

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Deskripsi Metode Pendekatan *Review* Artikel

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *review* artikel yang merupakan suatu metode penelitian untuk pengambilan kesimpulan yang menggabungkan beberapa penelitian yang sejenis sehingga diperoleh paduan data secara kuantitatif. Metode *review* artikel ini dengan mengumpulkan data atau sumber yang berhubungan dengan penentuan kadar etanol dalam minuman dan validasi metode, menggunakan sumber acuan dari berbagai macam jurnal penelitian yang sesuai dengan topik penelitian. Jurnal yang direview memiliki kriteria jurnal penelitian nasional maupun internasional.

Adapun langkah-langkah dalam melakukan *review* artikel pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mencari artikel penelitian yang terkait dengan topik penelitian yang dilakukan. Pada tahap ini pencarian artikel dilakukan pada pada situs jurnal ilmiah seperti *Google Scholar* dengan menggunakan kata kunci “Validasi dan penetapan kadar etanol dalam minuman dengan kromatografi gas”. Artikel yang digunakan merupakan artikel dengan batas waktu 10 tahun terakhir, artikel nasional yang terakreditasi SINTA (*Science and Technology Index*) dan artikel internasional yang terdaftar dalam *Schimago Jurnal Rank*.
2. Melakukan perbandingan dari artikel-artikel penelitian-penelitian sebelumnya dengan merujuk pada simpulan umum pada masing-masing

artikel tanpa melakukan analisis statistik atau analisis mendalam pada data dan hasil penelitiannya.

- Menyimpulkan hasil perbandingan artikel disesuaikan dengan tujuan penelitian.

B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel

Penelitian ini menggunakan 5 artikel jurnal acuan untuk dilakukan *review* artikel sehingga menjadi dasar utama dalam penyusunan hasil dan pembahasan dalam naskah skripsi. Artikel jurnal yang digunakan terdiri dari satu artikel internasional yang terdaftar dalam *Schimago Jurnal Rank* dan empat artikel nasional yang terakreditasi SINTA. Semua artikel merupakan jurnal *original* yang sudah terdaftar atau terakreditasi dan dapat dipertanggung jawabkan. Berikut merupakan keterangan identitas setiap artikel yang disajikan dalam tabel 3.2.

Tabel 3.2 Informasi dan jenis artikel

1.	Jurnal MEDFARM: Farmasi dan Kesehatan	Judul Penetapan Kadar Etanol pada Arak Jowo yang Beredar di Wilayah Ponorogo pada Bulan Januari–Maret 2019 dengan Metode Kromatografi Gas	
		Tahun	2019
		H-index	3
		Quartil	S5
		ISSN	2715-9957
2.	Indonesian Journal of Chemical Science	Judul Optimalisasi Metode Penentuan Kadar Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan Menggunakan Kromatografi Gas (KG)	
		Tahun	2019
		H-index	17

	Quartil	S4
	p-ISSN	2252-6951
	e-ISSN	2502-6844
3.	Jurnal	Validasi Metode dalam Penentuan Kadar Etanol pada Arak Dengan Menggunakan Kromatografi Gas Detektor Ionisasi Nyala
	Kimia	
	(Journal of Chemistry)	
	Judul	
	Tahun	2018
	H-index	7
	Quartil	S3
	p-ISSN	1907-9850
	e-ISSN	2599-2740
4.	Judul	Analisis Kadar Alkohol Produk Kombucha Daun Permot (<i>Passiflora foetida</i> L.) Asal Makassar Sulawesi Selatan Secara Kromatografi Gas
	As-Syifaa	
	Tahun	2013
	H-index	7
	Quartil	S5
	p-ISSN	20854714
	e-ISSN	25029444
5.	Judul	<i>Simultaneous Gas Chromatographic Quantitation of Ethanol and Methanol from Beer</i>
	International Journal Of Scientific & Technology	
	Tahun	2020
	H-index	18
	Quartil	Q4
	ISSN	2277-8616

C. Isi Artikel

1. Artikel Pertama

Judul Artikel : Penetapan Kadar Etanol pada Arak Jowo yang Beredar di Wilayah Ponorogo pada Bulan Januari–Maret 2019 dengan Metode Kromatografi Gas

Nama Jurnal : MEDFARM: Farmasi dan Kesehatan
Penerbit : Akafarma Sunan Giri Ponorogo
Volume dan Halaman : Volume 18, Nomor 1, Halaman 15-20
Tahun Terbit : 2019
Penulis Artikel : Yaya Sulthon Aziz, Dian Hariyani

a. Isi Artikel

1.) Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui adanya etanol pada minuman keras Arak Jowo dan untuk mengetahui kadar etanol yang terdapat pada minuman Arak Jowo yang beredar di Kabupaten Ponorogo.

