



Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector*

Elyta Mariana^{1✉}, Edy Cahyono¹, Endah Fitriani Rahayu¹, dan Bowo Nurcahyo²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

²Laboratorium Forensik POLRI Cabang Semarang Kompleks AKPOL Jl. Sultan Agung, Candi Baru, Telp (024) 8312742 Semarang 50232

Info Artikel

Diterima September 2018

Disetujui Oktober 2018

Dipublikasikan November 2018

Keywords:

metanol
gas chromatography
validity test

Abstrak

Telah dilakukan uji validitas terhadap tiga metode preparasi analisis metanol dalam urin dengan distilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat menggunakan *gas chromatography*. Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) dapat digunakan untuk menentukan kadar metanol dalam urin. Pada uji validasi ditambahkan standar internal propanol. Uji validitas yang dilakukan meliputi uji linearitas, akurasi, presisi serta penentuan *limit of detection* (LoD) dan *limit of quantitation* (LoQ). Linearitas kurva standar dengan GC-FID diperoleh sebesar 0,9998 dengan nilai LoD sebesar 0,0743% dan nilai LoQ sebesar 0,2477%. Uji akurasi dilakukan dengan menghitung persen *recovery* yaitu 95,56% untuk metode distilasi, 62,40% untuk metode ekstraksi cair-cair dan 66,55% untuk metode ekstraksi fase padat. Hasil uji presisi dengan metode distilasi diperoleh %RSD sebesar 2,03%. Sedangkan %RSD metode ekstraksi cair-cair 3,00% dan 6,77% dengan ekstraksi fase padat. Berdasarkan hasil analisis uji validitas disimpulkan bahwa metode distilasi lebih baik daripada metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat.

Abstract

Validity test has been carried out against three preparation methods for methanol analysis in urine by distillation, liquid-liquid extraction and solid phase extraction using gas chromatography. The method of Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) can be used to determine the levels of methanol in urine. In the validation test an internal standard of n-propanol was added. Validity tests included linearity test, accuracy and precision test, and determining the limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ). The linearity of the standard curve obtained by GC-FID is 0.9998 with LoD value of 0.0743% and LoQ value of 0.2477%. Accuracy test is done by calculating the percent recovery, which is 95.56% for distillation method, 62.40% for the liquid-liquid extraction method and 66.55% for the solid phase extraction method. The result of precision test by distillation method acquired %RSD of 2.03%. Meanwhile, %RSD by liquid-liquid extraction is 3.00% and 6.77% by solid phase extraction. Based on the results of the validity test analysis concluded that distillation method is better than liquid-liquid extraction and solid phase extraction method.

© 2018 Universitas Negeri Semarang

✉Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: elytamariana13@gmail.com

Pendahuluan

Minuman keras atau yang biasa disebut minuman beralkohol telah dikenal manusia kurang lebih 500 tahun yang lalu. Salah satu jenis minuman beralkohol tradisional yang sering dijumpai di Indonesia adalah *ciu*. *Ciu* terbuat hasil fermentasi limbah cair dari proses pembuatan gula, yaitu tetesan tebu yang difermentasikan dan mengalami proses distilasi. Senyawa yang terdapat pada *ciu* yaitu etanol dan asam sitrat dengan kadar rata-rata 6,82% (Widyanti, 2010). Pada tahun 2011 hingga sekarang terdapat 35 kasus penyalahgunaan minuman beralkohol khususnya pada miras oplosan yang menyebabkan kematian dan ditemukan bahwa minuman keras oplosan yang diedarkan mengandung etanol 18,16% dan metanol 0,01%.

Metanol adalah sejenis alkohol yang sering digunakan untuk produksi minuman anggur dan *wine* karena harganya murah dan mudah didapat. Penggunaan metanol untuk konsumsi tidak dibenarkan karena metanol adalah zat tidak layak konsumsi dan beracun bagi tubuh. Efek utama metanol dapat memabukkan, produk metaboliknya dapat menyebabkan asidosis metabolik, kebutaan, dan kematian setelah periode laten 6-48 jam (Hamidah & Yulianti, 2017). Metanol dapat diserap dalam tubuh, terabsorpsi dan terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Proses pemecahan metanol dalam tubuh dapat terjadi dengan cara oksidasi metanol menjadi formaldehid kemudian menjadi asam format dan juga dapat langsung diekskresikan melalui urin atau dapat dilanjutkan dengan proses oksidasi yang merubah metanol menjadi karbon dioksida (Dorokhov *et al.*, 2015).

