

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Sistem *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS)

Kromatografi gas dan spektrometri massa adalah dua komponen utama dari GC dan MS. *Gas Chromatography Mass Spectrometry* yang dipakai yaitu merk *Agilent*, nomor serial 7890A dan nomor detektornya 5977B dan untuk Spektrometri massa software yang digunakan yaitu *type Mass Hunter*, Vakum kontrolnya >85%, ion source 230°C, interface 240°C, Split Ratio 10:1, dan Solven Cut 4 Menit (BPOM, 2022c). GC biasanya memiliki 5 komponen utama yaitu ("Modern Practice of Gas Chromatography," 2005) :

1. Gas pembawa

Fase gerak sering disebut gas pembawa, gas yang digunakan adalah helium, nitrogen, hidrogen atau argon. Pemilihan gas bergantung pada faktor seperti ketersediaan kemurnian dan tipe detektor yang digunakan. Helium merupakan pilihan yang lebih baik untuk digunakan sebagai detektor konduktivitas termal Karena tingginya konduktivitas termalnya dibandingkan dengan konduktivitas uap dan kebanyakan senyawa organik ("Modern Practice of Gas Chromatography," 2005). Namun di dalam penelitian ini gas pembawa yang dipakai yaitu gas helium Ultra Pure dan Laju alir gas nya 0,65 mL/menit (BPOM, 2022c).

2. Oven

Kolom kromatografi gas harus terbungkus dalam oven thermostat dengan baik karena kromatografi gas jauh lebih sensitif terhadap perubahan suhu dari pada kromatografi cair, karena perubahan suhu mempengaruhi laju aliran secara signifikan. Thermostat oven biasanya digunakan untuk mengoprasikan pengaturan suhu kolom pada GC, thermostat oven ini berperan penting karena pemisahan komponennya terjadi di dalam kolom yang sangat dipengaruhi oleh suhu di dalam oven. Pada penelitian ini suhu oven nya yaitu 100°C.

3. Sistem penginjeksi

Menggunakan spuit mikro dan jarum hipodermik, sampel cair dimasukkan dengan merata ke dalam blok logam yang dipanasi di ujung kolom. jarum hipodermik ditusukkan pada sekat karet silikon yang mengendap sendiri dalam sampelnya. Untuk efisiensi terbesar, hendaknya digunakan untuk sampel yang terkecil mungkin 1 sampai 10 microliter yang konsisten dengan kepekaan detektor. Penginjeksian yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 1, pada suhu 250°C.

4. Kolom

Kolom analisis biasanya terbuat dari pipa logam berdiameter 3–10 mm atau pipa kaca berdiameter 2–6 mm, agar tidak memakan tempat biasanya di kumpar kolomnya. Kolom kaca digunakan jika komponen sampel terurai saat bertemu dengan logam. Dan kolom yang dipakai dalam penelitian ini yaitu dari TG-WaxMs, panjang kolomnya 30 m, berdiameter 0,25 mm, ketebalan filmnya 0,25 mikrometer. Perpindahan kolomnya itu dengan cara vakum yang sudah ada dihilangkan dan diganti kolom, setiap pergantian kolom harus dipotong ujung kolomnya dan kolomnya harus lurus. Fungsi dari memotong kolom yaitu untuk membersihkan kolom karena yang sebelumnya mungkin sudah ada banyak sampel sehingga akan mengakibatkan kontaminan pada sampel yang akan kita uji. Pada penelitian ini memakai suhu kolom 100°C ditahan 1 menit, kenaikan suhu 10°C/menit sampai 130°C ditahan 7 menit, suhu kolom 20°C/menit sampai 240°C ditahan 3 menit.

