui septum (*seal* karet) dan untuk ini dirancang jarum yang tahan tekanan sampai 1500 psi. Akan tetapi keterulangan injeksi jarum ini sedikit lebih baik dari 2-3% dan bahkan sering lebih jelek (Hendayana, sumar, 2006; 89).

2. Injeksi *stop-flow*

Injeksi *stop-flow* adalah jenis injeksi syringe kedua tapi di sini aliran pelarut dihentikan, sementara sambungan pada ujung kolom dibuka dan cuplikan disuntikan langsung ke dalam ujung kolom. Setelah

menyambungkan kembali kolom maka pelarut dialirkan kembali (Hendayana, 2006; 89).

d) Kran cuplikan

Jenis pemasukan cuplikan ini disebut juga putaran dan paling banyak digunakan. Untuk memasukkan cuplikan ke dalam aliran fasa gerak perlu dua langkah (Hendayana, 2006; 93):

1. Sejumlah volume cuplikan disuntikkan ke dalam loop dalam posisi 'load', cuplikan masih berada dalam putaran.
2. Kran diputar untuk mengubah posisi 'load' menjadi posisi 'injeksi' dan fasa gerak membawa cuplikan ke dalam kolom. putaran dapat diganti-ganti dan tersedia berbagai ukuran volume dari 5 - 500 $\mu$ L. Dengan sistem pemasukan cuplikan ini memungkinkan memasukkan cuplikan pada tekanan 7000 psi dengan ketelitian tinggi. putaran mikro tersedia dengan volume 0,5 hingga 5  $\mu$ L.

e) Kolom KCKT

Biasanya terbuat dari stainless steel walaupun ada juga yang terbuat dari gelas berdingding tebal. Kolom utama berisi fase diam, tempat terjadinya pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya (Hendayana, 2006: 91)

f) Detektor

Berbagai detektor untuk KCKT telah tersedia, walaupun demikian detektor harus memenuhi persyaratan seperti cukup sensitif, stabilitas dan

keterulangan tinggi, respon linear terhadap solut, waktu respon pendek sehingga tidak bergantung kecepatan alir, realibilitas tinggi dan mudah digunakan, tidak merusak cuplikan. Detektor KCKT dikelompokkan ke dalam tiga jenis, yaitu: detektor umum memberi respon terhadap fasa gerak yang dimodulasi dengan adanya solut. Detektor spesifik memberi respon terhadap beberapa sifat solut yang tidak dimiliki oleh fasa gerak. Detektor yang bersifat umum terhadap solut setelah fasa gerak dihilangkan dengan penguapan. Detektor berdasarkan absorpsi UV merupakan detector KCKT yang paling banyak di pakai. Detektor elektro kimia paling banyak dipakai terutama dalam KCKT penukar ion (Hendayana, 2006: 93).

g) Mekanisme kerja KCKT

Mula-mula solven diambil melalui pompa. Solven ini kemudian masuk kedalam katup injeksi berputar yang dipasang tepat pada sampel putaran. Dengan pertolongan *micro syring*, sampel dimasukkan ke dalam sampel putaran yang kemudian bersama-sama dengan solven masuk ke dalam kolom. Hasil pemisahan dideteksi oleh detektor dimana penampakannya ditunjukkan oleh perekam. Tekanan solven di atur dengan pengatur dan pengukur tekanan. Pompa pemasuk solven pada tekanan konstan hingga tekanan kurang lebih 4500 psi dengan laju alir rendah yaitu beberapa milliliter per menit. Rekorder menghasilkan kromatogram zat-zat yang dipisahkan dari suatu sampel. Tahap pemekatan dengan ekstraksi solven dan penguapan untuk memperkecil volume sering kali diperlukan sebelum pengerjaan sampel dengan KCKT. Hal ini terutama sering dilakukan untuk analisis

senyawa-senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) atau residu pestisida dalam makanan. Sebagai alternatif lain, sampel air dapat diabsorpsi oleh suatu adsorben padat (C8 atau C18 yang terikat pada silika gel), diikuti dengan desorpsi dalam suatu solven yang kemudian langsung dimasukkan ke dalam kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

#### 1.4. Uji Kesesuaian Sistem

Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi masalah analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi ketika metode baru dikembangkan untuk mengatasi masalah analisis, tertentu atau metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar dua metode seperti antara metode baru dan metode baku (Rohman, 2009 :222-230)

#### 1.5. Parameter Validasi

##### 1.5.1 Presisi

Presisi atau keseksamaan merupakan ukuran kedekatan antar serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel homogen yang sama. Konsep presisi diukur dengan simpangan baku. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup simpangan baku, simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (KV) (Rohman, 2006:225).