Pemeriksaan kadar metanol dapat ditentukan melalui spesimen biologi seperti: cairan biologis (darah, urin, air ludah), jaringan biologis atau organ tubuh. Pemeriksaan metanol dalam urin lebih akurat karena kadar metanol dalam urin lebih stabil (Nisak, 2008). Dikarenakan sifat urin yang memiliki tingkat kekeruhan tinggi sehingga diperlukan suatu metode preparasi atau perlakuan awal. Preparasi sampel merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan analisis toksikologi forensik disamping kehandalan penguasaan metode analisis instrumentasi.

Metode preparasi penentuan metanol dapat menggunakan distilasi dan ekstraksi. Sudhaker & Jain (2016) telah melakukan preparasi sampel pada urin dan darah dengan distilasi menggunakan pelarut air dan penambahan asam tartrat sebagai agen deprotenasi. Sedangkan Hernanz *et al.* (2008) telah melakukan penelitian senyawa volatil dengan preparasi menggunakan ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Hasil yang didapatkan dari ketiga metode preparasi diukur kadarnya dan diketahui jenis alkohol yang terkandung pada minuman tersebut. Pengukuran kadar dan penentuan jenis alkohol dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC).

Kromatografi gas merupakan metode pengukuran secara kualitatif dan kuantitatif untuk bahan-bahan yang mudah menguap serta stabil pada pemanasan tinggi. Bintang (2010) menjelaskan dalam kromatografi gas sistem detektor yang umum digunakan adalah detektor ionisasi nyala atau *Flame Ionization Detector* (FID). *Flame Ionization Detector* (FID) adalah detektor yang memiliki sensitivitas tinggi yaitu 0,02 coulomb per gram dari hidrokarbon dan dapat digunakan hampir untuk semua senyawa organik sampai batas rendah satu nanogram, dan respon linier yang terluas berkisar 10^6 . GC-FID merupakan metode yang sangat sensitif, cepat, dan dapat diandalkan untuk menentukan sejumlah besar senyawa volatil di berbagai sampel biologis (Pontes *et al.*, 2009). Metode ini spesifik untuk identifikasi dan penentuan kadar etanol serta dapat digunakan untuk pemisahan campuran alkohol seperti metanol dan isopropanol secara simultan (Hendrayana, 2006).

Validasi metode merupakan salah metode yang cukup penting dalam suatu analisis, karena dapat membuktikan keandalan suatu metode dari suatu prosedur yang digunakan. Pada penelitian ini akan diuji validitas dari ketiga metode preparasi yaitu uji linearitas, LoD, LoQ, akurasi dan presisi. Hal ini bertujuan untuk menentukan metode preparasi yang tepat pada penentuan metanol dalam urin. Penentuan metode preparasi yang tepat sangat diperlukan pada penentuan kuantitatif metanol dikarenakan sampel yang diterima sebagian besar merupakan materi biologis, sehingga sedapat mungkin mencegah terjadinya penguraian dari analit. Perolehan kembali yang tinggi pada ekstraksi adalah sangat penting untuk mencari semua analit, sedangkan selektivitas yang tinggi diperlukan untuk menjamin pengotor atau senyawa pengganggu terpisahkan dari analit.

Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat distilasi, corong pisah, satu set alat ekstraksi fase padat, *GC-agilent Technologies 6890-N Network GC System*, kolom HP *InnoWax* panjang 60 m; diameter 0,25 μm dengan fase diam polietilen glikol, detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector*, FID), gas pembawa helium (He), dan *make-up* gas nitrogen (gas tambahan). Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah sampel urin, metanol, *n*-propanol, kloroform, dan florisisil.

Penyiapan larutan standar metanol dengan mengencerkan larutan induk metanol sehingga diperoleh larutan metanol konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3,5%. Sampel urin yang digunakan sebagai sampel penelitian ditambahkan metanol 2%. Masing-masing larutan standar metanol dan sampel urin ditambahkan dengan n-propanol 2% sebagai internal standar.

