

**REVIEW ARTIKEL: OPTIMASI SISTEM KCKT UNTUK ANALISIS KAFEIN DAN  
EPIKATEKIN**

**Laporan Tugas Akhir**

**Mira Eka Putri Rahmasari  
11161095**



**Universitas Bhakti Kencana  
Fakultas Farmasi  
Program Strata I Farmasi  
Bandung  
2020**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**REVIEW ARTIKEL: OPTIMASI SISTEM KCKT UNTUK ANALISIS  
KAFEIN DAN EPIKATEKIN**

**Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Mira Eka Putri Rahmasari  
11161095**

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Emma Emawati, S.T., M.Si.)



(apt. Winasih Rachmawati, M.Si.)

## **ABSTRAK**

### **REVIEW ARTIKEL: OPTIMASI SISTEM KCKT UNTUK ANALISIS KAFEIN DAN EPIKATEKIN**

Oleh :

**Mira Eka Putri Rahmasari**

**11161095**

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah teknik yang banyak digunakan untuk pemisahan kafein dan epikatekin. Secara umum, waktu pemisahan relatif panjang yaitu 40–105 menit sehingga memerlukan optimasi sistem KCKT agar mendapatkan waktu pemisahan yang cepat dan bentuk kromatogram yang baik. Review artikel ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimasi sistem KCKT untuk analisis kafein dan epikatekin. Penelusuran jurnal menggunakan kata kunci epikatekin, kafein, dan KCKT dengan menggunakan *search engine* berupa *PubMed* dan *Google Scholar*. Hasil review yaitu fase gerak yang digunakan untuk pemisahan kafein dan epikatekin bersifat polar yaitu campuran air, metanol dan asetonitril sedangkan fase diam bersifat nonpolar yaitu C18 dengan laju alir yaitu 0.4-1.4 mL/menit dalam kondisi asam. Keberhasilan pemisahan kafein dan epikatekin dengan KCKT dipengaruhi oleh kondisi operasional alat, laju alir, komposisi fase gerak dan pH fase gerak.

Kata kunci: Epikatekin, Kafein, KCKT

## **ABSTRACT**

### **REVIEW ARTICLE: OPTIMIZATION OF THE HPLC SYSTEM FOR ANALYSIS OF CAFFEINE AND EPICATECHIN**

**By :**

**Mira Eka Putri Rahmasari**

**11161095**

*High performance liquid chromatography is a widely used technique for the separation of caffeine and epicatechin. In general, the separation time is relatively long, namely 40–105 minutes so that it requires optimization of the HPLC system in order to obtain a fast separation time and a good chromatogram shape. This review article aims to determine the optimization conditions of the HPLC system for caffeine and epicatechin analysis. Journal searches use the keywords epicatechin, caffeine, and HPLC using search engines such as PubMed and Google Scholar. The result of the review is that the mobile phase used for separating caffeine and epicatechin is polar, such as a mixture of water, methanol and acetonitrile, while the stationary phase is nonpolar namely C18 with a flow rate of 0.4-1.4 mL/minute in acidic conditions. The success of separating caffeine and epicatechin with HPLC is influenced by the operational conditions of the equipment, flow rate, mobile phase composition and pH of the mobile phase.*

*Keywords: Epicatechin, Caffeine, HPLC*

## KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang. Penulis memanjatkan puji syukur atas kehadiran-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir ini dengan judul **“Review Artikel: Optimasi Sistem KCKT Untuk Analisis Kafein Dan Epikatekin”**.

Menyadari adanya keterbatasan ilmu yang penulis miliki, maka laporan tugas akhir ini jauh dari kesempurnaan. Tetapi walaupun demikian, penulis berusaha sesuai dengan kemampuan yang penulis miliki di dalam penyelesaian laporan tugas akhir. Akhirnya dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga atas segala bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini, kepada yang terhormat:

1. Kedua orangtua tercinta, Ibunda Nur Rokhmah dan Ayahanda Sarijo yang telah menjadi orangtua terhebat dan selalu memberikan kasih sayang, do'a, nasihat dan dukungan selama kuliah di Universitas Bhakti Kencana.
2. Ketua Prodi, Sekretaris jurusan, Dekan Fakultas farmasi, Dosen Pengajar, Seluruh staff dan karyawan Universitas Bhakti Kencana Bandung.
3. Ibu Emma Emawati, S.T., M.Si. dan Ibu apt. Winasih Rachmawati, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang membangun kepada penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.
4. Sahabat-sahabatku (ACC) Amal, Diah, Erna, Fifi, Lisna, dan Nengsih selaku sahabat penulis yang tak pernah hentinya selalu memberikan semangat, dorongan, dan motivasi baik selama perjuangan masa kuliah ataupun selama masa penulisan laporan tugas akhir.

