

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Hasil Penelitian Terdahulu

Hasil dari penelitian (Mustarichie *et al*, 2017), berjudul *Analysis of Forbidden Pharmaceutical Compounds in Antirheumatic Jamu*, yang didalamnya peneliti menganalisis BKO pada jamu antirematik menggunakan KLT-Densitometri dengan fase gerak I kloroform: etanol (90 : 10), fase gerak II metanol 96% : amonia (100 : 1,5), fase gerak III kloroform: aseton (80 : 20), dan fase diam yang digunakannya yaitu silika gel GF254 nm. Hasil dari penelitiannya yaitu terdapat 3 sampel jamu antirematik yang mengandung parasetamol dan 1 sampel jamu yang mengandung dexametason dari 7 sampel jamu antirematik yang ditelitinya.

Hasil penelitian (Harimurti *et al*, 2020), mengidentifikasi asam mefenamat dan parasetamol dalam jamu asam urat juga pegal linu di DIY (Daerah Istimewa Yogyakarta) menggunakan KLT-Densitometri dengan fase gerak kloroform:etanol (8 : 1). Hasil didapatkan 3 dari 14 sampel jamu positif mengandung BKO parasetamol dengan kadar setiap sampelnya sebesar 0,30% (b/v), 0,04% (b/v), dan 0,13% (b/v).

Hasil penelitian (Kamar *et al*, 2021), penelitiannya mengidentifikasi parasetamol dalam jamu pegal linu dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak etil asetat : kloroform (9 : 1), fase diamnya adalah silika gel GF254. Hasil dari penelitiannya didapatkan 4 dari 5 sampel yang diteliti positif terdapat parasetamol dengan pengulangan/perlakuan sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian (Hayun dan Karina, 2016), yaitu melakukan analisis parasetamol, ibuprofen, dan asam mefenamat secara simultan dengan KLT-Densitometri pada jamu pegal linu dengan fase gerak kloroform: etanol (7 : 1 ; 8 : 1 ; dan 9 : 1); toluen: etanol (7 : 3); kloroform: aseton (4 : 1); diklorometan: metanol (4 : 1) dan fase diam silika gel 60F254. Dari hasil penelitiannya didapatkan 4 dari 8 sampel jamu mengandung BKO parasetamol dengan kadar sebanyak 325-650 mg.

Hasil penelitian (Ni Made, 2022), mengidentifikasi BKO parasetamol pada jamu pegal linu dari depot jamu di kota Denpasar menggunakan kromatografi

lapis tipis (KLT). Hasil analisis didapatkan sebanyak 4 macam merk jamu pegal linu dengan sediaan serbuk diduga mengandung parasetamol dengan nilai Rf yang didapat sebesar 0,68, dimana nilai tersebut hampir sama atau mendekati nilai Rf pada baku pembandingan parasetamol dan kontrol positif yaitu sebesar 0,69.

Pada penelitian terdahulu terdapat persamaan dalam penelitian ini, yaitu melakukan analisis BKO parasetamol pada sediaan jamu. Pada penelitian ini juga mempunyai perbedaan dengan penelitian terdahulu, yaitu pada sampel yang digunakan oleh peneliti menggunakan sampel jamu sakit gigi yang beredar di Cilacap.

## **B. Landasan Teori**

### **1. Obat Tradisional**

Menurut BPOM Tahun 2019 obat tradisional didefinisikan sebagai ramuan herbal, bahan mineral, bahan hewani, sediaan ekstrak atau campuran bahan-bahan tersebut, yang telah digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan dan dapat menerapkannya sesuai norma yang berlaku di masyarakat (BPOM, 2019). Dalam pengobatan tradisional, biasanya hanya terdiri dari satu bahan alami ataupun dari beberapa bahan yang berbeda sebagai ramuan. Pada setiap daerah obat tradisional yang mengandung formula yang sama memiliki manfaat untuk mengobati berbagai penyakit yang berbeda-beda. Hal tersebut dikarenakan pada satu tanaman mengandung macam-macam senyawa kimia yang khasiatnya berbeda, oleh karena itu dapat digunakan untuk beberapa indikasi.