5. Detektor

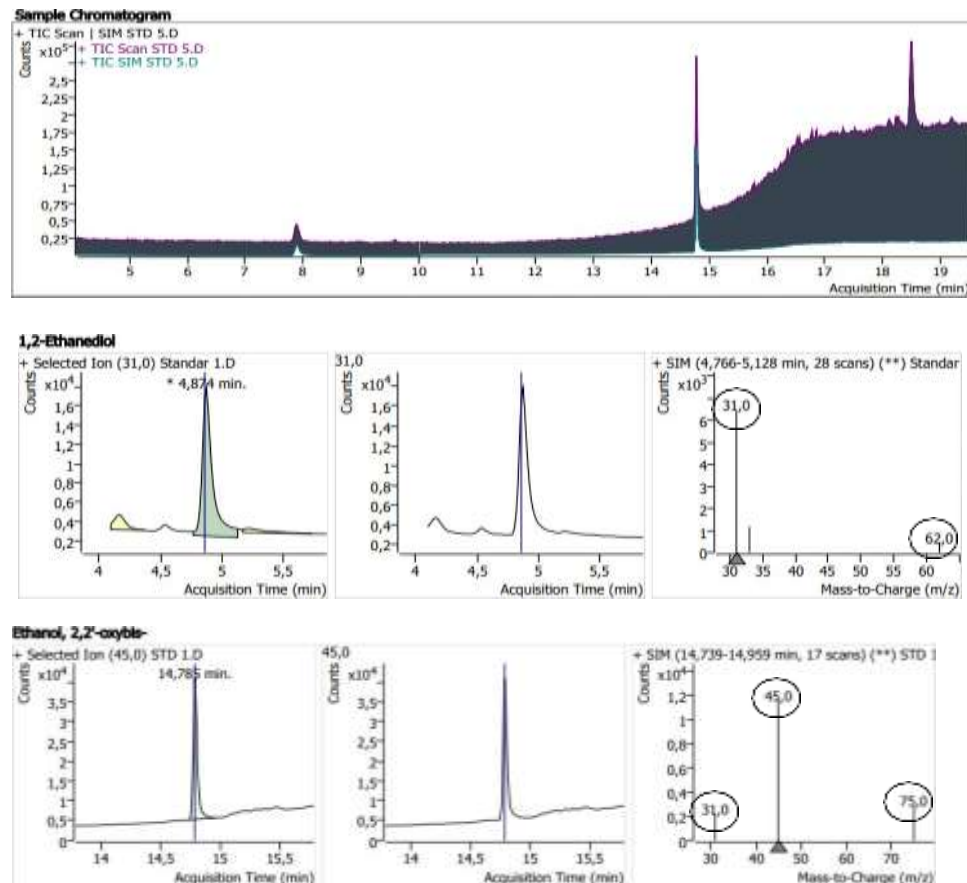
Fungsi dari detektor yang terletak pada ujung keluar dari kolom pemisahan yaitu untuk merasakan dan mengukur kuantitas kecil dari komponen yang telah terpisahkan yang ada pada aliran gas pembawa yang meninggalkan kolom tersebut. Yang keluar dari detektor diumpan ke dalam perekam yang menghasilkan suatu jejak pena yang biasanya disebut dengan kromatogram. Pemilihan detektor tergantung pada faktor tingkat konsentrasi yang harus diukur dan pada sifat komponen yang akan dipisahkan dan untuk analisis dalam pengukuran microgram detektor yang dipakai yaitu sel konduktivitas termal sedangkan untuk pekerjaan yang rendah sampai tingkat microgram diperlukan detektor yang lebih peka seperti pengionan. Pada penelitian ini menggunakan detektor spektrometri massa dengan suhu ion source 230°C, interface 240°C.

Prinsip dari GC-MS ini adalah Perbedaan dari sifat kimia antara molekul-molekul yang berbeda di dalam suatu campuran yang dipisahkan dari molekul dengan cara melewati sampel sepanjang kolom, molekul-molekul ini memerlukan jumlah waktu yang berbeda-beda yang di biasanya disebut dengan waktu retensi. Waktu retensi adalah ukuran jumlah waktu yang dihabiskan zat terlarut dalam kolom, jumlah waktu ini juga yang dihabiskan dalam fase diam dan fase gerak. Kemudian spektrometri massa yang menangkap, mengionisasi, mempercepat, membelokkan dan mendeteksi molekul yang telah terionisasi secara terpisah (Ari *et al.*, 2016). *Gas Chromatography* berfungsi untuk memisahkan senyawa tanpa dilengkapi dengan detektor, namun yang berfungsi menjadi detektor yaitu *massa spectrometry*. Pada kemampuan dan aturan