Penulis menyadari atas segala kekurangan dan kelemahan dalam penulisan dan penyusunan laporan tugas akhir, baik dari segi materi dan mungkin juga segi bahasa serta penyajiannya. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis akan diterima dengan lapang dada demi perbaikan dan penyempurnaan penulisan laporan tugas akhir ini.

Bandung, Agustus 2020

Mira Eka Putri Rahmasari

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG</b> .....	vii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>I.1 Latar belakang</b> .....	1
<b>1.2. Rumusan masalah</b> .....	2
<b>1.3. Tujuan dan manfaat penelitian</b> .....	2
<b>1.4. Hipotesis penelitian</b> .....	2
<b>1.5. Tempat dan waktu Penelitian</b> .....	2
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	3
<b>II.1 Kafein</b> .....	3
<b>II.2 Epikatekin</b> .....	3
<b>II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi</b> .....	4
<b>II.4 Instrumen KCKT</b> .....	5
<b>II.5 Validasi Metode Analisis</b> .....	6
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	10
<b>BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN</b> .....	11
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	12
<b>V.1 Hasil</b> .....	12
<b>V.2 Pembahasan</b> .....	16
<b>BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	19
<b>V.1 Simpulan</b> .....	19
<b>V.2 Saran</b> .....	19
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	20

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Uji Kesesuaian Sistem KCKT.....	9
Tabel V.1 Sistem Kromatografi Pemisahan Kafein dan Epikatekin.....	13

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Struktur Kafein.....	3
Gambar II.2 Struktur Epikatekin .....	4
Gambar II.3 Diagram Alir KCKT .....	5
Gambar IV.1 Bagan Alir Metode Penelitian .....	11
Gambar V.1 Kromatogram standar kafein (merah) dan epikatekin (biru) (Araya dkk., 2014) ..	12
Gambar V.2 Kromatogram standar kafein (merah) dan epikatekin (biru) (Bae dkk., 2015).....	12
Gambar V.3 Kromatogram standar kafein (merah) dan epikatekin (biru) (He dkk., 2015) .....	13
Gambar V.4 Kromatogram (a) standar (b) ekstrak sampel dari kafein (merah) dan epikatekin (biru) (Fernando dkk., 2016) .....	13



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

### SINGKATAN

HPLC

KCKT

LOD

LOQ

### MAKNA

High Performance Liquid Chromatography

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Limit of Detection

Limit of Quantification

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar belakang**

Sejak dulu kafein ini diperoleh dari ekstrak tumbuh-tumbuhan berupa teh, kopi, dan coklat (kakao). Seringkali orang mengonsumsi kafein karena efeknya sebagai stimulan terhadap daya pikir dan konsentrasi. Selain kafein, tanaman tersebut memiliki senyawa lain yaitu epikatekin. Epikatekin telah dilaporkan memiliki berbagai sifat biologis yang berdampak positif pada kesehatan, sebagai antihipertensi, antiobesitas dan antioksidan (Carrillo dkk., 2017).

Kafein merupakan senyawa purin alkaloid yang terdiri dari cincin pirimidin dan cincin imidazol. Struktur kimia kafein adalah 1,3,7-trimetilxantin dan termasuk dalam molekul xantin. Gugus metilnya berikatan dengan ketiga hidrogen dan nitrogen pada cincin xanthin. Kafein larut dalam pelarut non polar namun dalam penelitian biasanya digunakan campuran pelarut polar seperti air dan etanol (Reddy dkk., 2019).

Epikatekin diklasifikasikan sebagai monomer flavan-3-ol yang terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B dan cincin C (tengah) berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Epikatekin larut dalam pelarut polar seperti air dan metanol. Epikatekin dapat dengan mudah dikonversi menjadi bentuk non-epi setelah adanya perubahan pH dan suhu. Epikatekin lebih stabil dalam suasana asam  $\text{pH} < 4$  dan tidak stabil pada suasana basa  $\text{pH} 4-8$ . Epikatekin memiliki ikatan rangkap terkonjugasi (kromofor) dan auksokrom sehingga dapat diidentifikasi pada panjang gelombang 210-280 nm dengan spektroskopi UV (Agrawal dkk., 2020).