Sampel urin dipreparasi dengan distilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Preparasi dengan distilasi didasarkan prosedur Sudhaker & Jain (2016) termodifikasi. 1 mL sampel urin diletakkan dalam labu destilat dan diikuti penambahan 10 mL aquades. Campuran didistilasi dengan kondensor refluks dengan penjagaan suhu 97,5°C. Preparasi dengan ekstraksi cair-cair digunakan pelarut kloroform dan perbandingan volume sampel:pelarut yaitu 1:1. Sedangkan preparasi dengan ekstraksi fase padat didasarkan pada modifikasi prosedur Hernanz *et al.* (2008) dan Martinelli *et al.*, (2013). Sampel urin 1,5 mL dimasukkan ke *cartridge* florisil yang telah dikondisikan dan dielusi dengan 1,3 mL kloroform. Hasil dari masing-masing preparasi diinjeksikan ke GC-FID sebanyak 1 µL.

Analisis dengan GC-FID dilakukan pada suhu injektor 250°C, suhu detektor 300°C, dengan split rasio 1:50. Suhu awal kolom 50°C ditahan dua menit pada suhu tersebut, ditingkatkan secara bertahap sebesar 10°C/menit sampai suhu mencapai 200°C dan ditahan selama lima menit. Laju alir dari kolom yang terpilih adalah 0,8 mL/menit. Laju alir gas helium 1,2 mL/menit, laju alir hidrogen 35 mL/menit, laju alir nitrogen 30 mL/menit dan laju udara sebagai pengoksida 350 mL/menit (Suaniti *et al.*, 2012).

Parameter validasi yang diuji yaitu uji linearitas, LoD, loQ, akurasi dan presisi. Uji linearitas dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar metanol yang telah dibuat sebanyak 1 µL ke dalam injektor kromatografi gas. Data yang diperoleh berupa luas puncak dibuat persamaan regresi linier $y=bx+a$ dan ditentukan koefisien determinasinya. $r^2 > 0,997$ maka metode tersebut memenuhi parameter linearitas (Handayani & Lestari, 2012). Nilai LoD dan loQ ditentukan dari persamaan regresi linier yang diperoleh.

Uji akurasi dilakukan dengan metode perolehan kembali yaitu dengan menambahkan *spike* 1 (1,6 mL 2%), *spike* 2 (1,7 mL 2%), dan *spike* 3 (1,8 mL 2%) ke dalam sampel urin sebelum dipreparasi. Dilakukan juga uji sampel tanpa penambahan larutan standar. Masing-masing metode preparasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Uji presisi dilakukan dengan metode *repeatability* atau keterulangan dalam kondisi yang sama, peneliti yang sama dan waktu yang singkat. Preparasi sampel diulang masing-masing sebanyak 3 kali. Data hasil kromatogram dihitung simpangan bakunya.

Hasil dan Pembahasan

Sampel urin yang digunakan diperoleh dari sukarelawan yaitu mahasiswa laki-laki dengan umur 21 tahun. Menurut WHO tahun 2011, umur 15 tahun ke atas biasanya mengonsumsi alkohol dan puncak konsumsi alkohol terjadi pada kelompok dewasa berumur 21-60 tahun (Hamidah & Yulianti, 2017). Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari yaitu pada saat bangun tidur. Penggunaan urin pagi dikarenakan urin pagi cenderung lebih bersih, konsentrasinya lebih tinggi, dan jumlahnya lebih banyak. Untuk memisahkan pengotor/senyawa pengganggu dari analit diperlukan metode preparasi sebelum dianalisis dengan instrumen.

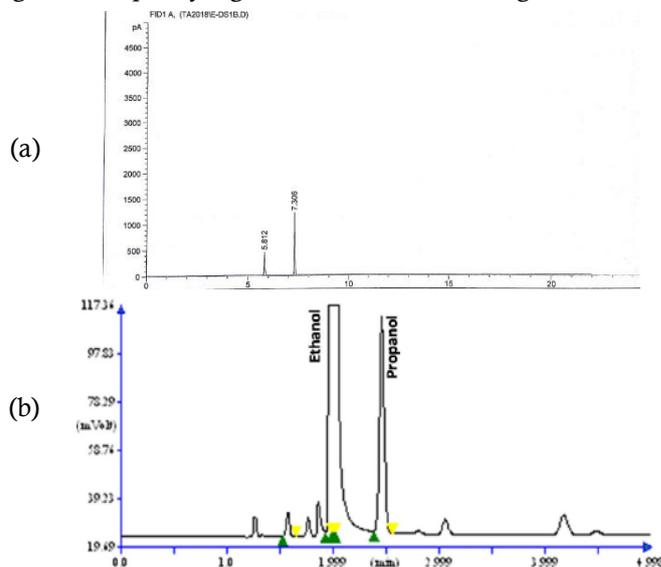
Sampel urin dipreparasi dengan tiga metode preparasi yaitu distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat. Metode distilasi didasarkan pada perbedaan titik didih cairan pada tekanan tertentu. Tingkat penguapan (volatilitas) masing-masing komponen berbeda-beda pada suhu yang sama. Pada pemisahan metanol dalam urin, metanol akan menguap pada suhu 64,5°C. Dikarenakan pada sampel urin ditambahkan adanya standar internal propanol yang merupakan alkohol dan juga bersifat volatil, maka pada saat proses distilasi suhu dijaga hingga titik didih propanol yaitu 97°C. Metanol akan keluar terlebih dahulu dan diikuti dengan propanol.