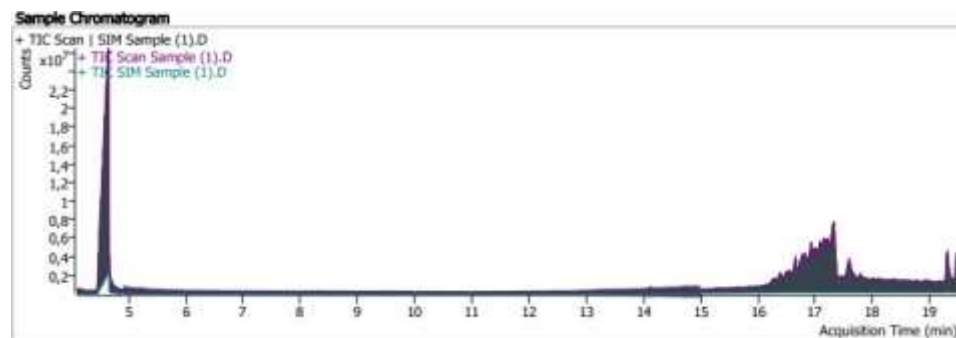
dari pemisahan akan mengikuti aturannya GC, maka untuk fragmentasi dan pola spektrum massa mengikuti aturannya MS.

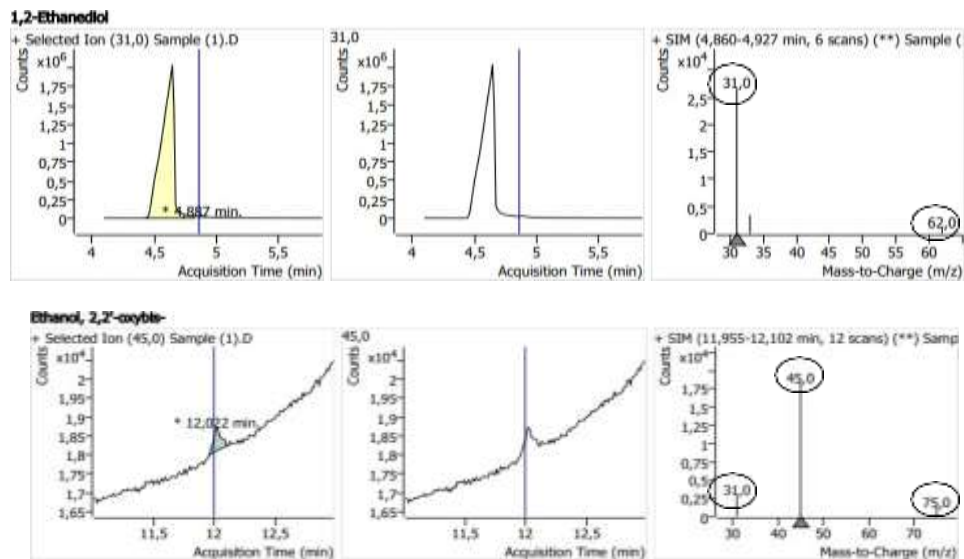
5.2 Analisis GC-MS

Kromatografi gas ini dapat digunakan dalam berbagai situasi, termasuk pemisahan dan analisis campuran berbagai bahan. Kromatogram etilen glikol dan dietilen glikol ditampilkan dalam hasil kromatografi gas. Selain itu, tiap puncak dalam kromatogram diidentifikasi dengan mencocokkan spektrum Ms dengan data base wiley untuk mengidentifikasi jenis senyawanya (Hotmian *et al.*, 2021).