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah teknik yang banyak digunakan untuk analisis kafein dan epikatekin dalam berbagai macam sampel. Kromatografi memungkinkan pemisahan dan kuantifikasi secara simultan dengan akurasi dan sensitivitas yang tinggi. Namun, pemisahan senyawa dalam matrik kompleks seperti teh, kopi dan coklat memerlukan optimasi sistem KCKT karena banyaknya senyawa yang akan dipisahkan. Parameter seperti komposisi fase gerak, laju alir, dan pH fase gerak dapat dioptimalkan untuk mendapatkan kondisi terbaik untuk analisis (Sabir dkk., 2016).

Secara umum, waktu analisis kafein dan epikatekin relatif panjang yaitu 40–105 mnt, dan KCKT dapat digunakan untuk memisahkan 5 sampai 10 senyawa secara bersamaan. Dari sudut pandang kuantitatif, pemisahan KCKT dengan cepat belum diselidiki secara luas, dan hanya beberapa jurnal yang melaporkan pemisahan secara simultan dari kafein

dan epikatekin diwaktu yang relatif singkat sekitar 25 menit (Araya dkk., 2014). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka tulisan ini bertujuan untuk mengetahui optimasi sistem KCKT untuk analisis kafein dan epikatekin sehingga diperoleh bentuk kromatogram yang baik dan pemisahan dengan waktu yang singkat berdasarkan jurnal publikasi nasional maupun internasional.

### **1.2. Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah yaitu apakah kondisi optimasi sistem KCKT untuk analisis kafein dan epikatekin dapat memperoleh bentuk kromatogram yang baik dan pemisahan dengan waktu yang singkat?

### **1.3. Tujuan dan manfaat penelitian**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka tulisan ini bertujuan untuk mengetahui optimasi sistem KCKT untuk analisis kafein dan epikatekin sehingga diperoleh bentuk kromatogram yang baik dan pemisahan dengan waktu yang singkat.

### **1.4. Hipotesis penelitian**

Diduga kondisi optimasi sistem KCKT dapat memberikan bentuk kromatogram yang baik dan pemisahan dengan waktu yang singkat untuk analisis kafein dan epikatekin.

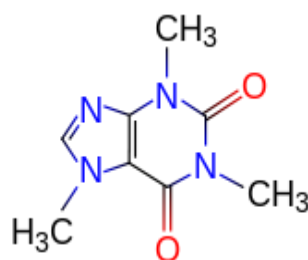
### **1.5. Tempat dan waktu Penelitian**

Tempat penyusunan laporan tugas akhir dilaksanakan di Universitas Bhakti Kencana Bandung, yang dimulai pada bulan Mei sampai Agustus 2020.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### II.1 Kafein

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid dalam 60 spesies tanaman, yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat. Kafein merupakan senyawa purin alkaloid. Struktur kimia kafein adalah 1,3,7-trimetilxantin dan termasuk dalam molekul xantin. Gugus metilnya berikatan dengan ketiga hidrogen dan nitrogen pada cincin xanthin. Struktur kimia dari kafein mempunyai kemiripan 3 senyawa alkaloid lainnya yaitu xantin, teofillin, dan teobromin (Reddy dkk., 2019).



Gambar II.1 Struktur Kafein

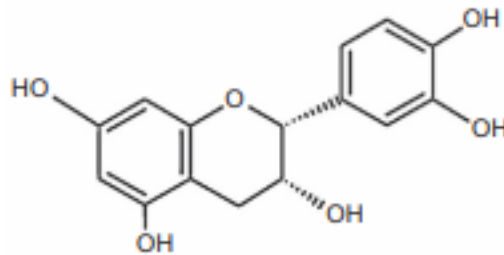
Kafein atau 1,3,7-trimethylxanthine, memiliki rumus molekul  $C_8H_{10}N_4O_2$  dengan berat molekul 149,19 g/mol. Pemerian serbuk atau hablur berbentuk jarum mengkilat biasanya menggumpal, putih, tidak berbau, rasa pahit. Agak sukar larut dalam air dalam etanol (95%) P, mudah larut dalam kloroform P, dan sukar larut dalam eter.

Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung. Efek berlebihan (over dosis) mengkonsumsi kafein dapat menyebabkan gugup, gelisah, tremor, insomnia, hipertensi, mual dan kejang (Maramis dkk., 2013). Berdasarkan FDA (Food Drug Administration) yang diacu dalam Maramis dkk (2013), dosis kafein yang diizinkan 100-200 mg/hari, sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein dalam makanan dan minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/sajian.