Nilai RSD dirumuskan dengan :

$$\text{RSD} = \frac{SD}{X} \times 100 \quad (1)$$

$$X = \frac{\sum X_n}{n} \quad (2)$$

dimana :

$X_n$  = sampel ke-n

$X$  = rata-rata (mean) dari pengukuran sampel

$n$  = jumlah sampel

Data untuk menguji presisi seringkali dikumpulkan sebagai bagian kajian-kajian lain yang berkaitan dengan presisi seperti linieritas atau akurasi. Biasanya pengukuran dilakukan 6-15 pada sampel tunggal untuk tiap-tiap konsentrasi. Pada pengujian KCKT, nilai RSD antara 1-2% biasanya dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah banyak, sedangkan untuk senyawa-senyawa aktif dengan kadar dalam jumlah sedikit RSD berkisar antara 5-15% (Rohman, 2009; 222-230).

Presisi merupakan ukuran kedekatan antara serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel yang homogen. Presisi dapat di bagi lagi menjadi 2 atau 3 kategori. Komisi eropa membagi presisi kedalam keterulangan dari ketertiruan (Rohman, 2009: 222-230). Kategori tersebut antara lain:

1. Keterulangan

Merupakan ketepatan pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orang, peralatan, tempat maupun waktu.

2. Presisi antara

Merupakan ketepatan pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda, baik orang, peralatan, tempat maupun waktu.



### 3. Reprodusibilitas

Merupakan ketepatan pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya maupun waktunya.

#### 1.5.2. Akurasi

Akurasi atau kecermatan merupakan kedekatan antara nilai terukur (nilai rata-rata hasil analisis) dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya, baik nilai konvensi, nilai sebenarnya ataupun nilai rujukan. Nilai akurasi juga dapat dijadikan sebagai petunjuk kesalahan sistematik (Rohman, 2009:222-230).

Penentuan ketepatan dan kadar teoritis dari jumlah tertentu senyawa standar yang sengaja ditambahkan kedalam sampel. Harga perbandingan ini disebut persen perolehan kembali. Nilai keterimaan adalah  $RSD < 2\%$  dan nilai perolehan kembali antara 928-102% (Rohman, 2009: 222-230).

#### 1.5.3. Linearitas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proposional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan, intersep dan koefisien relasinya (Rohman, 2009: 222-230).

#### 1.5.4. Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi diartikan sebagai kuantitasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi criteria cermat dan seksama (Harmita, 2004)

$$Q = \frac{K.Sb}{b} \quad (1)$$

Dimana :

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K = untuk LOD adalah 3 dan untuk LOQ adalah 10

Sb = simpangan baku residual

B = arah garis linear (slope) dari kurva antara respon terhadap  $y = bx + a$

Batas deteksi kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi (Rohman, 2009: 222-230).

Batas deteksi (LOD)

$$Q = \frac{3.Sb}{b} \quad (2)$$

Batas kuantitasi

$$Q = \frac{10.Sb}{b} \quad (3)$$

Simpangan baku (Sb) =  $Sy/x$  atau disebut juga simpangan baku residual

### 1.5.5. Uji Tailing

Uji kesesuaian sistem dilakukan terhadap sampel dengan standar internal dalam fasa gerak, kemudian disuntikkan sebanyak 20  $\mu\text{l}$  ke dalam alat KCKT pada kondisi optimum. Percobaan diulang sebanyak enam kali ( $n = 6$ ). Dari kromatogram yang diperoleh ditentukan keterulangan penyuntikan larutan baku yang dinyatakan dengan KV dari waktu retensi, dan rasio tinggi puncak, *tailing* faktor (Hendayana, 2006).

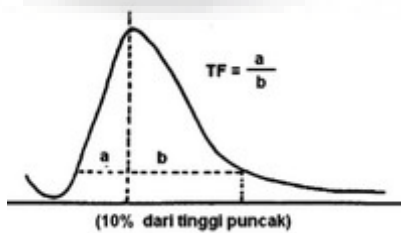
#### a) Waktu retensi ( $t_R$ )

Waktu retensi ( $t_R$ ) adalah ukuran waktu mulai injeksi cuplikan hingga suatu komponen campuran keluar kolom, dengan kata lain waktu yang diperlukan oleh suatu komponen campuran (solut) untuk keluar dari kolom. Waktu retensi diukur melalui kromatogram dari menit ke-0 hingga muncul peak (Hendayana, 2006:11)

#### b) Resolusi

Tujuan utama dari kromatografi adalah memisahkan komponen-komponen campuran secara sempurna. Derajat pemisahan dua komponen campuran dalam proses kromatografi dinyatakan dengan istilah resolusi ( $R_s$ ) (Hendayana, 2006:16)

#### c) Tailing factor (faktor asimetris)



**Gambar 1.3** Tailing faktor (Hendayana, 2006)

Jika puncak yang akan dikuantifikasi adalah asimetri (tidak setangkup), maka suatu perhitungan asimetrisitas merupakan cara yang berguna untuk mengontrol atau mengkarakterisasi sistem kromatografi. Puncak asimetri muncul karena berbagai faktor. Peningkatan puncak yang asimetri akan menyebabkan penurunan resolusi, batas deteksi, dan presisi (Hendayana, 2006:17).

