

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menguji kadar nikotin yang terkandung dalam tembakau rokok, proses awal yang dilakukan adalah melakukan ekstraksi tembakau tersebut terlebih dahulu. Proses ekstraksi ini bertujuan untuk memisahkan nikotin dari tembakau yang terdapat pada rokok. Dalam penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode ini dipilih karena proses dan cara pengerjaannya relatif mudah dan dapat dilakukan pada suhu kamar serta cukup efektif untuk memisahkan nikotin dari tembakau. Proses maserasi ini dilakukan dengan merendam tembakau rokok dengan pelarut etanol. Pelarut etanol digunakan untuk maserasi karena etanol memiliki sifat kepolaran yang hampir sama dengan kepolaran nikotin.

Sampel 1 sebanyak 16 batang yang berasal dari tembakau rokok berpita cukai yang dipisahkan dari filter dan kertas pembungkus rokok, kemudian tembakau ditimbang dan didapatkan hasil sebanyak 13,116 gram, lalu proses selanjutnya direndam dalam etanol sebanyak 250 ml, rendaman ini didiamkan selama 3 hari. Untuk sampel 2 yang berasal dari tembakau rokok yang tidak berpita cukai ditimbang dengan berat yang sama yaitu 13,116 gram dan direndam dalam etanol sebanyak 250 ml selama 3 hari. Dari hasil maserasi diperoleh ekstrak etanol, kemudian ekstrak etanol tersebut masing – masing diambil sebanyak 200 ml dan dilakukan proses evaporasi yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut etanol. Hasil evaporasi berupa ekstrak kental diuapkan menggunakan penangas

dengan tujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam ekstrak kental tersebut.

5.1. Orientasi Fase Gerak

Orientasi fase gerak dilakukan menggunakan akuabidestilata (dengan dapar amonium asetat pH 5) : asetonitril. Pada pengujian ini amonium asetat pH 5 berfungsi untuk mengendalikan keasaman sistem sehingga dapat menahan ionisasi analit dan dapat memberikan pemisahan dengan resolusi yang baik serta puncak yang tajam. Optimasi dilakukan menggunakan baku pembanding nikotin dengan konsentrasi 100 ppm dengan beberapa variasi perbandingan fase gerak yaitu 80:20, 90:10, 95:5. Dari hasil orientasi tersebut didapat perbandingan yang memberikan hasil yang terbaik yaitu akuabidestilata (dengan dapar amonium asetat pH 5) : asetonitril yang ditandai dengan munculnya satu puncak yang tajam. Tujuan dilakukannya optimasi fase gerak yaitu untuk mengetahui pemisahan campuran analit secara tepat yang ditunjukkan oleh kromatogram. Dari kromatogram dapat dilihat waktu retensi yang dicapai tidak terlalu cepat dan juga tidak terlalu lama untuk mencapai 1 puncak yang tinggi dan tajam dari larutan pembanding tersebut yaitu pada waktu retensi (t_R) 6.363 menit dengan waktu elusi 30 menit. Kromatogram hasil orientasi fase gerak dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

5.2. Analisis Nikotin Dengan KCKT

Dalam penelitian ini, metode yang digunakan untuk menguji kadar nikotin dari hasil ekstraksi tembakau rokok adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Metode ini digunakan karena memiliki banyak kelebihan antara

lain yaitu proses dan pengerjaannya mudah, waktu pengerjaannya relatif singkat, dapat dilakukan dalam skala laboratorium dan hasil pemisahan lebih akurat dibandingkan dengan metode lain, tanpa harus melakukan pemurnian sampel terlebih dahulu hal ini dimungkinkan karena antara pengotor dan senyawa yang akan dihitung kadarnya dapat terpisah dengan baik berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran yang dapat dilihat dari waktu retensi masing-masing. Verifikasi metode bertujuan untuk membuktikan apakah suatu metode yang digunakan dalam menganalisis sampel masih dapat bekerja dengan baik sehingga dapat memberikan kepastian bahwa metode tersebut masih memenuhi persyaratan. Parameter analisis yang digunakan, yaitu: linearitas, akurasi dan presisi.

Langkah selanjutnya adalah pembuatan larutan baku, pembuatan larutan baku ini dilakukan dengan seakurat mungkin, karena hasil konsentrasi larutan baku nikotin ini akan digunakan sebagai pembanding untuk menghitung kadar dari nikotin yang terkandung dari sampel. Untuk larutan baku (1000 ppm), nikotin baku ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dalam Asetonitril pro KCKT ke dalam labu ukur 25 ml. Setelah itu dibuat larutan baku dengan konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm dan 140 ppm. Setelah preparasi baku dan sampel alat KCKT diatur kondisinya sesuai dengan literatur yang digunakan untuk mengukur kadar nikotin. Dengan menggunakan data dari literatur dan dilakukan akurasi serta presisi, kondisi analisis yang digunakan yaitu fase gerak akuabidestilata (dengan dapar amonium asetat pH 5) : asetonitril (95:5), fase diam yang digunakan kolom C18, laju alir 0,5 ml/menit. Parameter yang diukur dari sampel yang diinjeksikan yaitu luas area dan waktu retensi.