### II.2 Epikatekin

Epikatekin banyak ditemukan dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan bahan nabati lainnya. Epikatekin adalah senyawa polifenol yang termasuk dalam kelompok flavonoid. Epikatekin diklasifikasikan sebagai monomer flavan-3-ol yang terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B dan cincin C (tengah) berupa heterosiklik yang

mengandung oksigen dan banyak gugus hidroksil. Stabilitas epikatekin dipengaruhi oleh pH dan suhu. Epikatekin lebih stabil dalam suasana asam  $\text{pH} < 4$  dan tidak stabil pada suasana basa  $\text{pH} 4-8$ . Epikatekin tidak stabil dalam suhu tinggi, sehingga dalam pengolahannya epikatekin akan mengalami proses epimerisasi maka kadar epikatekin akan berkurang. Untuk mempertahankan kandungan polifenol (epikatekin) pada proses pengolahan maka dapat dilakukan penyesuaian suhu (Agrawal dkk., 2020).



Gambar II.2 Struktur Epikatekin

Katekin dengan rumus  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ , tidak berwarna, memiliki berat molekul 290 g/mol dengan titik leleh  $242^\circ\text{C}$  dan dalam keadaan murni sedikit tidak larut dalam air dingin tetapi sangat mudah larut dalam air panas, larut dalam metanol dan etanol, hampir tidak larut dalam kloroform, selain itu katekin berbentuk kristal halus menyerupai jarum. Epikatekin lebih stabil dalam suasana asam  $\text{pH} < 4$  dan tidak stabil pada suasana basa  $\text{pH} 4-8$  (Agrawal dkk., 2020).

### II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

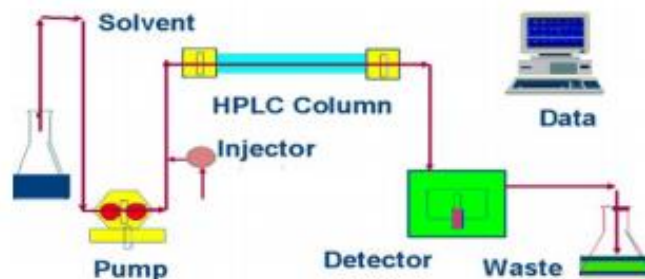
Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) adalah kromatografi yang dapat digunakan untuk memisahkan senyawa campuran dan dapat digunakan pada senyawa biokimia maupun menganalisis senyawa kimia untuk identifikasi, kuantifikasi, dan purifikasi senyawa individu yang didapat dari senyawa campuran yang dianalisis tersebut (Sabir dkk., 2016). KCKT memiliki keuntungan dibandingkan *Gas Chromatography* (GC) adalah dimana penggunaan KCKT tidak harus untuk analit yang bersifat mudah menguap, sehingga makromolekul juga dapat dianalisis oleh KCKT (Yadav dkk., 2016).

KCKT digunakan untuk pemisahan komponen-komponen dari senyawa campuran tergantung dari retensi masing-masing komponen pada kolom. Sedikit banyaknya komponen yang tertahan pada kolom tergantung pada partisi senyawa tersebut terhadap fase diam dan fase geraknya. Selama senyawa memiliki perbedaan mobilitas, maka senyawa akan keluar dari kolom dengan waktu yang berbeda, sehingga memiliki waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi adalah waktu antara penyuntikkan dan deteksi.

Waktu retensi dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti, interaksi senyawa dengan fase diam, molekul yang dianalisis, dan juga solven yang digunakan (Gupta, Jain, Gill, & Gupta, 2012).

#### II.4 Instrumen KCKT

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), instrumen KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak atau pompa, alat untuk memasukkan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan suatu komputer atau integrator atau perekam.



Gambar II.3 Diagram Alir KCKT

Wadah fase gerak harus bersih inert. Wadah pelarut kosong atau labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini dapat menampung satu sampai dua liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan penghilangan gas yang ada dalam fase gerak, sebab dengan adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga dapat mengacaukan analisis.

Pompa merupakan alat yang digunakan untuk menggerakkan fase gerak dan sampel yang diinjeksikan menuju kolom. Pompa biasanya terbuat dari bahan yang inert seperti gelas, baja tahan karat, dan teflon. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 20 mL/menit.

Sampel-sampel cair dari larutan disuntikan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir dibawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel internal atau eksternal. Pada saat pengisian sampel, sampel digelontorkan melewati keluk sampel dan kelebihan akan dikeluarkan ke pembuangan. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak melewati keluk sampel dan menggelontor sampel ke dalam kolom.