2.) Metode Penelitian :

a.) Desain Penelitian : Eksperimental

b.) Populasi dan Sampel : Menggunakan sampel minuman keras Arak Jowo yang sudah ditangani pihak Polres Ponorogo mulai bulan Januari, Februari dan Maret 2019. Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan random sampling di Polres Ponorogo.

c.) Instrumen Penelitian : Seperangkat alat kromatografi gas, seperangkat alat destilasi dan labu takar 10 mL.

d.) Metode Analisis :

1.) Preparasi Sampel

Destilat sebanyak 2,0 mL dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan n-propanol sampai batas, kemudian digojok hingga homogen batas, kemudian digojok hingga homogen.

2.) Penetapan kadar etanol

1. Sampel di injeksikan sebanyak 1 μ l ke dalam kromatografi gas yang sebelumnya sudah dilakukan optimasi.
2. Penetapan kadar etanol dilakukan dengan memasukkan nilai yang diperoleh ke dalam persamaan kurva baku etanol.

3.) Pembuatan baku etanol

1. Standart internal berupa n-propanolol ditambahkan ke dalam baku etanol.
2. Membuat larutan baku sehingga diperoleh konsentrasi etanol 10%, 20%, 30%, 40%, 50%. Kemudian ditambahkan standart internal berupa n-propanolol sampai batas labu takar 10 mL pada masing-masing larutan baku yang sudah disiapkan, kemudian digojok hingga homogen.

4.) Penentuan luas area

1. Pada masing-masing konsentrasi larutan baku diambil 1 μ l untuk di injeksikan pada alat kromatografi gas. Kemudian akan diperoleh kromatogram dan dihitung luas areanya, injeksi dilakukan sebanyak 3 kali.

3.) Hasil :

Pada optimasi dan pemilihan standart internal diperoleh hasil kromatogram propanolol yang memiliki resolusi cukup baik untuk digunakan sebagai standart internal.

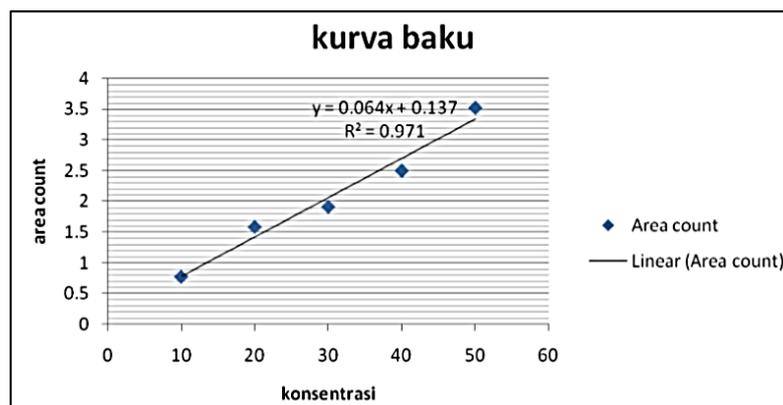
Pada uji kualitatif dengan membandingkan waktu retensi (tR) sampel dan waktu retensi (tR) etanol dengan menggunakan standar internal propanol. Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa waktu retensi standart yaitu 4,252 dan waktu retensi sampel yaitu 4,253 sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa pada sampel adalah etanol, karena pada uji kualitatif apabila waktu retensi standar sama dengan waktu retensi suatu komponen tertentu maka dapat diduga bahwa kedua senyawa tersebut sama.

Pada pembuatan kurva baku etanol diperoleh hasil seperti pada pada tabel 3.3 berikut ini.

Tabel 3.3 Kurva Baku Etanol

No.	Konsentrasi standart (%)	Area ethanol	Area n-propanolol	Area count
1.	10	138864	178982	0,775854555
2.	20	269030	169757	1,584794736
3.	30	548373	286778	1,91218643
4.	40	852020	340880	2,499471955
5.	50	1383224	392929	3,520289925

Pada uji kuantitatif dilakukan penetapan kadar etanol berdasarkan data AUC kemudian dilakukan perhitungan dengan cara mensubstitusikan nilai x (konsentrasi) dan y (area count etanol/area count n-propanol), maka diperoleh persamaan garis regresi $y = bx+a$ yaitu $y = 0,064x + 0,137$ dengan $R^2 = 0,971$. Diperoleh hasil seperti pada gambar 3.1.



