

BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat yang akan dipakai adalah alat yang biasa digunakan di dalam lab seperti; timbangan Analitik, labu ukur 100 mL, labu ukur 5 mL, micropipet, tip, sonikasi, penyaring membrane, suntikan, vial, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes dan alat GC dan MS.

4.1.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan yaitu sirup paracetamol, etilen glikol, dietilen glikol, metanol p.a, aquadest, paracetamol, sorbitol, *cyclamate sodium*, *strawberry flavor*, kolidon ® 25, *glycerol*, dan 1-2 *Propilen glycol*.

4.2 Prosedur

4.2.1 Pengambilan Sampel

Sirup paracetamol diambil dari apotek terdekat sekitaran kota Bandung

4.2.2 Pembuatan Larutan standar Etilen Glikol

Etilen Glikol baku pembanding ditimbang 100 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Lalu ditambahkan 50 mL metanol p.a, sonikasi selama 5 menit dan diencerkan dengan pelarut sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan standar EG dengan konsentrasi 1000 bpj (BPOM, 2022c). Kemudian dilakukan pengenceran ke dalam labu ukur 100 mL.

4.2.3 Pembuatan kurva kalibrasi Etilen Glikol

Larutan standar EG 100 bpj dilakukan pengenceran dalam labu ukur 5 mL untuk konsentrasi 6 bpj, 8 bpj, 10 bpj, 12 bpj dan 14 bpj. Setelah itu dipipet berturut-turut yaitu 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL dan 700 µL. Lalu masukan setiap konsentrasi yang sudah dipipet ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas (BPOM, 2022c).

4.2.4 Pembuatan Larutan standar Dietilen Glikol

Dietilen Glikol baku pembanding ditimbang 100 mg, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan 50 mL metanol p.a, sonikasi selama 5 menit dan diencerkan dengan pelarut sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan standar EG dengan konsentrasi 1000 bpj. Kemudian dilakukan pengenceran ke dalam labu ukur 100 mL.

4.2.5 Pembuatan kurva kalibrasi Dietilen Glikol

Larutan standar 100 bpj dilakukan pengenceran dalam labu ukur 5 mL untuk konsentrasi 12 bpj, 16 bpj, 20 bpj, 24 bpj dan 28 bpj. Setelah itu dipipet berturut-turut yaitu 600 μ L, 800 μ L, 1000 μ L, 1200 μ L, dan 1400 μ L. Lalu masukan setiap konsentrasi yang sudah dipipet ke dalam labu ukur 5 m dan ditambahkan metanol sampai tanda batas.

4.2.6 Cara Kerja GC-MS

Sampel yang telah disiapkan disuntikkan ke dalam alat, kemudian sampel dalam bentuk uap memasuki kolom dengan bantuan fase gerak dalam bentuk gas (helium). Kemudian dilakukan penembakan senyawa elektron menjadi muatan ionisasi sampel yang dipecah menjadi ion-ion positif. Hasil akan dibaca oleh detektor dan hasilnya akan diterima oleh komputer dan berupa kromatogram yang terdiri dari peak-peak (Aprida et al., 2022).

4.2.7 Validasi Metode

a. Uji Linieritas

Uji linieritas dihitung secara statistik untuk menentukan persamaan garis $y = bx + a$ berdasarkan pengukuran absorbansi kurva kalibrasi larutan baku dengan seri konsentrasi yang digunakan pada EG yaitu 6, 8, 10, 12 dan 14 bpj, sedangkan seri konsentrasi DEG yaitu 12, 16, 20, 24 dan 28 bpj. Seri konsentrasi dibuat dengan mengencerkan masing-masing larutan uji (BPOM, 2022c).

b. Uji Sensitifitas (Penentuan BD dan BK)

BD dan BK bisa dihitung dengan cara statistik garis regresi linier pada kurva kalibrasi. Dari nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan untuk simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x) (Harmita, 2004). Rumus Perhitungan BD dan BK :

$$\text{Batas deteksi} = \frac{3xSb}{b} \quad \text{Dan} \quad \text{Batas kuantitasi} = \frac{10xSb}{b}$$

c. Uji Perolehan Kembali (Akurasi & Presisi)

1. Sampel Simulasi

Sirup paracetamol dibuat menjadi sampel simulasi yaitu tiga sirup dengan konsentrasi berbeda yaitu 80%, 100% dan 120%.

Tabel 1.3 Formula sirup parasetamol
(Niazi, 2016).

Formula	Formulasi Sirup Paracetamol dengan konsentrasi berbeda(%) Per mL		
	Konsentrasi 80%	Konsentrasi 100%	Konsentrasi 120%
Etilen Glikol	0,08 gram	0,1 gram	0,12 gram
Dietilen Glikol	0,08 gram	0,1 gram	0,12 gram
Paracetamol (Zat Aktif)	1 gram	1 gram	1 gram
Sorbitol (<i>crystalline</i>) (Gula)	1 gram	1 gram	1 gram
<i>Cyclamate sodium</i> (Pemanis buatan)	1 gram	1 gram	1 gram
<i>Strawberry Flavor</i> (Perasa dan aroma)	q.s	q.s	q.s
Kolidon ® 25 (suspending agent)	4 gram	4 gram	4 gram
Glycerol (Anti cap locking)	3 gram	3 gram	3 gram
1,2-Propilen Glikol (<i>co-solven</i>)	4 gram	4 gram	4 gram
Aquadest	add sampai 20 mL	add sampai 20 mL	add sampai 20 mL

2. Akurasi (ketepatan)

Akurasi dilakukan dengan cara metode simulasi, pengerjaannya dilakukan dengan membuat formulasi dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% masing-masing konsentrasi dibuat tiga kali pengulangan. Dalam % perolehan kembali bisa dihitung dengan cara persamaan (Harmita, 2004) :

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$$

3. Presisi (ketelitian)

Sampel simulasi ditimbang setara dengan satu sirup sampel, dilarutkan dalam labu ukur 30 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Lalu larutan tersebut dilakukan pengukuran kromatogram puncak dengan gc-ms. Uji ketelitian metode dilakukan untuk formulasi 100% dengan pengulangannya sebanyak 6 kali. Menghitung nilai RSD dengan Rumus :

$$K_v = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

4.2.8 Penetapan Kadar EG dan DEG

Larutan uji ditimbang lebih kurang 5 g sampel, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan 30 mL metanol, sonikasi selama 5 menit, kemudian diencerkan menggunakan methanol sampai tanda. Setelah itu disaring menggunakan penyaring membran dengan porositas 0,45 µm. Lalu diencerkan kedalam labu ukur 5 mL, kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas dengan pengulangan sebanyak 4 kali (BPOM, 2022c).