Presisi penyuntikan ini mudah digunakan untuk otomisasi dan sering digunakan untuk autosampler pada KCKT.

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena didalamnya terdapat fase diam. Pada kolom KCKT terdapat kolom pelindung yang berfungsi untuk meningkatkan masa penggunaan kolom dengan mencegah ikatan kuat secara irreversibel antara partikel, kontaminan dari pelarut, dan komponen pada sampel dengan fase diam. Kolom pelindung secara umum mempunyai kemasan yang sama dengan kolom utama, namun terdiri dari partikel yang lebih keras, lebih besar (20-40  $\mu\text{m}$ ), dan bukan bahan berpori. Kolom pelindung dapat menahan zat terlarut yang dapat menyumbat kolom utama.

Banyak detektor yang digunakan dan diterapkan untuk metode KCKT. Masing masing detektor memiliki kelebihan dan kekurangan. Idealnya detektor harus mempunyai sensitivitas dan selektivitas yang tinggi. Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan: yaitu detektor universal mendeteksi zat secara umum baik tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif seperti detektor indeks bias dan detektor spektrofotometri massa: dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit spesifik dan selektif, seperti detektor UV Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia.

## **II.5 Validasi Metode Analisis**

Validasi metode merupakan proses untuk memastikan bahwa prosedur yang ada memenuhi standar reliabilitas, akurasi, dan presisi sesuai tujuan yang diharapkan. Validasi metode bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis yang akan digunakan valid dan terpercaya (Harmita, 2004) . Parameter validasi metode analisis yaitu:

### **1. Linearitas**

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang akan memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Secara sistematis linearitas ditunjukkan dengan persamaan garis sebagai berikut:

$$y = bx + a$$

Keterangan:

b = slope

a = intersep atau perpotongan sumbu y

Dari data yang diperoleh, nilai koefisien korelasi (r) yang baik atau yang memenuhi persyaratan yaitu yang mendekati 1 atau  $r = 1$

## 2. Presisi

Presisi atau ketelitian adalah tingkat kesesuaian antara hasil analisis individual jika prosedur dilakukan berulang kali terhadap sampel ganda atau beberapa sampel yang homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{n-1}} \qquad \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan:

RSD = Standar Deviasi Relatif/ simpangan baku relatif

SD = Standar Deviasi/ simpangan baku

X = Kadar hasil pengukuran

x = Rata-rata kadar hasil pengukuran

n = Jumlah pengujian

## 3. Akurasi

Akurasi atau ketepatan menunjukkan derajat kedekatan hasil dari analisis dengan analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery). Akurasi dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi dan metode adisi .

$$\%Rec = \frac{Ch}{Cs} \times 100\%$$

Keterangan:

% Rec = % perolehan kembali

Ch = Kadar analit yang diperoleh



Cs = Kadar analit teoritis

#### 4. Batas Deteksi (Limit of Detection atau LOD)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. LOD dapat dipengaruhi oleh perubahan kecil dalam sistem analisis (misalnya, suhu, kemurnian reagen, efek matriks). LOD dapat dihitung dari garis dan standar deviasi kurva standar yang diperoleh yaitu dengan menggunakan rumus:

$$BD = \frac{3 \times SD}{b}$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi kurva standar ( $S_{y/x}$ )

b = Slope

#### 5. Batas Kuantitasi (Limit of Quantification atau LOQ)

Batas kuantitasi adalah konsentrasi terendah analit yang dapat ditentukan dengan akurasi yang bisa diterima. Batas kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan rumus:

$$BD = \frac{10 \times SD}{b}$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi kurva standar ( $S_{y/x}$ )

b = Slope

#### 6. Uji kesesuaian sistem

Uji kesesuaian sistem dalam KCKT bertujuan untuk memverifikasi resolusi dan presisi (memastikan bahwa metode dapat memberikan hasil dengan akurasi dan presisi yang dapat di terima. Persyaratan uji kesesuaian sistem menurut United States Pharmacopeia untuk kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dikatakan sesuai jika :

Tabel II.1 Uji Kesesuaian Sistem KCKT

PARAMETER	BATAS
Kapasitas kolom ( $k'$ )	$1 \leq k' \leq 10$
Waktu Retensi (RT)	$\geq 1$
Resolusi ( $R_s$ )	$\geq 2$
Faktor Pengekoran ( $T_f$ )	$\leq 1,5$
Angka Lempeng Teoritis (N)	$> 2000$