Gambar 4.2 Kurva hubungan antara luas area dan konsentrasi

Setelah diperoleh persamaan regresi linier maka selanjutnya dapat menentukan kadar sampel etanol dengan menggunakan persamaan regresi linier tersebut. Hasil penentuan kadar pada penelitian ini seperti pada tabel 3.3.

Tabel 3.3 Kadar Sampel Etanol

No	Nama Sampel	Area Ethanol	Area n-propanolol	Area count	Konsentrasi (%)
1.	Sampel 1	333737	115905	2,879401234	42,84
2.	Sampel 2	303747	115985	2,618847264	38,77
3.	Sampel 3	332768	138786	2,397705820	35,31

Berdasarkan tabel 3.3 dapat diketahui bahwa konsentrasi dari ketiga sampel adalah berbeda. Pada sampel 1 diperoleh kadar etanol 42,84%, sampel 2 dengan kadar etanol 38,77% dan sampel 3 dengan kadar etanol 35,31%. Dari ketiga sampel tersebut sesuai dengan Peraturan Kepala BPOM dan masuk pada golongan C.

4.) Kesimpulan :

Pada penelitian ini, sampel arak jowo yang diperoleh dari Polres Ponorogo mengandung kadar etanol yang berbeda-beda. Hasilnya yaitu

pada sampel 1, 2 dan 3 secara berurutan adalah 42,84%, 38,77% dan 35,31% sehingga dapat dikatakan bahwa sampel arak jowo yang diperoleh dari Polres Ponorogo mengandung kadar etanol sesuai Peraturan Kepala BPOM pada golongan C.

2. Artikel Kedua

Judul Artikel : Optimalisasi Metode Penentuan Kadar Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan Menggunakan Kromatografi Gas (KG)

Nama Jurnal : *Indonesian Journal of Chemical Science*

Penerbit : Universitas Negeri Semarang

Volume dan Halaman : Volume 8, Nomor 1

Tahun Terbit : 2019

Penulis Artikel : Arisma Yanti, Sri Mursiti, Nuni Widiarti, Bowo Nurcahyo, dan M. Alauhdin

a. Isi Artikel

1.) Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui metode preparasi yang paling tepat dan keakuratan kromatografi gas terhadap penentuan kadar etanol dan metanol dalam minuman keras oplosan.

2.) Metode Penelitian :

a.) Desain Penelitian : Eksperimental

b.) Populasi dan Sampel : Sampel terdiri dari campuran etanol 4%, metanol 2%, dan minuman berenergi.

c.) Instrumen Penelitian : cartridge SPE, seperangkat alat destilasi sederhana, dan seperangkat alat instrumen kromatografi gas (agilent 6890 series).

d.) Metode Analisis

1.) Preparasi Sampel

1. Sampel dipreparasi dengan destilasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat.
2. Preparasi dengan destilasi, sebanyak 1,0 mL sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan 10 mL aquades. Campuran didestilasi dengan kondensor refluks.
3. Preparasi dengan ekstraksi cair-cair digunakan pelarut kloroform dengan perbandingan volume sampel:pelarut yaitu 1:1.
4. Preparasi dengan ekstraksi fase padat sebanyak 1,5 mL sampel dimasukkan ke cartridge berisi florisil yang telah dikondisikan dan dielusi dengan 1,5 mL kloroform.

2.) Penetapan kadar etanol

1. Hasil dari masing-masing preparasi diinjeksikan ke dalam kromatografi gas sebanyak 1,0 μ L.
2. Analisis dengan kromatografi gas 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.

3.) Validasi Metode

1. Uji linieritas, dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar metanol dan etanol sebanyak 1,0 µL. Data yang diperoleh berupa luas puncak yang dibuat persamaan regresi linear $y=bx+a$ dan ditentukan koefisien relasinya sebesar $>0,997$, maka metode tersebut memenuhi parameter linearitas.
2. Uji akurasi, dilakukan dengan metode perolehan kembali (%*Recovery*) yaitu dengan menambahkan larutan standar (*spike*) metanol dan etanol ke dalam sampel sebelum dipreparasi. Dilakukan juga uji sampel tanpa penambahan *spike*.
3. Uji presisi, dilakukan secara *repeatability* yaitu keseksamaan metode dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan waktu yang singkat. Preparasi sampel dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, lalu sampel diinjeksikan ke kromatografi gas. Data hasil kromatogram dihitung simpangan bakunya.

3.) Hasil :

Hasil linearitas kurva standar metanol dan etanol diperoleh koefisien korelasi 0,999 yang artinya memenuhi syarat dan menunjukkan adanya rentang konsentrasi yang diukur baik karena grafik dikatakan linier apabila koefisien korelasi $> 0,997$ (Handayani & Lestari, 2012).