Metode preparasi yang lain yaitu dengan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair didasari oleh hukum distribusi Nerst yaitu zat terlarut akan terbagi pada dua pelarut yang tidak saling bercampur sehingga dalam keadaan setimbang. Selain itu, prinsip percobaan ekstraksi cair-cair juga didasari hukum *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam senyawa polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Pada ekstraksi cair-cair digunakan pelarut kloroform. Kloroform termasuk ke dalam pelarut semipolar yang memiliki nilai indeks bias 1,45 dan merupakan pelarut yang efektif untuk senyawa organik. Kloroform mudah larut dalam alkohol dan eter. Sifat kloroform inilah yang menjadi dasar digunakannya kloroform sebagai pelarut untuk ekstraksi cair-cair dikarenakan metanol merupakan senyawa alkohol.

Alternatif metode preparasi yang lain yaitu ekstraksi fase padat dimana analit dilewatkan pada kolom yang berisi adsorben fase padat dan dielusi dengan pelarut tertentu. Adsorben yang dipilih disesuaikan dengan analit yang akan dijerap sedangkan untuk pelarut yang dipilih harus mampu memutuskan ikatan antara analit dengan penjerap sehingga analit akan tertuju keluar (terelusi) sementara senyawa pengganggu tertahan pada penjerap. Pada ekstraksi fase padat digunakan adsorben berupa florisil. Florisil adalah gel

silika yang berisi magnesita. Florisil bersifat polar dan ideal untuk senyawa polar dari matriks nonpolar. Ukuran partikel yang lebih besar dari sorben memungkinkan aliran cepat untuk volume sampel yang besar sehingga dapat menjadi alternatif jika matriks sampel memiliki viskositas yang tinggi.

Pada penelitian ini digunakan kontrol sampel urin tanpa penambahan metanol. Pada kontrol dilakukan analisis terhadap sampel urin dengan dipreparasi menggunakan metode distilasi dan mendapatkan hasil analisis yaitu dalam urin kontrol tidak terdeteksi metanol. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya kromatogram atau *peak* yang muncul dalam kromatogram.



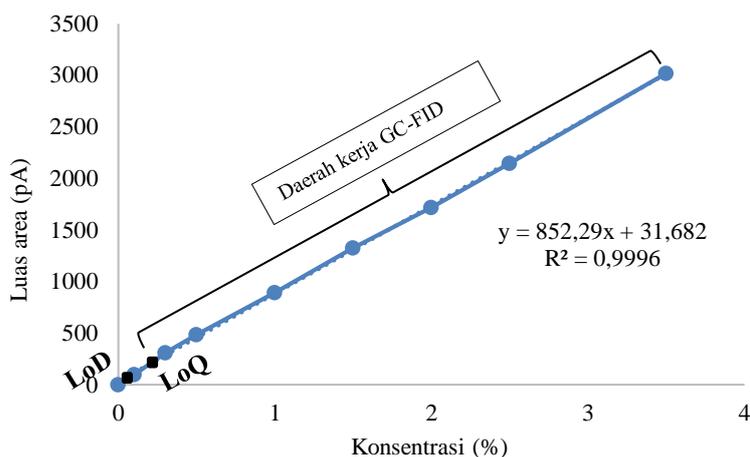
Gambar 1. (a) Kromatogram sampel urin dengan metode distilasi menggunakan GC-FID (b) Perbandingan kromatogram sampel darah dengan metode distilasi menggunakan HS GC-FID (Sudhaker & Jain, 2016)

Gambar 1 menunjukkan adanya kromatogram atau *peak* yang muncul yaitu metanol dan propanol. Berdasarkan titik didih metanol yaitu $64,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, metanol akan muncul pada waktu retensi di menit ke-3,4. Pada gambar 1 kromatogram memberikan puncak pada waktu retensi 5,8 (metanol) dan 7,3 (propanol) Waktu analisis menjadi hampir dua kali lipat dikarenakan panjang kolom yang digunakan diperbesar dari 30 m menjadi 60 m.