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi kedua, dalam rangka mendorong penggunaan obat tradisional di Indonesia dan menjamin kelestarian obat tradisional, Indonesia merencanakan program pengembangan obat tradisional secara bertahap ke dalam kelompok jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Program pengembangan obat tradisional bertingkat ini merupakan suatu implementasi strategis dari ketentuan UU Nomor 23 Tahun 1992 terkait kesehatan dan upaya pemanfaatan sumber daya alam di Indonesia secara berkelanjutan (*sustainable use*) (Departemen Kesehatan RI, 2017).

Jamu merupakan salah satu obat tradisional Indonesia yang digunakan berdasarkan pengalaman yang diwariskan dengan bahan baku yang belum terstandar. Obat Herbal Terstandar (OHT) merupakan hasil penelitian atau pengembangan jamu menjadi formulasi berbeda yang telah dibuktikan khasiat serta keamanannya dengan uji praklinis. Fitofarmaka sendiri merupakan hasil dari pengembangan jamu, OHT, atau penelitian formulasi berbeda yang telah dibuktikan khasiat serta keamanannya dengan uji klinis (Departemen Kesehatan RI, 2017).

Berdasarkan PERMENKES Tahun 2012 Registrasi Obat Tradisional, jamu atau obat tradisional yang beredar di Indonesia dipersyaratkan harus memenuhi kriteria berikut (Peraturan Menteri Kesehatan RI, 2012):

- a. Jamu atau obat tradisional mengandung bahan-bahan yang memenuhi persyaratan mutu dan keamanan.
- b. Pada cara pembuatan jamu atau obat tradisional menerapkan prinsip Cara Pembuatan Obat Tradisional (CPOTB).
- c. Jamu atau obat tradisional telah memenuhi syarat dari FHI (Farmakope Herbal Indonesia) maupun syarat lain yang telah diakui.
- d. Terbukti memiliki khasiat secara empiris, secara turun temurun, ataupun secara ilmiah.
- e. Penandaan mengandung informasi yang lengkap, objektif, serta tidak menyesatkan.

Obat tradisional atau jamu yang beredar di Indonesia menurut PERMENKES RI Nomor 7 Tahun 2012 terkait Registrasi Obat Tradisional, obat tradisional dilarang mengandung:

- a. Tidak lebih dari 1% etil alkohol kecuali dalam sediaan tingtur yang cara pemakaiannya dengan pengenceran.
- b. BKO yang terisolasi atau sintetis berkhasiat obat.
- c. Psikotropika ataupun narkotika
- d. Bahan-bahan yang didasarkan pada pertimbangan kesehatan ataupun penelitian yang membahayakan kesehatan.

## 2. Sakit Gigi

Nyeri odontogenik atau biasa disebut dengan sakit gigi merupakan penyakit yang biasanya menyerang struktur periodontal atau jaringan pulpa. Berdasarkan laporan nasional Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018, melaporkan sebanyak 57,6% penduduk Indonesia memiliki masalah kesehatan pada mulut dan gigi (Kemenkes RI, 2018). *Global Burden of Disease Study 2019* memperkirakan bahwa sekitar 3,5 miliar penduduk di dunia menderita penyakit mulut, kondisi yang paling umum yaitu adanya karies gigi permanen. Secara global, sebanyak 2 miliar orang di seluruh dunia mengalami karies gigi permanen dan sebanyak 520 juta anak mengalami karies gigi sulung.

Menurut WHO, kerusakan pada gigi terjadi pada saat plak yang terbentuk di permukaan gigi mengubah gula bebas dalam makanan dan minuman menjadi asam, yang seiring waktu melarutkan enamel dan dentin gigi. Asupan tinggi gula bebas yang berkelanjutan, asupan fluoride yang tidak memadai, dan kurangnya biofilm mikroba yang dapat dilepas secara teratur merusak struktur gigi, yang mengakibatkan perkembangan gigi berlubang serta nyeri, kemudian akan berakibat pada kualitas hidup yang berkaitan mengenai kesehatan mulut dan pada tahap lanjut akan mengalami hilangnya gigi serta infeksi sistemik (WHO, 2022).

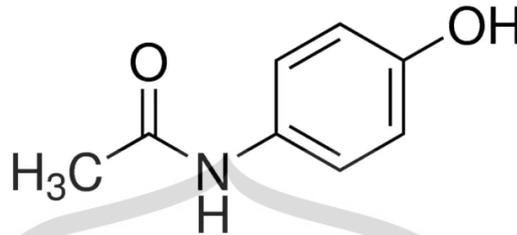
## 3. Bahan Kimi Obat (BKO)

BKO adalah senyawa obat yang dengan sengaja ditambahkan kedalam jamu untuk tujuan meningkatkan efek yang diinginkan agar lebih cepat dari yang biasanya. Cara yang paling mudah serta akurat untuk membuktikan adanya BKO dalam jamu salah satunya adalah dengan mengamati efek dari penyembuhan konsumen. Jika pada penyembuhannya cepat atau langsung terasa, maka kemungkinan besar jamu yang dikonsumsi tersebut mengandung dosis BKO yang cukup tinggi (Jayanti *et al.*, 2015). Sesuai dengan PERMENKES Tahun 2012, dalam sediaan jamu atau obat tradisional tidak boleh mengandung BKO yang terisolasi atau sintetis berkhasiat obat (Depkes RI, 2012).

BKO yang sering ditambahkan kedalam sediaan jamu yang banyak beredar disekitar masyarakat meliputi parasetamol, deksametason, fenilbutazon,

metampiron, allopurinol, sildenafil sitrat, CTM, dan tadalafil (Kamar *et al*, 2021).

#### 4. Parasetamol



Gambar 2.1 Struktur Parasetamol (Depkes RI, 2020)

*4'-Hidroksiasetanilida*

Rumus Empiris : C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>

Berat Molekul : 151.16 g/mol

Pemerian : Berbentuk serbuk hablur, rasa pahit sedikit, tidak memiliki bau, putih.

Kelarutan : Melarut pada natrium hidroksida 1 N dan air mendidih; mudah melarut pada etanol.

Penyimpanan : Simpan pada wadah yang tertutup, tidak tembus cahaya.

Disimpan pada suhu ruang, terlindung dari panas serta kelembapan.

(Depkes RI, 2020).

Parasetamol (asetaminofen) adalah salah satu obat yang memiliki efek antipiretik (penurun demam atau panas) dan analgesik (penahan nyeri atau rasa sakit) yang mirip dengan aspirin, tetapi memiliki efek antiinflamasi yang lemah (Pacifci, 2021). Obat dari golongan analgetik-antipiretik yang paling sering digunakan oleh masyarakat adalah parasetamol, hal tersebut dikarenakan parasetamol merupakan zat antinyeri yang paling efektif, aman, murah, dan dapat ditoleransi dengan baik dengan efek samping yang jauh lebih sedikit apabila digunakan sesuai dengan dosisnya. Namun pada dosis melebihi 4 gram per hari berpotensi menimbulkan efek samping yang cukup serius, seperti hepatotoksik. Parasetamol tersedia dalam bentuk tablet, suppositoria, dan larutan oral dan injeksi. Dosis standar dewasa parasetamol yaitu 500-1000 mg, sedangkan dosis maksimum yang direkomendasikan orang dewasa adalah 3-4 gram (Freo *et al*, 2021).

Efek analgesik yang dimiliki parasetamol bersifat sentral, parasetamol memiliki mekanisme kerja menghambat produksi prostaglandin dengan menghambat aktivitas siklooksigenase-2 (COX-2) sebagai respon terhadap *Non Steroid Anti Inflammatory Drugs* (NSAID). Dalam penghambatan enzim siklooksigenase-1 (COX-1) kemampuan parasetamol lebih rendah jika dibandingkan dengan NSAID. COX-1 berfungsi meregulasi fisiologis normal untuk proteksi gastrointestinal, fungsi dari trombosit dan ginjal. Lebih rendahnya penghambatan enzim COX-1 ini mengakibatkan parasetamol lebih aman digunakan (Fuadic *et al*, 2016).

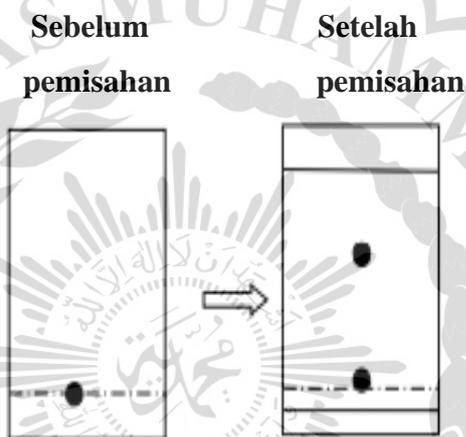
Panjang gelombang maksimum menurut Farmakope Indonesia edisi VI sebesar 243 nm, tetapi dapat terjadi pergeseran karena parasetamol memiliki gugus aoksokrom yang terikat pada gugus kromofor. Terikatnya aoksokrom pada gugus kromofor mengakibatkan pergeseran pita absorpsi pada panjang gelombang yang lebih besar (pergeseran batokromik) yang disertai meningkatnya intensitas (hiperkromik) (Tulandi *et al*, 2015).

## **5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

KLT merupakan kromatografi yang dikembangkan Schraiber dan Izmailoff sejak tahun 1938 yang merupakan jenis kromatografi planar, selain kromatografi kertas serta elektroforesis. Tidak seperti kromatografi kolom yang fase diamnya dikemas atau diisikan didalam, dalam KLT fase diam yang digunakan adalah lapisan dengan permukaan bidang yang datar dan seragam (*uniform*) yang disertai pelat kaca, plastik, atau aluminium. Namun, kromatografi ini dapat juga disebut sebagai bagian terbuka kromatografi kolom. Fase geraknya dikenal sebagai pelarut yang mengembang, bergerak sepanjang fase diam karena aksi kapiler selama ekspansi naik (*ascending*), atau karena adanya pengaruh gravitasi pada ekspansi turun (*descending*) (Gandjar dan Rohman, 2015).

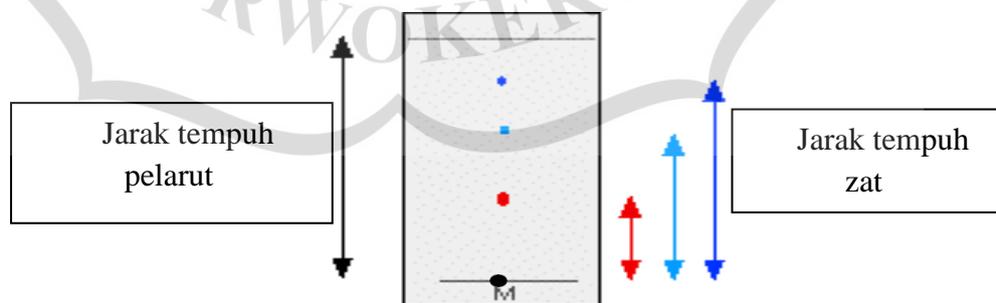
Prinsip kerja dari KLT sendiri yaitu memisahkan sampel berdasarkan kepolaran antara pelarut dan sampel yang digunakan. Campuran larutan atau larutan yang digunakan disebut eluen. Semakin dekatnya polaritas antara eluen dan sampel, maka sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak (Ambo dan Firman, 2018).

Campuran dari senyawa-senyawa yang akan dipisahkan biasa disebut *sample*, susunan individunya biasa disebut komponen, dan zat terlarutnya disebut *solutes*. Pelat terdiri dari bahan dasar padat, seperti aluminium, plastik, atau kaca yang dilapisi fase diam atau penyerap, yang dipilih secara khusus untuk berdampak pada pemisahannya. Kemudian, pelat yang sudah diberi spot-spot disimpan dalam *tank* yang berisi pelarut (eluen) atau fase gerak yang akan bergerak diatas permukaan KLT. Pelarut atau *solute* harus diaplikasikan pada jarak yang telah ditentukan dari bagian bawah pelat KLT, yang biasa disebut *origin* (batas awal) (Rosamah, 2015).



Gambar 2.2 Contoh Pemisahan Campuran (Rosamah, 2019)

Setelah pemisahan selesai, maka campuran akan terbagi menjadi dua komponen penyusun. Jarak yang ditempuh spot-spot pada permukaan pelat KLT diukur dan dihitung nilai  $R_f$ -nya menggunakan persamaan berikut :



$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \quad (1)$$

Gambar 2.3 Cara Pengukuran Nilai  $R_f$  (Rosamah, 2019)

## 6. Fase Diam KLT

Dalam KLT, fase diam yang digunakan merupakan adsorben berdiameter partikel sekitar 10-30 mikrometer. Semakin sempit ukuran fase diam dan semakin kecil ukuran partikel rata-rata fase diam akan meningkatkan kinerja KLT dalam hal resolusi serta efisiensi.

Adsorben yang paling sering digunakan adalah serbuk selulosa serta silika, sedangkan mekanisme penyerapan utama dalam KLT adalah partisi dan adsorpsi (Gandjar dan Rohman, 2015).

### a. Silika Gel

Keaktifan silika gel disebabkan oleh adanya gugus Si-OH (silanol) pada permukaannya. Jika menggunakan KLT, ukuran partikel silika gel yang digunakan harus memiliki rata-rata diameter antara 5-10 mikrometer.

Macam-macam tipe silika gel yang biasa digunakan :

1. *Silica gel G*, artinya *silica gel* dengan binder 13% kalsium sulfat.
2. *Silica gel H*, artinya *silica gel* tanpa binder.
3. *Silica gel F2*, artinya *silica gel* disertai indikator *fluorescens*.
4. *Silica gel UV 254*, artinya *silica gel* disertai indikator *fluorescens*.

(Rosamah, *Silica* 2019).

Silika gel dapat digunakan untuk memisahkan semua kelas senyawa serta dapat diresapi dengan senyawa lain untuk meningkatkan selektivitas (Santiago dan Strobel, 2013).

### b. Selulosa

Pada lempeng KLT selulosa terbuat dari partikel-partikel selulosa dengan ukuran yang sama, sehingga aliran pelarut akan lebih stabil dan spot tidak menyebar. Selulosa biasa digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa seperti asam amino, gula, ion anorganik yang terlarut, dan asam nukleat (Rosamah, 2019).

## 7. Fase Gerak

Pemilihan fase gerak yang akan digunakan bergantung pada senyawa yang akan dianalisis. Bila senyawa yang akan dianalisis sifatnya polar, maka fase gerak yang digunakan juga harus cukup polar sebab jika digunakan fase gerak yang nonpolar, maka noda tidak akan naik. Sebaliknya, bila senyawa

yang akan dianalisis bersifat nonpolar, maka fase gerak yang digunakan bersifat nonpolar juga sebab jika penggunaan menggunakan pelarut yang polar, maka akan menyebabkan noda naik bersama eluen hingga tanda batas eluen (Cahyono dan Suzery, 2018).

Beberapa sifat fase gerak yang dapat dipilih (Rosamah, 2019) :

- a. Fase gerak yang digunakan cukup ekonomis, karena pengujian yang dilakukan berkali-kali.
- b. Kemurnian dari fase gerak harus tinggi, karena KLT adalah salah satu metode yang cukup sensitif.
- c. Fase gerak yang digunakan tidak reaktif terhadap solut, sampel, atau adsorben. Karena fase gerak yang bereaksi dengan adsorben akan membuat interpretasi hasil data menjadi sangat sulit.
- d. Fase gerak dengan titik didih yang rendah akan lebih disukai karena pada tahap akhir dalam proses kromatografi adalah memindahkan lempengan dari *chamber* dan menguapkan fase gerak.

Jika fase gerak belum ditentukan sebelumnya, maka mulailah dengan kombinasi yang kurang polar, seperti heksana atau etil asetat kemudian amati pemisahannya. Jika komponen tidak bergerak terlalu jauh, maka tambahkan volume yang lebih besar atau presentase pelarut polar yang lebih tinggi. Selalu bandingkan dengan pemisahan pelat sebelumnya, jika bercak tetap berada pada garis awal pelat, maka tambahkan pelarut polar atau ganti kombinasi dengan yang lebih polar seperti diklorometana atau metanol. Jika nilai  $R_f$  yang didapat  $>0,8$  maka tambahkan pelarut nonpolar atau beralih kombinasi pada pelarut yang lebih tidak polar seperti eter atau pentana (Cai, 2014).

#### e. **Densitometri**

Densitometri adalah metode analitik instrumental untuk penentuan analit secara kuantitatif dan kualitatif didasarkan adanya REM (Interaksi Radiasi Elektromagnetik) dengan bercak analit dalam fase diam KLT. Metode ini biasa dikenal dengan metode KLT-Densitometri. Penentuan analit secara kualitatif pada KLT ini dilakukan dengan cara membandingkan nilai  $R_f$  standar dan analit. Dari bercak analit dengan  $R_f$  yang sama dengan standar, kemurnian analit diidentifikasi dengan cara dibandingkannya spektrum densitometri analit

dengan standar. Penentuan analit secara kuantitatif dapat dilakukan dengan cara dibandingkannya luas noda analit dengan luas noda standar pada fase diam yang sudah diketahui konsentrasinya (Wulandari, 2011).

REM adalah intensitas cahaya yang mengenai molekul senyawa pada noda. Adanya interaksi REM dengan bercak dalam fase diam KLT menentukan intensitas cahaya yang diserap, dipantulkan, dan ditransmisikan oleh bercak analit pada intensitas REM asli. Jika tidak ada noda pada fase diam, cahaya yang datang akan dipantulkan. Namun ketika cahaya jatuh pada pelat yang terdapat noda dari suatu senyawa, sebagian cahaya diserap dan intensitas pantulannya berbeda dengan intensitas cahaya yang datang (Wulandari, 2011).

Densitometri berfokus pada analisis analit secara kuantitatif dengan kadar yang sangat kecil sehingga perlu dipisahkan terlebih dahulu menggunakan KLT. Alat densitometri disertai dengan spektrofotometer dimana panjang gelombang pada KLT ini dapat diatur dari 200-700 nm.

Penetapan kadar dengan menggunakan KLT densitometri memiliki beberapa keuntungan yaitu dapat dipercaya, spesifitasnya yang tinggi, pengerjaannya yang jauh lebih mudah juga singkat, cukup ekonomis, polaritas pelarut campuran atau pelarut dapat diubah dengan waktu yang singkat, serta banyaknya pelarut yang dipakai cukup sedikit (Wulandari, 2013).

#### **f. Validasi Metode Analisis**

Validasi metode analitik adalah suatu proses yang menentukan, melalui studi laboratorium, bahwa karakteristik metode memenuhi persyaratan aplikasi analitik yang dimaksud (Depkes RI, 2020). Validasi metode dilakukan untuk memastikan metode analitik spesifik, reproduisibel, akurat, serta tahan dalam kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar dan Rohman, 2015). Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam melakukan validasi :

##### **a. Akurasi**

Akurasi merupakan kedekatan hasil pengujian yang didapat dengan nilai sebenarnya atau nilai referensi. Akurasi dapat dihitung sebagai jumlah *recovery* (perolehan kembali) suatu analit pada pengukuran dengan cara melakukan *spiking* sampel. Dalam menguji senyawa obat, akurasi didapat

dengan cara membandingkan hasil pengukuran dengan bahan acuan standar (Gandjar dan Rohman, 2015).

Ketepatan atau Akurasi dinilai sebagai persentase *recovery* dari pengukuran jumlah analit yang ditambahkan kedalam sampel dan jumlah yang diketahui, atau sebagai perbedaan antara hasil rata-rata dengan hasil benar yang diterima bersama dengan batas kepercayaannya. Penentuan akurasi dapat ditetapkan menggunakan minimal 9 pengujian yang mencakup 3 tingkat konsentrasi berbeda yang telah ditentukan sebelumnya (misalnya 3 konsentrasi dan 3 ulangan untuk setiap konsentrasi) (Depkes RI, 2020).

Rumus akurasi :

$$Recovery = \frac{Kadar\ terukur}{Kadar\ sebenarnya} \times 100\% \dots(1)$$

b. Presisi

Presisi merupakan tingkat kedekatan dari hasil uji individu ketika prosedur diterapkan berulang kali pada sampel homogen (Depkes RI, 2020). Dalam menentukan presisi dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda :

1. *Repeatibility* (keterulangan), yaitu ketepatan dalam kondisi percobaannya sama, baik dari waktunya, penelitiannya, tempatnya, atau alat yang digunakannya.
2. *Intermediate precision* (presisi antara), yaitu ketelitian dalam kondisi percobaannya berbeda, baik dari waktunya, penelitiannya, tempatnya, atau alat yang digunakannya.
3. *Reproducibility* (ketertiruan), berbeda analisis atau instrumen dari laboratorium yang lain.

Presisi sering dinyatakan sebagai standar deviasi (SD) atau standar deviasi relatif (RSD) kumpulan data. Berikut merupakan rumus SD dan RSD :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(N-1)}} \dots(2) \quad RSD = \frac{100 \times SD}{\bar{x}} \dots(3)$$

Keterangan :

N = Frekuensi penetapan

N-1 = Derajat kebebasan

X = Nilai pada masing-masing pengukuran

$\bar{x}$  = Rata-rata (*mean*) pengukuran

Syarat nilai RSD untuk senyawa aktif dengan jumlah banyak adalah 1-2%. (Gandjar dan Rohman, 2015).

c. Spesifisitas/selektivitas

Spesifisitas adalah kemampuan metode analisa untuk secara akurat mengukur analit yang dimaksud dengan adanya komponen lain dan diperkirakan hadir sebagai pengotor, matriks sampel, dan produk degradasi (Depkes RI, 2020). Untuk identifikasi, spesifisitas dilakukan dengan cara menunjukkan kemampuan metode analisa untuk membedakan senyawa-senyawa yang memiliki struktur molekul yang hampir mirip. Untuk pengujian kemurnian serta penentuan kadar, penentuan spesifisitas dilakukan pada daya pisah antara 2 senyawa yang berdekatan (seperti pada kromatografi) (Gandjar dan Rohman, 2015).

Penentuan selektivitas dalam metode analisa yang melibatkan kromatografi dilakukan dengan cara menghitung daya resolusinya (resolusi senyawa yang dituju  $\geq 2$ ) (Gandjar dan Rohman, 2015).

d. *Limit of Detection* (LOD) atau batas deteksi

LOD didefinisikan sebagai jumlah analit terkecil yang dapat dideteksi oleh metode analisa, tetapi tidak memerlukan kuantitatif pada uji yang ditentukan. Uji ini dilakukan untuk melihat apakah konsentrasi analit dibawah atau diatas nilai yang telah ditentukan. LOD biasanya disebut sebagai konsentrasi suatu analit (seperti bpj, persen, bpm) pada sampel (Depkes RI, 2020).

Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan cara mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko dan formula. Berikut merupakan rumus LOD (Harmita, 2004) :

$$\text{LOD (Limit detection) } = \frac{3 \times s\left(\frac{y}{x}\right)}{\text{slope (b)}} \dots (4)$$

Batas deteksi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis regresi linier  $y = bx + a$ , sedangkan simpangan baku blangko sama dengan simpangan baku residual  $s\left(\frac{y}{x}\right)$ .

e. *Limit of Quantification* (LOQ) atau batas kuantifikasi

LOQ merupakan jumlah analit terkecil yang dapat ditentukan pada presisi dan akurasi yang dapat diterima dibawah kondisi operasi dari metode yang digunakan. LOQ biasanya disebut sebagai konsentrasi suatu analit (seperti bpj, persen, bpm) pada sampel (Depkes RI, 2020).

Sama halnya seperti batas deteksi, pada analisis instrumen batas kuantitasi dapat dihitung dengan cara mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko dan formula. Berikut merupakan rumus LOQ (Harmita, 2004) :

$$\text{LOQ (Limit of Quantification)} = \frac{10 \times s\left(\frac{y}{x}\right)}{\text{slope (b)}} \dots (5)$$

Batas kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis regresi linier  $y = bx + a$ , sedangkan simpangan baku blangko sama dengan simpangan baku residual  $s\left(\frac{y}{x}\right)$ .

f. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan dalam menunjukkan hasil percobaan yang proposional terhadap konsentrasi analit didalam sampel dengan rentang yang ditentukan (dihitung menggunakan persamaan regresi linier). Linieritas pada suatu metode adalah ukuran seberapa baik kurva kalibrasi menghubungkan respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat ditentukan dalam satu pengukuran pada konsentrasi yang berbeda. Kemudian data yang diperoleh diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk dapat ditentukan nilai koefisien korelasinya, intersep, serta *slpoe* (Gandjar dan Rohman, 2015).