Hasil LOD dan LOQ metanol masing-masing adalah 0,0743% dan 0,2477%, sedangkan LOD dan LOQ untuk etanol adalah 0,110% dan 0,368%. Berdasarkan hasil LOD dan LOQ metanol lebih rendah dibandingkan dengan etanol.

Uji akurasi diperoleh hasil %*recovery* metode distilasi metanol 102,79% dan etanol 100,26%. Uji akurasi metode ekstraksi cair-cair metanol 64,98% dan etanol 91,91%, sedangkan metode ekstraksi fase padat metanol 82,74% dan etanol 90,22%. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai %*recovery* dari suatu standar antara 90-110% (Riyanto, 2014b). Berdasarkan hasil %*recovery* hanya metode preparasi destilasi saja yang memenuhi persyaratan.

Hasil uji presisi diperoleh %RSD metode distilasi metanol 1,097% dan etanol 0,726%, metode ekstraksi cair-cair metanol 1,964% dan etanol 3,264%, sedangkan metode ekstraksi fase padat metanol 3,258% dan etanol 1,497%. Metode distilasi dianggap memiliki presisi yang baik dibandingkan dengan ekstraksi cair-cair

dan ekstraksi fase padat karena memiliki nilai %RSD yang kecil dibandingkan dengan metode lain.

4.) Kesimpulan :

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa metode destilasi merupakan metode yang paling tepat digunakan untuk menentukan kadar etanol dan metanol pada minuman keras oplosan menggunakan kromatografi gas.

3. Artikel Ketiga

Judul Artikel : Validasi Metode Dalam Penentuan Kadar Etanol Pada Arak Dengan Menggunakan Kromatografi Gas Detektor Ionisasi Nyala

Nama Jurnal : Jurnal Kimia (*Journal of Chemistry*)

Penerbit : Universitas Udayana

Volume dan Halaman : Volume 11, Halaman 128-133

Tahun Terbit : 2018

Penulis Artikel : N. P. Widya Astuti, N. M. Suaniti, I G. Mustika

a. Isi Artikel

1.) Tujuan Penelitian: Untuk melakukan validasi metode kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala untuk menentukan kadar etanol dalam arak.

2.) Metode Penelitian

- a.) Desain Penelitian : Eksperimental
- b.) Populasi dan Sampel : Arak hasil produksi di Kecamatan Sidemen Kabupaten Karangasem Bali, etanol, butanol dan aquades.
- c.) Instrumen Penelitian : Labu ukur 10 mL, pipet mikro, gelas beker, kromatografi gas GC-agilent *Technologies* 6890-N *Network GC System*, kolom HP InnoWax panjang 30 m; diameter 0,32 μm dan laju alir 0,70 mL/menit, dengan fase diam polietilen glikol, detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector*, FID), gas pembawa helium (He), dan *make-up* gas nitrogen (gas tambahan).
- d.) Metode Analisis :

1.) Penyiapan larutan standar

Larutan induk (metanol, etanol dan butanol) 1000 ppm diencerkan menjadi 50 ppm. Lalu dibuat larutan campuran dengan perbandingan 1:1:1 dari metanol, etanol, butanol konsentrasi 1000 ppm dan diencerkan menjadi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm.

2.) Optimasi Kondisi Kromatografi Gas

1. Larutan metanol, etanol, butanol masing-masing dengan konsentrasi 50 ppm diinjeksikan ke dalam injektor kromatografi gas sebanyak 1,0 μL .

2. Lalu, larutan campuran metanol, etanol, butanol dengan perbandingan 1:1:1 konsentrasi 50 ppm diinjeksikan ke dalam injektor kromatografi gas sebanyak 1,0 μ L.

3.) Validasi Metode

1. Selektivitas, dilakukan dengan cara menginjeksikan metanol, etanol, butanol, dan sampel arak sebanyak 1,0 μ L. Selektivitas dikategorikan baik apabila terjadi pemisahan pada kromatogram dengan nilai $R_s \geq 1,5$.
2. Linieritas, satu seri konsentrasi larutan campuran 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm masing – masing diinjeksikan sebanyak 1,0 μ L ke dalam kromatografi gas. Data yang diperoleh dibuat persamaan regresi linier $y=bx + a$.
 - a. Jika $R^2 \geq 0,95$ maka metode tersebut memenuhi parameter linieritas.
3. Batas deteksi, batas deteksi ditentukan dari data persamaan regresi.
4. Ketelitian dan ketepatan, dilakukan dengan menginjeksikan larutan campuran 50 ppm sebanyak 1,0 μ L dengan replikasi sebanyak 3 kali. Setelah memperoleh data dihitung standar deviasi (SD), koefisien variasi (KV) dan *area under curve* (AUC) kromatogram etanol.