Standar internal yang digunakan dalam analisis larutan standar maupun sampel yaitu n-propanol. n-propanol mempunyai struktur kimia dan sifat-sifat fisika yang hampir sama dengan metanol. Standar internal digunakan dalam analisis kromatogram karena fluktuasi parameter-parameter instrumental dapat mempengaruhi keakuratan dalam analisis (Cairns, 2009). Metanol dan propanol memiliki waktu retensi yang berdekatan namun memiliki pemisahan puncak yang baik. Hal ini sesuai dengan penelitian Sudhaker & Jain (2016) dimana penggunaan propanol sebagai internal standar bagus untuk penentuan etanol dan metanol dengan GC-FID.

Kromatogram dari metode preparasi tidak menunjukkan adanya pengotor yang ikut dalam analisis menggunakan GC-FID. Hal ini dapat dinyatakan ketiga metode preparasi memiliki selektivitas yang tinggi. Metode analisis dinyatakan memiliki selektivitas yang tinggi ditunjukkan dengan kromatogram yang dihasilkan tidak terdapat *peak* lain di sekitar waktu retensi metanol, propanol dan kloroform.

Linearitas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk mendapatkan hasil yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran yang ada (Aradea, 2014). Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan standar dalam mendeteksi analit dalam contoh. Linearitas biasanya dinyatakan dengan istilah variansi disekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematis data yang diperoleh dari hasil pengukuran analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perhitungan hasil analisis diperoleh persamaan garis regresi senyawa standar.



Gambar 2. Limit deteksi, limit kuantitasi dan daerah kerja GC-FID pada analisis metanol

Gambar 2 dapat diketahui persamaan regresi linier $y = 852,29x + 31,682$ dan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9996. Bentuk kurva yang didapatkan mengikuti hukum *Lamber-Beer* yaitu dengan meningkatnya konsentrasi maka luas area yang dihasilkan semakin tinggi. Respon yang diberikan oleh alat GC-FID terhadap konsentrasi metanol telah memenuhi syarat menurut Handayani & Lestari (2012) dimana nilai koefisien relasi $>0,997$. Hasil tersebut menunjukkan alat yang digunakan mempunyai respon yang baik terhadap sampel.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Muna *et al.* (2015) mengenai uji linearitas terhadap standar metanol dengan konsentrasi pada rentang 50-1000 mg/L menggunakan GC-FID menunjukkan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,99924. Nilai koefisien relasi pada penelitian ini memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan hasil dari penelitian Muna *et al.* (2015). Hal ini berarti alat GC-FID memberikan hasil yang baik dalam pengukuran metanol. Semakin banyak konsentrasi larutan standar yang digunakan untuk uji linearitas maka ketelitiannya semakin bagus. Rentang konsentrasi metanol yang tinggi juga dianjurkan karena GC-FID cocok untuk penentuan sampel dengan berbagai variasi konsentrasi metanol (Wang *et al.*, 2004).

Limit of Detection (LoD) atau limit deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan *Limit of Quantitation* (LoQ) atau limit kuantitasi adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat (Hidayati, 2013). Penentuan batas deteksi menggunakan instrumen dapat dilakukan dengan mensubstitusi luas area kromatogram dari data yang diperoleh ke dalam persamaan regresi linier. Apabila konsentrasi analit berada dibawah limit deteksi maka sinyal yang ditangkap detektor adalah *noise*, sehingga konsentrasi analit yang berada dibawah limit deteksi memiliki akurasi yang rendah.

Nilai LoD dan LoQ diperoleh berdasarkan pada standar deviasi. Nilai LoD diperoleh dari tiga kali standar deviasi x/y dibagi dengan slope, sedangkan nilai LoQ sepuluh kali standar deviasi x/y dibagi dengan slope dari persamaan regresi. Dari hasil perhitungan didapatkan nilai LoD sebesar 0,0743% dan nilai LoQ sebesar 0,2477%. Konsentrasi metanol dalam sampel yang dapat dideteksi harus melebihi 0,0743% dan dipercaya sebagai sinyal analit. Apabila konsentrasi analit yang diperoleh berada dibawah nilai LoD, maka sinyal yang didapat tidak dapat dipercaya dan berupa *noise*. Nilai LoD dan LoQ dapat digunakan untuk menentukan daerah kerja dari suatu alat yang disajikan pada Gambar 2.