Gambar 5.1 Hasil dari kromatogram Gc-MS Larutan Standar Etilen Glikol dan Dietilen Glikol





Gambar 5.2 Hasil dari kromatogram Gc-Ms Sampel Sirup

Kromatografi gas mampu membaca senyawa dengan konsentrasi terendah sehingga etilen glikol dan dietilen glikol di dalam sirup dapat teridentifikasi dengan hasil yang berupa fragmen. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada (gambar 5.1) teridentifikasi etilen glikol pada *peak* 31,0 m/z dan 62,0 m/z namun *peak* yang paling tinggi berada di 31,0 m/z dengan waktu retensi yaitu 4,860-4,874 menit. Sedangkan untuk dietilen glikol terlihat pada *peak* 31,0 m/z, 45,0 m/z dan 75,0 m/z namun *peak* yang paling tinggi berada di 45,0 m/z dengan waktu retensi yaitu 14,784-14,785 menit. Hasil dari (gambar 5.2) yaitu terdeteksi adanya etilen glikol pada *peak* tertinggi 31,0 m/z dengan waktu retensi yaitu 4,887-4,900 menit dan dietilen glikol pada *peak* tertinggi yaitu 45,0 m/z dengan waktu retensi yaitu 12,022 -12,035 menit.

5.3 Validasi Metode Penelitian

Validasi suatu metode analisis bertujuan untuk memastikan dan memastikan bahwa metode analisis tersebut layak untuk digunakan. Berdasarkan hasil analisis terlihat bahwa pada larutan standar terkonsentrasi menunjukkan puncak senyawa etilen glikol pada waktu retensi 4,860-4,874 menit dan dietilen glikol pada 14,784-14,785 menit. Baik mode *full scan* maupun mode SIM (*selected ion monitoring*) menganalisis semua senyawa dalam sampel. Mode *full scan* menganalisis semua senyawa dalam sampel, dan mode SIM merekam hanya pada ion tertentu dari pada seluruh spektrum. Kerja pertama *full scan* mengidentifikasi semua senyawa dalam sampel, dan jika senyawa yang dicari telah ditemukan, kemudian dilakukan analisis mode SIM. Mode SIM lebih sensitif karena mode ini hanya merekam ion tertentu, bahkan pada konsentrasi yang rendah dan hanya pada konsentrasi tinggi yang dapat dideteksi. Pada penelitian ini hasil dari ion fragmentasi untuk etilen glikol terdapat pada *peak* 31,0 m/z dan untuk dietilen glikol terdapat pada 45,0 m/z (lihat pada lampiran 1.7 & 1.8). karena mempunyai

kelimpahan yang relatif lebih tinggi dan spesifik, maka dari itu dapat dibuktikan saat melakukan penilaian dan dibandingkan dari hasil *full scan* & analisis SIM. Dalam mode *full scan*, instrumen menemukan semua senyawa dalam sediaan sirup parasetamol., tetapi ketika mode SIM yang nampak hanya satu *peak* satu *peak* yaitu etilen glikol dan dietilen glikol (Ari *et al.*, 2016).

5.3.1 Linieritas

Uji linieritas ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan standar dalam mendeteksi analit dalam sampel. Pada tahap ini dilakukan pengukuran larutan standar EG dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14 dan DEG dengan konsentrasi 12, 16, 20, 24 dan 28. Hasil pengukurannya yaitu sebagai berikut:

Tabel 5.1 Uji Linieritas standar Etilen Glikol

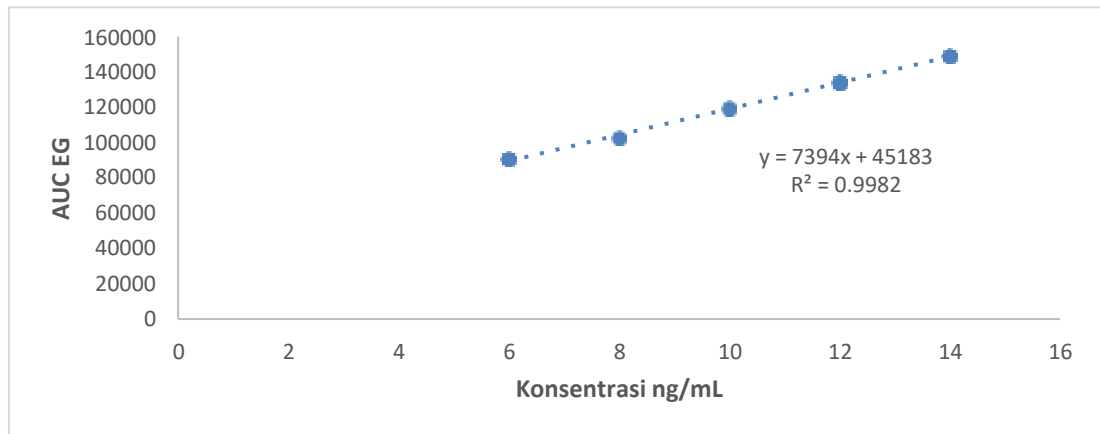
Konsentrasi (bpj)	AUC
6	90692
8	102733
10	119165
12	134046
14	148975

Tabel 5.2 Uji Linieritas standar Dietilen Glikol

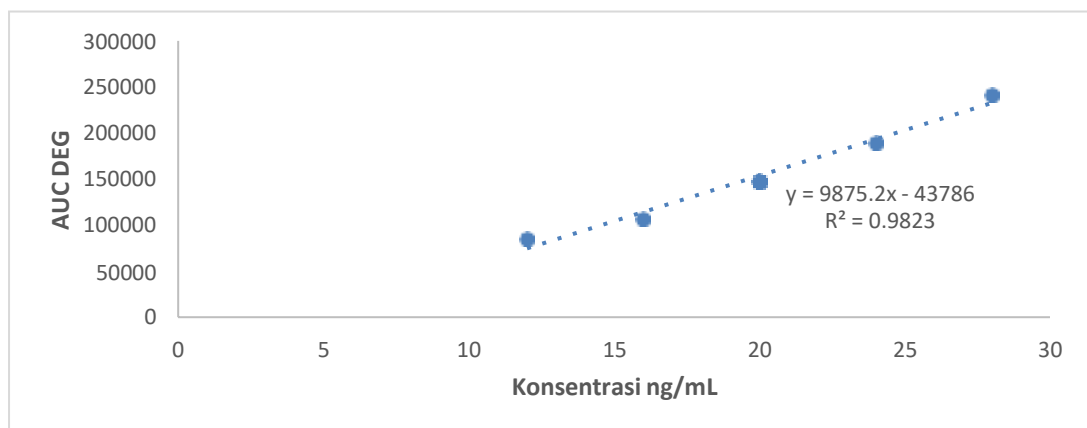
Konsentrasi (bpj)	AUC
12	84550
16	106918
20	147187
24	188841
28	241092

Berdasarkan perhitungan pengukuran di atas diperoleh persamaan garis linier etilen glikol $y = 7394x + 45183$ dengan nilai $R^2 = 0,9982$ dan nilai $r = 0,9991$ (lihat pada gambar 5.3) Dan persamaan garis linier dietilen glikol $y = 9875,2x - 43786$ dengan $R^2 = 0,9823$ dan nilai $r = 0,9911$ (lihat pada gambar 5.4). Menurut Harmita dan ISO, nilai koefisien korelasi yang mendekati +1 menunjukkan bahwa antar variabel memiliki korelasi yang positif kuat dan kriteria penerimaan linieritasnya adalah $r > 0,98$ maka nilai r EG dan DEG di atas dapat dinyatakan memenuhi persyaratan. Dalam Harmita (2004) disebutkan juga parameter lain yang dapat digunakan untuk menggambarkan kelinieran suatu kurva yaitu koefisien variasi fungsi (V_{x0}). Syarat penerimaan linieritas yang baik adalah jika V_{x0} tidak lebih dari 5%. Koefisien variasi fungsi diperoleh dari menghitung nilai simpangan baku residual (sy/x) dari persamaan

regresi yang didapatkan. Hasil dari nilai V_{x0} etilen glikol sebesar $2,5E+14$ dan dari etilen glikol sebesar $3,2E+13$ maka nilai dari V_{x0} EG dan DEG ini dapat dikatakan memenuhi syarat karena tidak lebih dari 5%.



Gambar 5.3 Kurva Etilen Glikol



Gambar 5. 4 Kurva Dietilen Glikol

5.3.2 Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Menurut harmita BD dan BK juga dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi dengan terlebih dahulu menghitung nilai simpangan baku residual nya. Hasil perhitungan dari BD dan Bk dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 5.3 Uji BD dan BK Etilen Glikol

Konsentrasi (X)	AUC (Y)	x ²	y ²	x*y	y' (bx+a)	(y-y') ²	BD	BK
6	90692	36	8,2E+09	2,96E+11	3,3E+08	1,1E+17	7,5E+13	2,5E+14
8	102733	64	1,1E+10	6,75E+11	3,3E+08	1,1E+17		
10	119165	100	1,4E+10	1,42E+12	3,3E+08	1,1E+17		
12	134046	144	1,8E+10	2,59E+12	3,3E+08	1,1E+17		
14	148975	196	2,2E+10	4,35E+12	3,3E+08	1,1E+17		
10						5,6E+17		

Tabel 5.4 Uji BD dan BK Dietilen Glikol

Konsentrasi (X)	AUC (Y)	x ²	y ²	x*y	y' (bx+a)	(y-y') ²	BD	BK
12	84550	144	7,1E+09	1,0E+12	432395507	1,9E+17	1,9E+13	6,3E+13
16	106918	256	1,1E+10	2,9E+12	43011	4,1E+09		
20	147187	400	2,2E+10	8,7E+12	0,974	2,2E+10		
24	188841	576	3,6E+10	2,1E+13	0	3,6E+10		
28	241092	784	5,8E+10	4,6E+13	0	5,8E+10		
20						1,9E+17		

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa BD dari etilen glikol memperoleh nilai BD yaitu 7,54206E+13 bpj, nilai BK 2,51402E+14 bpj dan untuk dietilen glikol memperoleh nilai BD 1,89255E+13 bpj, nilai BK 6,30849E+13 bpj.

5.3.3 Akurasi.

Akurasi merupakan tingkat kedekatan antara hasil pengujian dengan prosedur yang sedang divalidasi terhadap nilai yang benar. Pada validasi metode tahap uji akurasi ini menggunakan metode simulasi dan metode adisi yang dimana saat membuat formula sampel sebelum di kalibrasi ditambahkan dulu standar EG dan DEG ke dalam sampel sebanyak 0,08 mL untuk formula 80% kemudian add aquadest sampai tanda batas, kemudian pipet 1,2 mL kedalam labu 10 mL lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas.

Hasil dari penelitian ini untuk parameter akurasi etilen glikol pada konsentrasi 80, 100 dan 120% dan pada konsentrasi dietilen glikol 80, 100 dan 120% nilai *recovery* nya tidak memenuhi syarat dikarenakan nilai *recovery* yang diperoleh tidak masuk rentang 80-110%. Nilai *recovery* yang besar pada EG dan DEG kemungkinan dapat disebabkan adanya zat tambahan atau zat pengotor dalam sediaan tersebut yang mempunyai gugus kromofor yang mirip dengan EG dan DEG sehingga menghasilkan nilai fragmen yang besar.