3.) Hasil :

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu retensi pada sampel yaitu 4,634 dan 8,295. Sedangkan waktu retensi larutan standar yaitu 4,167 (metanol), 4,646 (etanol), 8,282 (butanol), 11,232 (asam asetat). Sehingga arak diduga mengandung etanol dan butanol tetapi tidak mengandung metanol dan asam asetat.

Pada validasi metode diperoleh nilai selektivitas senyawa standar $R_s \geq 1,5$, artinya senyawa terpisah sempurna dari senyawa yang lain sehingga menunjukkan bahwa kromatografi gas memiliki selektivitas tinggi.

Pada linieritas diperoleh persamaan regresi linier seperti pada tabel 3.4.

Tabel 3.4 Persamaan garis regresi standar

Standar	Persamaan garis regresi ($y=bx+a$)	Koefisien korelasi (r)
Metanol	$y=0,34x - 1,41$	0,9998
Etanol	$y=0,32x - 0,79$	0,9998
Asam Asetat	$y=0,34x - 5,08$	0,9855

Berdasarkan tabel 3.4 dapat diketahui bahwa nilai koefisien korelasi memenuhi persyaratan karena mendekati 1. Hal ini menunjukkan bahwa alat kromatografi gas yang digunakan mempunyai linieritas tinggi.

Hasil validasi batas deteksi diperoleh bahwa senyawa standar metanol = 0,1059 ng; etanol = 0,1688 ng; dan asam asetat = 0,0837

ng. Batas deteksi dari masing – masing standar di bawah 5,0 ng yang artinya alat kromatografi gas mempunyai sensitifitas yang tinggi.

Hasil validasi ketelitian menunjukkan koefisien variasi masing – masing standar yaitu metanol 0,7%; etanol 1,8% dan asam asetat 1,8%. Artinya koefisien variasi dari standar sudah memenuhi syarat yaitu $\leq 2\%$. Sehingga dapat diketahui bahwa kromatografi gas memberikan keelitian dengan validitas tinggi.

Hasil validasi ketepatan diperoleh hasil yaitu metanol 3,54%; etanol 3,53% dan asam asetat 0,79%. Artinya memenuhi syarat yaitu kurang dari 5%. Sehingga kromatografi yang digunakan mempunyai validitas yang tinggi (Suaniti, 2011).

Pada penentuan kadar etanol dalam arak diperoleh hasil bahwa waktu retensinya yaitu 4,634 (etanol) dan 8,295 (butanol) dan kadar etanol pada arak yaitu 17,88% yang dihitung menggunakan persamaan kurva kalibrasi.

4.) Kesimpulan :

Pada penelitian ini diketahui bahwa metode kromatografi gas dengan menggunakan standar internal memberikan hasil dengan validasi yang tinggi. Hal ini dilihat dari nilai selektivitas dari masing – masing standar $R_s > 1,5$. Nilai linieritas yang baik dari masing-masing standar dengan koefisien korelasi yaitu $r \approx 1$. Batas deteksi metanol = 0,1059 ng; etanol = 0,1688 ng; asam asetat = 0,0837 ng memenuhi syarat di bawah 5,0 ng. Nilai ketelitian metanol 0,7%;

etanol 1,8% dan asam asetat 1,8% memenuhi syarat yaitu $\leq 2\%$. Nilai ketepatan yaitu metanol 3,54%; etanol 3,53% dan asam asetat 0,79% memenuhi syarat kurang dari 5%. Sehingga, metode kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala (GC-FID) yang telah dilakukan validasi dapat digunakan untuk menentukan kadar etanol dalam arak.

4. Artikel Keempat

Judul Artikel : Analisis Kadar Alkohol Produk Kombucha Daun Permot (*Passiflora Foetida* L.) Asal Makassar Sulawesi Selatan Secara Kromatografi Gas

Nama Jurnal : As-Syifaa

Penerbit : Universitas Muslim Indonesia

Volume dan Halaman : Volume 5, Nomor 2, Halaman 112-118

Tahun Terbit : 2013

Penulis Artikel : Herwin, Rachmat Kosman, Fitriani

a. Isi Artikel

1.) Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui kadar alkohol produk kombucha daun permot (*Passiflora foetida* l.) asal Makassar Sulawesi Selatan secara kromatografi gas.

2.) Metode Penelitian

- a. Desain Penelitian : Eksperimental
- b. Populasi dan Sampel : Daun permot (*Passiflora foetida* L.) yang dipetik pada pukul 10.00 wita dan disortasi.
- c. Instrumen Penelitian : Autoklaf (*Smic Model YX-280 B*), Erlenmeyer 1000 ml (*Iwaki pyrex*), gelas kimia 1000 mL (*Iwaki Pyrex*), gelas ukur 100 ml (*Iwaki pyrex*), kromatografi gas (*SHIMIDZU 130.000*), *laminar air flow*, seperangkat alat destilasi dan timbangan analitik (*Chyo*).
- d. Metode Analisis
 - 1.) Sterilisasi alat dan bahan, dilakukan dengan mencuci alat-alat yang digunakan dengan air bersih lalu dikeringkan. Dilakukan sterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit pada gelas ukur dan kain saring. Dilakukan sterilisasi dengan oven suhu 180°C selama 2 jam pada botol dan batang pengaduk.
 - 2.) Penyiapan sampel, diawali dengan pengolahan sampel daun permot yang dipetik pada pukul 10.00 wita dan dilakukan sortasi, kemudian dikeringkan. Setelah kadar air berkurang lalu dihaluskan untuk membuat teh kombucha.
 - 3.) Penyiapan kultur kombucha, dilakukan dengan metode infuse, pertama ditimbang 15 g teh hijau lalu dimasukkan ke dalam panci yang diisi air, kemudian dipanaskan selama 15 menit dengan suhu 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring

dan dimasukkan ke dalam wadah kaca dan ditambahkan air matang sampai batas volume 100 mL. Hasil infuse teh hijau ditambahkan gula pasir 10% dan air matang hingga 1000 mL kemudian diaduk sampai gula larut. Setelah itu didinginkan sampai suhu $\pm 35^{\circ}\text{C}$. Pembuatan kultur dengan memasukkan lembaran jamur kombucha ke dalam toples yang berisi infus teh kemudian ditutup rapat dengan kain kasa steril lalu didiamkan. Fermentasi dilakukan hingga terbentuk lembaran jamur kombucha yang baru.

4.) Pembuatan Kombucha

Satu liter air direbus hingga mendidih dalam wadah stainless steel atau panci. Kemudian ditambahkan 10 gram teh dari daun permot ke dalamnya. Diamkan sekitar 15 menit hingga teh melarut. Lalu saring dengan kain untuk memisahkan ekstrak teh dengan ampas teh. Tambahkan gula sebanyak 100 gram saat air masih panas dan aduk hingga gula melarut sempurna. Diamkan hingga teh mencapai suhu ruangan (sekitar $25 - 27^{\circ}\text{C}$). Setelah itu dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambahkan bibit kombucha sebanyak 10% lalu ditutup dengan kain kasa. Dibiarkan pada suhu fermentasi selama 5 – 12 hari. Lapisan kombucha diangkat kemudian dicuci dengan air bersih. Hasil fermentasi selama 12 hari dimasukkan dalam botol kemasan kemudian disterilkan.

- 5.) Pengujian sediaan kombucha permot dengan proses destilasi dari filtrat hasil fermentasi kombucha daun permot (*Passiflora foetida* L.). Hasil destilasi dianalisis dengan kromatografi gas.
- 6.) Analisis kualitatif dengan kromatografi gas, dilakukan dengan membandingkan waktu retensi sampel yang merupakan alkohol hasil fermentasi teh kombucha permot (*Passiflora foetida* L.) dengan baku alkohol murni (etanol 99,8%).
- 7.) Analisis kuantitatif dengan kromatografi gas, sampel disuntikkan ke dalam kolom yang merupakan pemisahan sesungguhnya komponen cuplikan dengan menaikkan suhu pemanas.

3.) Hasil :

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar alkohol produk kombucha daun Permot (*Passiflora foetida* L.) yang telah dianalisis dengan kromatografi gas adalah 0,0627292% sedangkan berdasarkan literatur etanol dalam kombucha sebesar 0,5–1% dan berdasarkan MUI kadar etanol dalam minuman beralkohol <1%, sehingga produk kombucha pada penelitian ini memenuhi persyaratan sebagai minuman hasil fermentasi.

4.) Kesimpulan :

Pada penelitian ini diketahui bahwa produk kombucha daun Permot (*Passiflora foetida* L.) memiliki kadar alkohol sebesar

0,0627 % sehingga memenuhi persyaratan sebagai minuman hasil fermentasi.