Agustina (2018) telah melakukan penelitian mengenai validasi metode penentuan metanol dan etanol dalam minuman beralkohol dengan menggunakan instrumentasi *Gas Chromatography* (GC). Berdasarkan hasil pengujian diperoleh nilai LoD metanol sebesar 2,14% dan LoQ sebesar 7,14% dengan nilai ketidakpastian pengukuran $1,05 \pm 0,73\%$. Nilai LoD dan LoQ pada penelitian ini lebih kecil jika dibandingkan dengan LoD dan LoQ pada penelitian Agustina (2018). Hal ini menunjukkan alat GC-FID dalam kondisi yang baik dan dapat digunakan untuk menganalisis metanol dalam sampel.

Akurasi adalah suatu kedekatan kesesuaian antara hasil suatu pengukuran dan nilai benar dari kuantitas yang diukur atau suatu pengukuran posisi yaitu seberapa dekat pengukuran terhadap nilai benar yang diperkirakan (Hidayati, 2013). Pada penelitian ini, dilakukan uji akurasi dengan metode perolehan kembali atau *recovery*. Metode *recovery* dilakukan dengan menambahkan *spike* dari larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam sampel dan dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan *spike*. Uji

perolehan kembali (*recovery*) digunakan dibanding dengan material standar dan metode baku, karena uji *recovery* lebih mudah dilakukan dan dengan biaya yang lebih murah.

Tabel 1. Hasil uji *recovery* metode preparasi distilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat dengan GC-FID

Metode preparasi	% <i>Recovery</i>
Distilasi	95,56
Ekstraksi cair-cair	62,40
Ekstraksi fase padat	66,55

Berdasarkan Tabel 1, nilai persentase *recovery* pada metode distilasi sebesar 95,56%. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai persentase *recovery* dari suatu standar antara 90-110% (Sumardi, 2002). *Recovery* yang didapat 95,56% sehingga sudah memenuhi syarat keberterimaan *recovery*. Hal ini menunjukkan metode preparasi distilasi mempunyai ketepatan yang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya. Pada metode preparasi dengan ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat didapatkan nilai persentase *recovery* masing-masing sebesar 62,40% dan 66,55%. Nilai tersebut tidak memenuhi syarat keberterimaan *recovery* yang berarti metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat mempunyai ketepatan yang kurang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya.

Dari ketiga hasil *recovery* yang didapat dari masing-masing metode preparasi, hanya metode distilasi yang memenuhi syarat keberterimaan *recovery* sehingga dapat disimpulkan bahwa metode distilasi lebih akurat dibandingkan dengan ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat memiliki akurasi yang rendah karena konsentrasi terukur sampel berada dibawah nilai LoQ. Metode distilasi memiliki persentase *recovery* tinggi karena pada proses distilasi menggunakan sistem tertutup sehingga dapat meminimalisir hilangnya metanol saat preparasi.

Ketidakakuratan metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Metanol yang bersifat volatil dapat hilang pada saat pembuangan tekanan uap (gas) ketika ekstraksi dilakukan atau metanol tidak terekstrak secara sempurna ke dalam fasa kloroform. Hal ini dikarenakan kloroform memiliki nilai polaritas yang berbeda dengan metanol. Menurut prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam senyawa polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar, maka metanol tidak akan terekstrak sempurna ke dalam kloroform karena perbedaan polaritas. Sedangkan pada ekstraksi fase padat, florisis memberikan selektifitas yang bagus dimana pengotor dalam urin terjerat dalam penjerap. Penggunaan florisis ideal untuk isolasi senyawa polar dari matriks nonpolar. Namun, Penggunaan eluen berupa kloroform tidak sepenuhnya dapat memutuskan ikatan antara metanol dengan florisis sehingga diperlukan suatu eluen yang lebih polar agar ikatan antara metanol dan florisis dapat terlepas tanpa memutuskan ikatan pengotor dengan florisis.