Tabel 5.5 Akurasi EG

Konsentrasi	AUC	mg teoritis	Konsentrasi pengukuran(BPJ)	Labu ukur	Volume yang dipipet	Fp	mg eg	% recovery
	1562274	0,08	205,1787	20	1,2	8,33	34,20	42745,6
80%	1796895	0,08	236,9099	20	1,2	8,33	39,48	49356,2
	3345846	0,1	446,3975	20	1,2	8,33	74,40	74399,6
100%	2885325	0,1	384,1144	20	1,2	8,33	64,02	64019,1
	4571520	0,1	612,1635	20	1,2	8,33	102,03	102027,3
120%	4261076	0,12	570,1776	20	1,2	8,33	95,03	79191,3
	4121557	0,12	551,3084	20	1,2	8,33	91,88	76570,6

Tabel 5.6 Akurasi DEG

Konsentrasi	AUC	mg teoritis	Konsentrasi pengukuran(BPJ)	Labu ukur	Volume yang dipipet	Fp	mg deg	% recovery
	5792147	0,08	582,101	20	1,2	8,33	97,02	121271,0
80%	6345770	0,08	638,163	20	1,2	8,33	106,36	132950,6
	8631023	0,1	869,576	20	1,2	8,33	144,93	144929,3
100%	7222575	0,1	726,951	20	1,2	8,33	121,16	121158,5
	10549268	0,1	1063,825	20	1,2	8,33	177,30	177304,1
120%	10217850	0,12	1030,264	20	1,2	8,33	171,71	143092,2
	10452270	0,12	1054,002	20	1,2	8,33	175,67	146389,2

5.3.4 Presisi

Presisi, yang biasanya digambarkan sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi), adalah tingkat kesesuaian antara hasil analisis individual jika prosedur dilakukan pada sampel ganda atau homogen. dari satu seri pengukuran. Nilai presisi dihitung berdasarkan RSD. Nilai persen RSD menunjukkan tingkat akurasi analisis; nilai persen RSD yang lebih kecil menunjukkan tingkat akurasi yang lebih tinggi, tetapi ini harus disesuaikan dengan konsentrasi komponen yang diukur, misalnya, nilai persen RSD yang lebih besar dihasilkan oleh konsentrasi komponen yang lebih kecil.

Hasil penelitian dari uji presisi ini pada etilen glikol memperoleh nilai %RSD sebesar 24,5 dan untuk nilai dielen glikol memperoleh %RSD sebesar 19,068 menurut Harmita dan ISO nilai %RSD tidak boleh lebih dari 2% maka dari itu nilai RSD dari EG dan DEG dapat dinyatakan tidak memenuhi syarat karena nilainya lebih dari 2%

Tabel 5.7 Presisi EG dan DEG

Konsentrasi	kons. Sampel	SD	Rata-rata	%KV
	446,3974844			
100% EG	384,1144171	117,8727741	480,8918042	24,5
	612,163511			
	869,5760086			
100% DEG	726,9512516	169,0947123	886,7839976	19,068
	1063,824733			

5.3.5 Penetapan Kadar EG dan DEG

Analisis sirup parasetamol berdasarkan waktu retensi untuk mendeteksi ada tidaknya senyawa etilen glikol dan dietilen glikol dalam propilen glikol pada sediaan sirup parasetamol. Berdasarkan waktu retensi yang dihasilkan terdapat etilen glikol pada waktu retensi yaitu 4,887-4,900 dan *peak* tertinggi berada di 31,0. Untuk dietilen glikol terlihat pada waktu retensi 12,022-12,035 dan *peak* tertinggi berada di 45,0 (dapat dilihat di gambar 5.2).

Tabel 5.8 Penetapan Kadar eg dan deg

Sample yang ditimbang (gram)	Fragmen EG	Fragmen DEG	Konsentrasi EG	Konsentrasi DEG	rata2 kons.	Kadar Sampel (%)	Kadar sampel rata2 (%)
5	17832	2564	3,6991	4,1743	3,9367	0,0970	
5	17336	2649	3,7662	4,1657	3,9659	0,0977	0,0976
5	17141	2586	3,7925	4,1721	3,9823	0,0981	
5	17466	2569	3,7486	4,1738	3,9612	0,0976	

Dari data hasil perhitungan kadar eg dan deg mendapatkan nilai % kadar 0,0976 sehingga dapat dinyatakan kadar eg dan deg ini terdapat di dalam sampel sirup parasetamol namun kadarnya memenuhi persyaratan karena rentang batas aman eg dan deg menurut BPOM dan FI VI tidak lebih dari 0,10%.