5. Artikel Kelima

Judul Artikel	:	<i>Simultaneous Gas Chromatographic Quantitation Of Ethanol And Methanol From Beer</i>
Nama Jurnal	:	<i>International Journal Of Scientific & Technology Research</i>
Penerbit	:	<i>Universities and research institutions in India</i>
Volume dan Halaman	:	Volume 9, Nomor 2
Tahun Terbit	:	2020
Penulis Artikel	:	Chang-Hwan Oh

a. Isi Artikel

1.) Tujuan Penelitian : Untuk menentukan kadar etanol dan metanol dalam bir berdasarkan penggunaan kolom kapiler DB-624 yang digabungkan dengan injeksi alikuot langsung.

2.) Metode Penelitian :

a.) Desain Penelitian : Eksperimental

b.) Populasi dan Sampel : Tiga belas jenis bir domestik dan impor dari Korea Selatan. Bir dengan kode B-01 sampai B-10 diperoleh dari pasar lokal di Jecheon, Provinsi Chungbuk, Korea Selatan.

Bir dengan kode B-11 sampai B-13 diperoleh dari Bank Creek Brewery yang terletak di Bongyang-up, Jecheon. Semua sampel disimpan dalam lemari es suhu 4°C sebelum dianalisis dan disimpan pada suhu kamar sebelum dilakukan persiapan sampel.

c.) Instrumen Penelitian : Kromatografi gas agilent 7890 dengan detektor ionisasi nyala (FID), kolom kapiler DB-624. Fase gerak nitrogen atau helium, injektor split, oven, kertas saring kualitatif whatman, jarum suntik PTFE filter, botol autosampler tutup ulir ukuran 2 mL.

d.) Metode Analisis :

1.) Kurva standar dan preparasi sampel

1. Kurva standar etanol dan metanol, asetonitril dan etil asetat atau 1-butanol masing-masing digunakan sebagai standar internal.
2. Semua sampel bir disaring dengan kertas saring kualitatif Whatman tujuannya untuk menghilangkan bahan asing dan CO₂.
3. Sampel dimurnikan dengan jarum suntik PTFE filter dan dipindahkan ke dalam botol autosampler tutup ulir ukuran 2 mL sebelum dilakukan analisis dengan kromatografi gas.

2.) Analisis GC

Digunakan Agilent 7890 GC yang dilengkapi dengan *flame ionization detector* (FID) dan autosampler. Pada tahap

awal percobaan, digunakan nitrogen sebagai fase gerak kemudian digantikan oleh helium. Semua analisis dilakukan dengan kolom kapiler DB-624. Laju alir fase gerak nitrogen atau helium diprogram 1 mL/menit pada mode aliran konstan. Suhu injektor split adalah 200°C dan suhu FID adalah 240°C. Suhu oven diprogram dari 40°C (ditahan selama 2 menit) dan dinaikkan menjadi 120°C secara bertahap sebesar 10°C/menit. Dan dengan cepat dinaikkan ke 240°C sebesar 20°C/menit dan ditahan sampai tidak ada lagi puncak yang dihasilkan. Ukuran sampel adalah 1 L dan rasio split injektor adalah 30:1. Semua analisis kromatografi gas dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

3.) Validasi Metode

Validasi metode dilakukan dengan larutan etanol 5% yang mengandung metanol 100 µg/mL. Presisi diperkirakan dengan 6 analisis ulangan. Pemulihan diperoleh dengan rasio persen dari konsentrasi yang diukur dengan konsentrasi tambahan untuk (RSD%, 1,1%) diperoleh tanpa etanol dan metanol kartrid C-18. Untuk memperkirakan efisiensi kolom kartrid C-18, kehilangan analit target diamati. Persentase etanol dari sampel, kolom kartrid C-18 yang diberi perlakuan dan sampel yang tidak diolah dibandingkan.

Batas deteksi (LOD) metanol diperoleh dengan analisis sampel metanol dengan pengurangan konsentrasi bertahap. Konsentrasi metanol pada nilai *signal to noise* (S/N) 3 dari puncak metanol ditetapkan sebagai LOD. Batas kuantitasi (LOQ) metanol diperkirakan dengan perkalian 3 kali LOD. Pada penelitian ini tidak dilakukan uji LOD dan LOQ pada etanol karena rentang konsentrasi target yang terlalu tinggi.

4.) Analisis Statistik

Rata-rata, persen deviasi standar relatif (% RSD), dan t-test nonparametrik dihitung dengan Sigma Plot (*ver. 13., Systat Software Inc., San Jose, CA, USA*).