Berdasarkan penelitian Sudhaker & Jain (2016) menunjukkan bahwa preparasi dengan distilasi memberikan *recovery* yang baik. Persentase *recovery* yang didapat pada sampel urin dan darah masing-masing sebesar 81-86% dan 85-94%. Sampel urin memberikan persentase *recovery* yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel darah. Hal ini dikarenakan alkohol dalam urin bersifat lebih stabil (Nisak, 2008). Persentase *recovery* pada penelitian ini memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Sudhaker & Jain (2016) sehingga dapat disimpulkan akurasi dari metode distilasi tinggi.

Uji presisi berarti kedekatan antar tiap hasil uji pada suatu pengujian yang sama untuk melihat sebaran diantara nilai benar. Pada penelitian ini, uji presisi dilakukan dengan pendekatan *repeatability* yaitu metode, pelaksana, peralatan, laboratorium, dan dalam interval pemeriksaan waktu yang singkat. Metode *repeatability* dianggap lebih efisien karena waktu yang digunakan lebih singkat serta dengan proses lebih mudah. Perolehan tingkat presisi dilakukan pengulangan masing-masing 3 kali terhadap ketiga metode yang berbeda.

Suatu nilai ketelitian dinyatakan dalam *Relative Standar Deviation* (%RSD). Besarnya RSD menyatakan tingkat ketelitian analisis, semakin kecil %RSD yang dihasilkan maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya. Hasil analisis %RSD dengan pendekatan *repeatability* dengan metode distilasi, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel 2. Hasil %RSD metode preparasi distilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat dengan GC-FID

Metode preparasi	% RSD
Distilasi	2,03
Ekstraksi cair-cair	3,00
Ekstraksi fase padat	6,77

Tabel 2 menunjukkan %RSD metode distilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat masing-masing sebesar 2,03; 3,00 dan 6,77%. Uji presisi dianggap baik apabila %RSD masuk dalam kriteria keberterimaan yaitu $\%RSD < \frac{2}{3} CV$ Horwitz (Aradea, 2014). Hasil analisis diketahui bahwa %RSD memenuhi syarat yaitu nilai $\%RSD < \frac{2}{3} CV$ Horwitz. Hal ini menunjukkan bahwa metode preparasi memiliki keterulangan yang baik. Menurut Sumardi (2002), metode distilasi dan ekstraksi cair-cair mempunyai ketelitian yang sedang karena %RSD yang didapat $2\% < RSD \leq 5\%$. Sedangkan metode ekstraksi fase padat memiliki ketelitian yang kurang karena $\%RSD > 5\%$. Berdasarkan nilai %RSD, metode distilasi dianggap memiliki presisi yang baik dibandingkan dengan ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Hal ini dikarenakan %RSD pada metode distilasi memiliki nilai yang kecil dibandingkan dengan %RSD metode lain.

Pada penelitian Sudhaker & Jain (2016) mengenai efek penggunaan propanol sebagai standar internal pada penentuan etanol dalam darah dan urin menunjukkan bahwa penggunaan propanol berpengaruh terhadap hasil presisi. Metode presisi antara memberikan hasil %RSD terhadap penambahan dan tanpa penambahan propanol masing-masing sebesar 1,83-6,57% dan 3,17-8,37%. Penggunaan propanol mempengaruhi hasil ketelitian suatu metode dalam analisis metanol menggunakan GC-FID. Penelitian Vazques *et al.* (2010) mengenai penentuan senyawa volatil dalam minuman *wine* memberikan hasil %RSD metanol dengan metode *reproduceability* sebesar 4-6%. Apabila dibandingkan dengan hasil uji presisi metode *repeatability* dengan distilasi pada penelitian ini, maka %RSD dengan metode *repeatability* lebih baik dibandingkan dengan metode *reproduceability* dan presisi antara.

Simpulan

Berdasarkan ketiga metode preparasi yang berbeda, metode preparasi yang tepat terhadap penentuan kuantitatif metanol dalam urin yang diuji dengan *Gas Chromatography* (GC) adalah metode distilasi dengan hasil validitas uji akurasi yang dinyatakan dalam persentase *recovery* sebesar 95,56% dan uji presisi yang dinyatakan dalam %RSD sebesar 2,03%. Metode distilasi merupakan metode yang valid dibandingkan dengan metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat dikarenakan proses distilasi merupakan sistem tertutup sehingga meminimalisir hilangnya metanol selama proses preparasi yang dilakukan.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNNES, Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si., Endah Fitriani Rahayu, S.Si, M.Sc., Bowo Nurcahyo, S.Si., M. Biotech., dan Agung Tri Prasetya, S.Si., M.Si. atas saran dan ide yang telah diberikan demi kesempurnaan tulisan ini. Ketua Laboratorium Forensik POLRI Cabang Semarang atas ijin yang diberikan untuk penelitian dan menggunakan alat instrumentasi GC-FID. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyusunan tulisan ini.