Konsentrasi nikotin dapat dihitung dengan cara memasukkan luas area sampel yang terukur sebagai variabel y ke dalam persamaan regresi $y = bx + a$. Persamaan ini diperoleh dari pembuatan kurva baku nikotin. Dari kurva baku ini diperoleh nilai a dan b , dengan y sebagai luas area, sedangkan x adalah kadar nikotin dalam sampel yang diukur. Kurva baku ini dibuat dengan menginjeksikan larutan baku nikotin dengan berbagai konsentrasi ke alat KCKT. Pada kromatogram sampel, terdapat puncak pada waktu 5 menit, puncak yang terdeteksi tersebut adalah puncak dari zat pengotor yang tidak tersaring. Walaupun terdapat puncak selain puncak nikotin yang terdapat dalam sampel, hal tersebut tidak terlalu mengganggu karena puncaknya terpisah cukup baik dan puncaknya sangat kecil sehingga tidak mempengaruhi luas area nikotin.

Waktu retensi nikotin 6363 menit; sedangkan waktu retensi pengotor muncul kurang dari 6363 menit. Dalam hal ini pengotor terdeteksi lebih awal hal ini disebabkan karena pengotor kemungkinan mempunyai sifat yang sedikit sama kepolarannya atau bahkan lebih polar. Pada penelitian ini digunakan KCKT fasa terbalik, dimana fase diamnya menggunakan kolom C18 yang bersifat kurang polar dibanding fase terbaliknya, sehingga senyawa yang lebih polar akan terdeteksi lebih awal.

Dengan menggunakan metode KCKT, kadar nikotin yang diperoleh yaitu sebesar 23,38 mg/16 batang atau 1,46 mg/batang untuk yang berpita cukai dan 11,8 mg/13,116 gr atau 0,89 mg/batang untuk rokok yang tidak berpita cukai.

5.3. Kinerja Analitik

Kinerja analitik merupakan suatu proses evaluasi untuk menjamin kesesuaian persyaratan metode analisis yang digunakan. Kinerja analisis yang digunakan yaitu linieritas, akurasi, dan presisi.

5.3.1. Linearitas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Dari baku nikotin dibuat larutan stok 1000 ppm dan dibuat deret penggunaan larutan standar sebesar 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm. Lalu diinjekkan kedalam alat KCKT. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). dalam penggunaan kurva kalibrasi menghasilkan luas area setiap konsentrasinya dan luas area tersebut berbanding lurus dengan konsentrasi, sehingga semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula luas area yang dihasilkan. Dari hasil pengukuran dibuat kurva luas area puncak terhadap konsentrasi, kemudian dihitung koefisien korelasi (R^2) < 1, persamaan regresi $y = 437747,21x + 4466283,2$ dengan koefisien korelasi $R^2 = 0,998$. Berdasarkan teori nilai r yang bagus yaitu mendekati 1 atau 0,995. Karena nilai r menunjukkan kualitas metode yang kita gunakan untuk melihat respon pada luas area terhadap konsentrasi yang digunakan. Dari pengukuran tersebut didapat standar deviasi (S_{x_0}) sebesar 1,548292 dan koefisien variansi (V_{x_0}) sebesar 1,54% hal ini koefisien variansi memenuhi syarat dikarenakan < 2 %. Data hasil linieritas dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

5.3.2. Akurasi

Akurasi menunjukkan kedekatan nilai hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya. Untuk menentukan tingkat akurasi perlu diketahui nilai sebenarnya dari parameter yang diukur dan kemudian dapat diketahui seberapa besar tingkat akurasinya (Harmita, 2004 : 117). Dalam hal ini yang digunakan adalah nilai akurasi dengan metode standar adisi.

Ekstrak sampel ditambahkan dengan baku nikotin dan dibuat konsentrasi masing-masing 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm. Setelah itu diinjeksi pada KCKT masing-masing 3 kali. Dari hasil perhitungan diperoleh rata-rata *percent recovery* masing-masing 80 ppm sebesar 90,07785 %; 100 ppm sebesar 107,28684 %; 120 ppm sebesar 95,428043 %. Syarat *percent recovery* diatas tidak memenuhi syarat karena rentangnya 98-102 %. Hal ini kemungkinan disebabkan faktor pengotomya terlalu banyak atau bisa terjadi ketidakteelitian dalam proses pengenceran. Data hasil akurasi dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

5.3.3. Presisi

Presisi menunjukkan tingkat reliabilitas dari data yang diperoleh. Hal ini dapat dilihat dari standar deviasi yang diperoleh dari pengukuran (Harmita, 2004 : 121). Presisi yang baik akan memberikan standar deviasi yang kecil dan bias yang rendah. Konsentrasi 100 ppm yang telah di tambahkan dengan fase gerak diinjeksi ke KCKT sebanyak 6 kali. Dari perhitungan simpangan baku residual (SBR) dari data hasil yang didapat 1,70 %. Menurut teori hasil RSD yang baik yaitu $\leq 2\%$. Dengan demikian nilai RSD yang didapat memenuhi ketentuan. Data hasil presisi dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

5.3.4. Uji kesesuaian sistem

UKS bertujuan untuk menentukan sistem analisis beroperasi secara benar atau tidak. Hal ini dilakukan dengan cara menginjeksi sampel 100 ppm sebanyak 7 kali ke KCKT. Dari hasil ini dihitung simpangan baku residual (SBR), didapat hasil luas area sebesar 1,95 % sedangkan SBR waktu retensi sebesar 0,08 %. Dilihat dari hasil tersebut sistem kromatografi dapat memenuhi syarat karena SBR luas area dan SBR waktu retensi tidak melebihi 2%. Data hasil uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

5.3.5. Batas deteksi dan kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Dari hasil pengujian dan perhitungan didapat batas deteksi sebesar 4,65 ppm dan batas kuantitasi sebesar 15,5 ppm. Data hasil batas deteksi dan kuantitasi dapat dilihat pada **Lampiran 5**.