5.) Hasil

a. Analisis Statistik

Linearitas kurva standar dinyatakan sebagai koefisien korelasi (R^2). Pada penelitian ini diperoleh koefisien korelasi yaitu 0,999 untuk etanol. Persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 1,0121x + 0,0028$. Ketepatan kadar etanol 5% masing-masing adalah 0,9 dan 1,5% untuk intra-hari dan antar-hari. Pemulihan etanol (pada kadar 5%) diperoleh hasil 100,5% tanpa langkah pemurnian kartrid C-18.

b. Kehilangan etanol karena filtrasi kolom kartrid C-18

Sebagai langkah pemurnian sampel, ekstraksi fase padat (SPE) menggunakan kartrid C-18 perlu diselidiki. Untuk mengetahui

%recovery etanol, dengan menyiapkan larutan etanol 5% dan dimurnikan menggunakan kartrid C-18. Diperoleh hasil bahwa rata-rata *%recovery* etanol dari tiga larutan etanol 5% yang dilakukan pemurnian kartrid C-18 adalah 75,0% dengan %RSD sebesar 2,2%, hal ini menunjukkan adanya kehilangan etanol selama SPE. Adanya kehilangan etanol selama SPE ini didukung oleh *%recovery* yang diperoleh tanpa dilakukannya pemurnian kartrid C-18 yaitu 100,2% (%RSD sebesar 1,1%). *%Recovery* dihitung dengan membandingkan nilai yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan persentase etanol yang tercantum pada label 13 bir yang dianalisis. Secara teoritis, pemurnian kartrid C-18 seharusnya tidak mengurangi hasil *%recovery* etanol. Namun, pada penelitian ini pemurnian kartrid C-18 mempengaruhi hasil *%recovery*, hal ini dapat terjadi kemungkinan disebabkan adanya masalah pada kartrid C-18.

c. Linearitas, LOD, LOQ, presisi dan akurasi analisis metanol

Pada penelitian ini diperoleh hasil koefisien korelasi (R^2) pada kurva standar metanol yaitu 0,999. Standar internal yang digunakan yaitu etil asetat dan butanol, sehingga diperoleh dua persamaan regresi linier yang berbeda. Pada etil asetat diperoleh rumus yaitu $y=1,4401x - 0,5605$ dan pada butanol diperoleh rumus $y=0,6661x - 0,0941$.

LOD dan LOQ metanol dalam larutan etanol 5% berturut-turut adalah 1,0 dan 3,0 g/mL. Hasil presisi metanol (200 mg/L dalam larutan etanol 5%) menggunakan standar internal etil asetat adalah presisi intra-hari 3,8% dan dan presisi antar-hari 5,4%, diperoleh dari %RSD. Sedangkan pada standart internal 1-butanol, diperoleh nilai presisi intra-hari yaitu 2,9% dan antar-hari yaitu 4,9%.

Hasil %*recovery* metanol (200 g/mL dalam larutan etanol 5%) dengan standar internal etil asetat yaitu 97,8% dan standart internal 1-butanol yaitu 92,5%.

d. Hasil analisis metanol dari kedua standar internal

Pada penelitian ini, konsentrasi metanol yang diperoleh dengan menggunakan standar internal 1-butanol secara signifikan lebih rendah daripada yang diperoleh dengan menggunakan standar internal etil asetat. Namun, keakuratan teknik tidak dapat ditentukan karena kurangnya metanol asli dalam standar bir. Oleh karena itu, pemulihan metanol dianalisis menggunakan sampel etanol 5% yang dibuat di laboratorium yang mengandung 500 g/mL metanol. Hasil yang diperoleh menunjukkan rata-rata persen perolehan kembali sebesar 96,9% untuk 1-butanol dan 130,7% untuk etil asetat.

e. Kadar etanol dan metanol yang diukur dalam sampel bir

Persentase etanol pada label yang tercantum dalam sampel bir yaitu 0,5% dari hasil pengukuran kadar yang dilakukan. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa semua sampel bir

mengandung <500 mg/L metanol, sehingga semua bir yang diuji memenuhi persyaratan hukum untuk kandungan etanol dan metanol dalam bir.

6.) Kesimpulan

Pada penelitian ini dilakukan analisis GC-FID langsung menggunakan kolom kapiler DB-624 untuk menentukan konsentrasi etanol dan metanol dalam bir. Diketahui bahwa pemurnian SPE menggunakan kartrid C-18 menyebabkan hilangnya pemulihan etanol. Standar internal yang tepat untuk analisis metanol adalah 1-butanol dibandingkan penggunaan etil asetat sebagai standar internal, karena etil asetat menghasilkan estimasi berlebih dari kandungan metanol. Semua sampel bir memenuhi persyaratan.