Daftar Pustaka

- Agustina, A. 2018. Penetapan Kadar Metanol dan Etanol dalam Minuman Beralkohol dengan Kromatografi Gas di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia
- Aradea, A. 2014. *Your Reliable Partner for Accredited Lab*. Semarang. PT Merck Tbk
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga
- Cairns, D. 2009. *Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Dorokhov, Y.L., V. Anastasia, E.V. Shindyapina, Sheshukova, & V.K. Tatiana. 2015. Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. *Physiol Rev*, 95: 603-644
- Hamidah, M. & K. Yulianti. 2017. Temuan Post Mortem Akibat Keracunan Metanol. *E-Jurnal Medika*, 6(7): 1-7

- Handayani, H.N. & N.O. Lestari. 2012. Isolasi Metamfetamina di dalam Urin dengan Menggunakan *Solid Phase Extraction* (SPE). *Tugas Akhir*. Bandung: Politeknik Negeri Bandung
- Hendrayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya
- Hernanz, D., V. Gallo, A.F. Recamales, A.J.M. Martinez, & F.J. Heredia. 2008. Comparison of the Effectiveness of Solid-Phase and Ultrasound-Mediated Liquid-Liquid Extractions to Determine the Volatile Compounds of Wine. *Talanta*, 76: 929-935
- Hidayati, E.N., M. Alauhdin, & A.T. Prasetya. 2014. Perbandingan Metode Destruksi Pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 3(1): 36-41
- Martinelli, M., A.A.R. Alves, T.M. Uekane, A.H. Oliveira, R.S. Campos, C.M, Rezende, & M.J.O. Fonesca. 2013. Analysis of Volatile Compounds in Fuyu Persimmon: Comparison of Extraction Techniques by GC-qMS, *Prosiding 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies*. Brasil: Rio de Janeiro
- Muna, E.D.M., C.H.B. Bizarri, J.R.M. Maciel, G.P. Rocha, & I.O. Araujo. 2013. Method Validation for Methanol Quantification Present in Working Places. *Journal of Physics*, 1: 1-8
- Nisak, N. 2008. Penentuan Kadar Alkohol dalam Urin dengan Kromatografi Gas. *Skripsi*. Bukit Jimbaran: FMIPA Universitas Udayana
- Pontes, H., P.G.D. Pinho, S. Casal, H. Carmo, A. Santos, T. Magalhaes, F. Remiao, F. Carvalho, & M.L. Bastos. 2009. GC Determination of Acetone, Acetaldehyde, Ethanol, and Methanol in Biological Matrices and Cell Culture. *Journal of Chromatographic Science*, 47: 272-278
- Suaniti, N., I. Asih, & N. Astuti. 2012. Deteksi Etanol setelah Konsumsi Arak dalam Urin dengan Gas Chromatography. *Jurnal Kimia*, 6(2): 123-126
- Sudhaker, S. & R. Jain. 2016. Effect of Using Propanol as Internal Standard on Quantitative Determination of Ethanol in Different Biological Matrices by Head Space-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Madridge Journal of Analytical Sciences and Instrumentation*, 1(1): 1-3
- Sumardi. 2002. *Validasi Metode Pengujian*. Makalah disampaikan pada Pelatihan Asesor Laboratorium Penguji. Jakarta: Pusat Standarisasi dan Akreditasi Sekretariat Jenderal Departemen Pertanian
- Vazquez, C.L., M.H. Bollain, K. Berstsch, & I. Orriols. 2010. Fast Determination of Principal Volatile Compounds in Distilled Spirits. *Food Control*, 21: 1436-1441
- Wang, M.L., J.T. Wang, & Y.M. Choong. 2004. A Rapid and Accurate Method for Determination of Methanol in Alcoholic Beverage by Direct Injection Capillary Gas Chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 187-196
- Widyanti, E.M. 2010. Produksi Asam Sitrat dari Substrat Molase pada Pengaruh Penambahan VCO (*Virgin Coconut Oil*) terhadap Produktivitas *Aspergillus Niger* Ltbcc L74 Terimobilisasi. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro