

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini akan dianalisis nikotin pada tembakau rokok berpita cukai dan rokok tidak berpita cukai yang dijual di pasar tradisional dengan menggunakan KCKT. Metode penelitian yang dilakukan meliputi: pemilihan sampel, penyiapan alat serta pengujian kesesuaian sistem KCKT, penyiapan larutan baku, penentuan kondisi optimum KCKT, verifikasi metode KCKT, preparasi sampel dan penetapan kadar nikotin dalam sampel menggunakan KCKT.

Langkah pertama yang dilakukan adalah pengambilan sampel pada tanggal 25 November 2013. Sampel diperoleh dari pasar tradisional dengan mengambil beberapa sampel rokok berpita cukai dan tidak berpita cukai, kemudian dilakukan maserasi untuk memisahkan tembakau dan menghasilkan ekstrak nikotin. Setelah itu dilakukan penyiapan alat kromatografi cair kinerja tinggi. Sistem KCKT disesuaikan untuk memilih kondisi optimum kromatografi sehingga menghasilkan kromatogram dengan waktu retensi (t_R), waktu analisis dan resolusi yang baik. Langkah berikutnya dilakukan verifikasi metode. Verifikasi metode bertujuan untuk memastikan metode yang digunakan dalam penelitian ini memiliki keakurasian dan presisi yang baik. Verifikasi ini meliputi pembuatan kurva kalibrasi dan kepekaan metode, penentuan keseksamaan, dan penentuan perolehan kembali.

Analisis kualitatif dan kuantitatif pada rokok berpita cukai dan tidak berpita cukai dilakukan dengan metode KCKT. Analisis dilakukan menggunakan fase gerak air (dengan dapar amonium asetat) dan asetonitril. Sebelum penyuntikan sampel dilakukan uji terhadap baku pembanding (nikotin murni) dengan perbandingan eluen 95 : 5. Setelah itu dilakukan uji terhadap sampel dengan perbandingan eluen yang sama dengan yang digunakan pada baku pembanding. Laju alir yang digunakan yaitu 0,5 ml/menit, dan detector yang digunakan adalah detektor UV dengan fase diam kolom C18 dan volume penyuntikan 20 μ l.

Penentuan akurasi dilakukan dengan cara menghitung nilai presentase perolehan kembali nikotin yang ditambahkan pada sampel pembanding nikotin dengan konsentrasi yang telah ditentukan, sedangkan penentuan linieritas dilakukan untuk mengetahui hubungan luas area (y) dengan 5 konsentrasi yang telah ditentukan (x) yakni dengan melihat nilai koefisien korelasi (r) dan koefisien variansi (V_{XO}). Lalu dilakukan pengujian kesesuaian sistem dengan menggunakan larutan standar nikotin yang diinjeksikan sebanyak 7 kali pada KCKT, kemudian dilihat luas area, waktu retensi, nilai resolusi, dan faktor ikutan (*tailing factor*) dan dihitung nilai simpangan baku residual (SBR).