

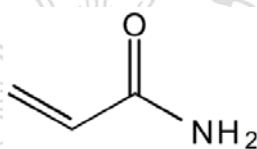
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Akrilamida

Akrilamida merupakan senyawa kimia berwarna putih, tidak berbau, berbentuk kristal padat yang sangat mudah larut dalam air dan mudah bereaksi melalui reaksi amida atau ikatan rangkapnya. Monomernya cepat berpolimerisasi pada titik leburnya atau dibawah sinar ultraviolet. Akrilamida dalam larutan bersifat stabil pada suhu kamar dan tidak berpolimerisasi secara spontan (Harahap, 2006).

Akrilamida memiliki rumus molekul  $C_3H_5NO$  dan rumus bangun seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1.



(Harahap, 2006)

**Gambar 2.1. Rumus bangun senyawa akrilamida**

Akrilamida (sinonim: 2-propenamida, etilen karboksiamida, akrilikamida, vinilamida) merupakan senyawa kristalin bening hingga putih dengan bobot molekul 71,09; tidak berbau; larut dalam air, metanol, etanol, dimetil eter dan aseton, serta tidak larut dalam benzena dan heptana. Akrilamida akan meleleh pada suhu 87,5 °C dan mendidih pada suhu 125 °C (Ötles dan Semith, 2004).

**Tabel 2.1. Kelarutan akrilamida dalam g/100 ml pelarut pada suhu 30 °C**

Air	Aseton	Benzena	Etanol	Kloroform	Metanol	Heptana
215,5	63,1	0,346	66,2	2,66	15,5	0,0068

(Harahap, 2006)

Sejak tahun 1950-an, akrilamida dikenal sebagai senyawa antaradalam pembuatan poliakrilamida. Poliakrilamida merupakan suatu polimer akrilamida, yang digunakan sebagai flokulan dan koagulan dalam proses pengolahan air minum dan limbah. Poliakrilamida juga digunakan sebagai pengatur viskositas

pada pemrosesan minyak mentah, bahan pengikat pada pabrik kertas, produksi perekat, serta gel pada kosmetik (Matthaus, 2009).

Akrilamida dapat diabsorpsi secara oral, melalui membran mukosa saluran nafas (inhalasi), dan rute dermal melewati kulit. Berdasarkan data bioavailabilitas, absorpsi akrilamida tercepat diperoleh melalui rute oral. Di dalam tubuh, akrilamida didistribusi melalui cairan tubuh dan dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 lalu dieksresikan melalui urin dan empedu. Waktu paruh eliminasi akrilamida pada tikus sekitar 2 jam, sedangkan pada manusia belum diketahui secara jelas waktu eliminasi yang dibutuhkan (FAO dan WHO, 2002).

Akrilamida merupakan senyawa toksik dalam bentuk monomer sedangkan poliakrilamida yang merupakan polimernya tidak lagi bersifat toksik (Friedman, 2003). Gangguan kesehatan yang disebabkan akrilamida terjadi karena dampak genotoksik dan karsinogeniknya (Harahap, 2006).

Akrilamida digolongkan kedalam grup 2A oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC), yaitu senyawa yang terbukti menyebabkan kanker pada hewan percobaan tetapi belum dapat dipastikan dapat menyebabkan kanker pada manusia. Akrilamida juga diduga sebagai zat yang bersifat mutagenik dan teratogenik.

Akrilamida dapat menyebabkan tumor pada saraf pusat, kelenjar susu, kelenjar tiroid, uterus, dengan dosis letal 50-500 mg/kg setiap harinya. Akrilamida berpotensi menyebabkan neurotoksik yang berakibat kepada sistem saraf pusat dan perifer, toksisitas akut menyebabkan gangguan emosional, halusinasi, turunnya tingkat kesadaran, dan hipotensi. Sedangkan toksisitas kronik menyebabkan iritasi pada kulit, pengeluaran keringat yang berlebihan, kelelahan, dan turunnya berat badan (Friedman, 2003).

Menurut Friedman (2003), kandungan akrilamida yang terbesar terdapat pada makanan berkarbohidrat tinggi yang dimasak pada suhu diatas 120 °C, kadar akrilamida pada berbagai jenis makanan dapat dilihat pada Tabel 2.2

**Tabel 2.2. Kadar akrilamida dalam berbagai jenis makanan**

Jenis makanan	Kadar akrilamida ( $\mu\text{g}/\text{kg} = \text{ppb}$ )
Kacang almond panggang ( <i>roasted</i> )	260
Asparagus panggang ( <i>roasted</i> )	143
Produk panggang : roti, kue, kukis, <i>bagels</i> , <i>pretzels</i>	70-430
Bir, susu fermentasi ( <i>malt</i> ), air dadih ( <i>whey</i> )	30-70
Biscuit, <i>crackers</i>	30-3200
Sereal	30-1346
Bubuk coklat	15-90
Bubuk kopi	170-351
Kripik jagung kering	34-416
Kue kering	800-1200
Produk ikan	30-39
Roti jahe	90-1660
Produk daging dan unggas	30-64
Sup bawang	1184
Biji-bijian dan mentega biji-bijian ( <i>nut butter</i> )	64-457
Kacang tanah berlapis kulit ( <i>coated</i> )	140
Kentang rebus	48
Kripik kentang, kering	170-3700
Kentang goreng	200-12000
Kentang, <i>puffs</i> , <i>deep fried</i>	1270
Cemilan, selain kentang	30-1915
Kedelai, panggang ( <i>roasted</i> )	25
Biji bunga matahari, panggang ( <i>roasted</i> )	66
<i>Taco shells</i> , masak	559

(Friedman, 2003)

### Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Akrilamida

Beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan akrilamida dalam makanan antara lain:

#### a. Prekursor

Prekursor dari akrilamida terutama adalah lipid, asam amino dan karbohidrat. Akrilamida diduga terbentuk dari berbagai senyawa prekursor pada makanan seperti asam amino/protein, karbohidrat terutama gula pereduksi (glukosa dan fruktosa), dan lipid (minyak dan lemak). Semakin banyak asam lemak tak jenuh akan semakin tinggi kadar akrilamida yang terbentuk melalui oksidasi asam lemak. Semakin banyak gula pereduksi dan asam amino juga akan meningkatkan kadar akrilamida dalam makanan (Lingnert dkk., 2002).

#### b. Suhu dan lama pemanasan

Semakin tinggi suhu dan semakin lama pemanasan bahan makanan, akan semakin tinggi kadar akrilamida yang terbentuk (FAO dan WHO, 2002).

c. Kadar air

Kadar air berkorelasi dengan suhu yang digunakan untuk mengolah makanan. Kadar air yang rendah tidak memerlukan suhu yang tinggi untuk mengolah makanan, sehingga mengurangi potensi terbentuknya akrilamida pada makanan (Fauziah, 2012).

d. pH

Pencoklatan makanan pada saat pemanasan diperoleh ketika pH melebihi 5 dan meningkat seiring bertambahnya pH. Semakin tinggi pH maka semakin tinggi kadar akrilamida yang terbentuk (Lingnert dkk., 2002).

### **Mekanisme Terbentuknya Akrilamida**

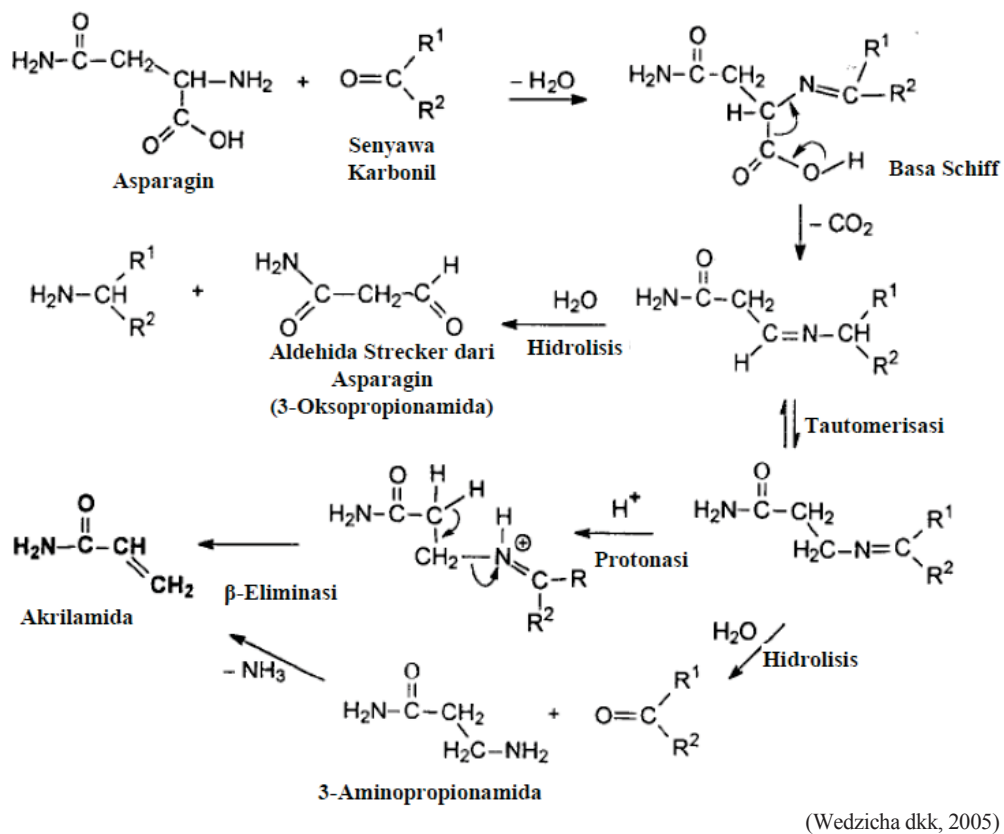
Akrilamida adalah molekul kecil dan sederhana. Akrilamida dapat terbentuk pada makanan yang dipanaskan melalui beberapa mekanisme yang berbeda, yang mungkin melibatkan reaksi dari karbohidrat, protein dan asam amino, lipid, serta komponen kecil lainnya. FAO dan WHO (2002) mengemukakan mekanisme pembentukan akrilamida yang mungkin terjadi antaralain:

1. Terbentuk dari akrolein atau asam akrilat hasil degradasi karbohidrat, lemak, atau asam amino bebas, seperti alanin, asparagin, glutamin, dan metionin yang memiliki struktur mirip dengan akrilamida.
2. Terbentuk dari dehidrasi atau dekarboksilasi beberapa asam organik tertentu seperti asam laktat, asam malat, dan asam sitrat.
3. Terbentuk langsung dari asam amino.

Menurut Mottram dkk. (2009), mekanisme pembentukan akrilamida yaitu berasal dari reaksi Maillard. Reaksi Maillard merupakan suatu reaksi kompleks yang terjadi antara senyawa karbonil (umumnya gula pereduksi) dengan suatu amina (biasanya berupa asam amino, peptida, atau protein) (Nursten, 2005). Reaksi ini pertama kali dikemukakan oleh Louis-Camille Maillard pada tahun 1912 (Kawamura, 1983).

Mekanisme pembentukan akrilamida dalam reaksi Maillard diperkirakan berawal dari interaksi antara senyawa karbonil dengan asam amino asparagin

selama proses pemanasan berlangsung. Hasil interaksi ini yakni Basa Schiff, kemudian mengalami dekarboksilasi menjadi suatu senyawa yang tidak stabil, lalu mengalami hidrolisis menjadi 3-amino propanamida, yang kemudian bagian aminonya tereliminasi membentuk akrilamida. Basa Schiff yang terdekarboksilasi juga dapat membentuk akrilamida secara langsung melalui reaksi eliminasi imina (Mottram dkk., 2009). Skema pembentukan akrilamida melalui reaksi Maillard dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Skema pembentukan akrilamida melalui reaksi Maillard

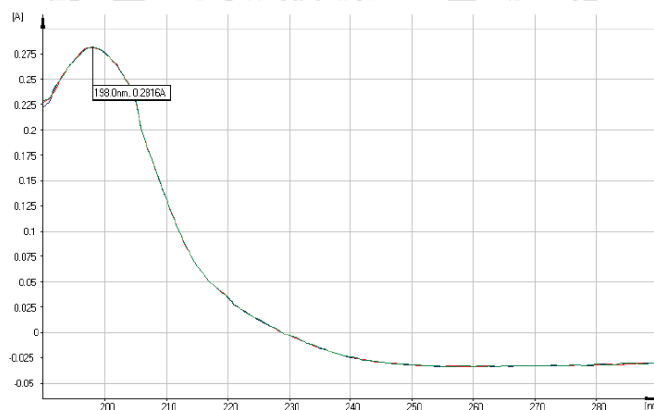
### Metode Analisis

Ada banyak metode yang dapat digunakan untuk menganalisis kadar akrilamida dalam sampel makanan, antara lain kromatografi gas-spektrometri massa, kromatografi cair-spektrometri massa tandem dan kromatografi cair kinerja tinggi (Harahap, 2006).

Beberapa penelitian seputar akrilamida sebelumnya telah dilakukan oleh Tanseri (2010) dan Zulhamidah (2011) yang menganalisis kadar akrilamida dalam kentang goreng simulasi secara KCKT, sementara Fauziah (2012) melakukan analisis akrilamida dalam keripik kentang yang juga dilakukan dengan secara KCKT. Penelitian terbaru dilakukan oleh Aryuni (2013) yang menganalisis akrilamida dalam keripik kentang secara LC-MS/MS.

Akrilamida memiliki kelarutan yakni 215 g/L pada suhu 25 °C (Stadler dan Goldmann, 2008). Berdasarkan tingkat kepolarannya dapat dikatakan bahwa akrilamida merupakan suatu senyawa yang kepolarannya tinggi. Hal ini yang mendasari penggunaan KCKT untuk analisis akrilamida dalam sampel.

Menurut Brown dkk.(1982), akrilamida memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 196-198 nm  $\pm$  2 nm. Serapan maksimum dari hasil penetapan panjang gelombang yang telah dilakukan oleh Levita (2007) tentang pengaruh asam amino asparagin dan glisin terhadap pembentukan akrilamida dalam keripik pisang pada 198 nm dapat dilihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3. Panjang gelombang maksimum akrilamida**

Namun dengan adanya kompetisi dengan pelarut pada pembacaan di panjang gelombang tersebut, maka pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 230 nm. Pembacaan serapan yang dilakukan pada panjang gelombang 230 nm telah dilakukan oleh Harahap (2005) yang mengoptimasi kadar akrilamida pada keripik kentang secara KCKT. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Dewi (2010)

mengenai penetapan kadar akrilamida pada kentang goreng di restoran cepat saji di Medan secara KCKT juga dilakukan pada panjang gelombang 230 nm.

## **B. Proses Penggorengan**

Penggorengan merupakan metode yang paling tua dikenal umat manusia dalam menyiapkan makanan. Menggoreng merupakan suatu proses memasak menggunakan lemak atau minyak sebagai medium penghantar panas. Proses menggoreng ada 3 jenis yakni penggorengan rendam, penggorengan dangkal dan pemanggangan (Quaglia dan Bucarelli, 2001). Dalam proses penggorengan, minyak goreng memegang peran yang penting. Untuk menghemat pemakaian minyak goreng, konsumen biasanya menggunakan minyak goreng berulang kali tanpa mengetahui akibat yang ditimbulkan (Fransiska, 2010).

## **C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Kromatografi merupakan teknik pemisahan molekul berdasarkan kepolaran dan interaksi antara analit dalam fase gerak dan fase diam dalam kolom. Kolom adalah komponen inti dalam kromatografi yang berfungsi sebagai pemisah ion atau molekul dalam suatu larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak akan melewati fase diam dalam kolom dengan ukuran partikel tertentu (Snyder dan Kirkland, 1979).

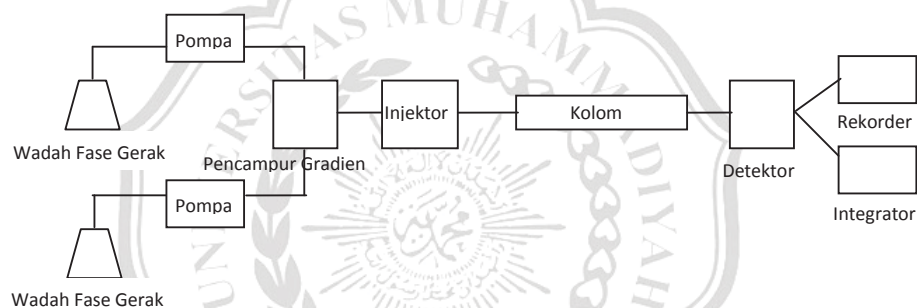
Kromatografi cair relatif aman, mempunyai rentang kerja senyawa organik yang lebar, mulai dari molekul kecil hingga peptida dan protein. Pemisahan pada kromatografi cair menggunakan kolom dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan fase gerak yang sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (Lindsay, 1992).

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa bertekanan tinggi, serta detektor yang sangat sensitif, sehingga mampu menganalisis berbagai analit secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal ataupun campuran (Depkes, 1995).

Kegunaan umum KCKT adalah untuk: pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis; analisis ketidakmurnian; analisis senyawa tidak mudah menguap (non-volatil); penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun *zwitter ion*; isolasi dan pemurnian senyawa; pemisahan senyawa dengan kemiripan struktur; pemisahan senyawa dalam jumlah sekelumit, dalam jumlah banyak dan dalam skala proses industri (Gandjar dan Rohman, 2007).

### Komponen KCKT

Komponen-komponen penting dari sistem KCKT dapat dilihat pada Gambar 2.4. berikut ini.



(Putra, 2004)

**Gambar 2.4. Diagram blok KCKT**

#### 1. Wadah fase gerak

Wadah fase gerak digunakan untuk menampung fase gerak yang akan digunakan untuk mengalirkan analit ke dalam kolom dengan bantuan pompa. Wadah fase gerak harus bersih dan *inert*, biasanya terbuat dari gelas dengan volume bervariasi tergantung volume dari fase gerak yang dibutuhkan (Gandjar dan Rohman, 2007).

#### 2. Pompa

Pompa disini berfungsi sebagai pendorong fase gerak agar masuk ke dalam kolom. Tujuan penggunaan pompa adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis pompa pada sistem KCKT, yaitu pompa dengan tekanan konstan dan pompa dengan alirasan fase gerak konstan. Tipe pompa dengan

aliran fase gerak konstan lebih umum digunakan dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 3. Injektor

Injektor dalam sistem KCKT berperan dalam memasukkan cuplikan yang akan mengalir bersama fase gerak di bawah tekanan menuju kolom menggunakan *syringe*. Injektor yang digunakan terbuat dari tembaga tahan karat dan katup yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) internal atau eksternal (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 4. Kolom

Kolom adalah jantung kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu:

- a. Kolom analitik: Diameter dalam 2-6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis bahan pengisi kolom. Untuk kemasan pellicular, panjang yang digunakan adalah 50-100 cm. Untuk kemasan poros mikropartikel adalah 10-30 cm.
- b. Kolom preparatif: umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25-100 cm.

Kolom umumnya dibuat dari stainless steel dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi (Putra, 2004).

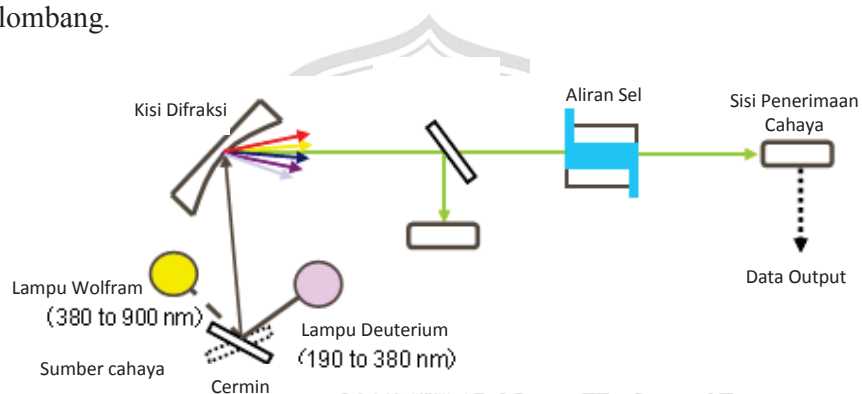
### 5. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan, yaitu detektor universal dan detektor spesifik. Detektor universal mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik dan tidak bersifat selektif. Detektor universal diantaranya detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa. Sementara detektor yang spesifik hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, diantaranya detektor UV-Visibel, detektor PDA, detektor fluoresensi dan detektor elektrokimia (Gandjar dan Rohman, 2007).

Detektor PDA mendeteksi penyerapan dari daerah UV sampai ke daerah visibel. Sementara detektor UV-Visibel hanya memiliki satu sisi bagian

penerimaan cahaya. PDA memiliki beberapa susunan dioda untuk mendapatkan informasi dari berbagai panjang gelombang dalam satu waktu.

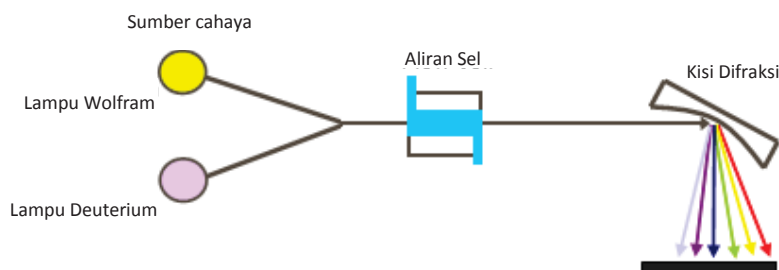
Detektor UV-Visibel menghasilkan panjang gelombang spesifik yang berasal dari sumber cahaya berupa lampu Deuterium ( $D_2$ ) dan lampu wolfram. Kedua cahaya ini dipantulkan pada cermin yang selanjutnya diteruskan menuju kisi difraksi. Dari kisi difraksi cahaya yang telah terurai menjadi monokromatis akan melewati aliran sel, hanya akan ada satu cahaya yang masuk ke dalam aliran sel. Hal ini yang menyebabkan detektor UV-Visibel hanya bekerja pada satu panjang gelombang.



(Anonim, 2016)

**Gambar 2.5. Skema kerja detektor UV-Visibel**

Detektor PDA merupakan modifikasi dari detektor UV-Visibel. Detektor PDA memiliki perbedaan dari detektor UV-VIS dalam sumber cahaya dimana lampu Deuterium ( $D_2$ ) dan lampu Wolfram bersinar langsung ke aliran sel. Cahaya yang melewati aliran sel tersebar oleh kisi difraksi menjadi monokromatis dan menghasilkan jumlah cahaya yang tersebar untuk setiap panjang gelombang pengukuran.



(Anonim, 2016)

**Gambar 2.6. Skema kerja detektor PDA**

#### 6. Sistem pengolah data (*Recorder/Integrator*)

Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu mem-plotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh pengguna. Rekorder saat ini jarang digunakan karena tidak dapat mengintegrasikan data, sementara itu integrator ataupun komputer mampu mengintegrasikan puncak-puncak dalam kromatogram. Komputer mempunyai keuntungan lebih karena secara elektronik mampu menyimpan kromatogram untuk evaluasi dikemudian hari (Gandjar dan Rohman, 2007).

#### **D. Validasi Metode**

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi metode analisis bertujuan untuk mengevaluasi kinerja metode, menguji faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kinerja metode dan mengetahui pengaruhnya terhadap hasil analisis, serta melakukan verifikasi bahwa metode analisis tersebut sudah sesuai (Ginting, 2012).

Menurut USP Edisi Ketigapuluh, ada 8 karakteristik yang digunakan dalam validasi metode yaitu akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linearitas, rentang, dan ketahanan. Karakteristik utama yang digunakan dalam validasi dapat dilihat pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3. Karakteristik utama dalam validasi metode analisis**

Karakteristik	Pengertian
Akurasi	Kedekatan antara nilai hasil uji yang diperoleh lewat metode analitik dengan nilai sebenarnya.
Presisi	Ukuran keterulangan metode analitik, termasuk di antaranya kemampuan instrumen dalam memberikan hasil analitik yang reproduibel.
Spesifisitas	Kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradatif dan komponen matriks.
Batas Deteksi	Konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi.
Batas Kuantitasi	Konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.
Linieritas	Kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil uji yang secara langsung proposional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan.
Rentang	Konsentrasi terendah dan tertinggi yang mana suatu metode analitik menunjukkan akurasi, presisi dan linieritas yang cukup.
Ketahanan	Kapasitas metode untuk tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter yang kecil.

(USP, 2006)

### 1. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (WHO, 1992). Akurasi/kecermatan dapat ditentukan dengan dua metode, yakni *spiked placebo recovery* dan *standard addition method* (Harmita, 2004).

Pada *spiked placebo recovery* atau metode simulasi, analit murni ditambahkan (*spiked*) ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi, lalu campuran tersebut dianalisis dan jumlah analit hasil analisis dibandingkan dengan jumlah analit teoritis yang diharapkan. Jika plasebo tidak memungkinkan untuk disiapkan, maka sejumlah analit yang telah diketahui konsentrasinya dapat ditambahkan langsung ke dalam sampel. Metode ini dinamakan metode *standard addition method* atau metode penambahan baku (Harmita, 2004). Selisih kedua

hasil tersebut dibandingkan dengan kadar analit/standar yang sebenarnya. Akurasi kemudian dinyatakan dalam persen perolehan kembali (Ginting, 2012).

Persen perolehan kembali (% *Recovery*) ditentukan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dari analisis dengan hasil sebenarnya yang dihitung secara teoritis. Hal yang penting untuk diperhatikan adalah metode kuantitasi yang digunakan dalam penentuan akurasi harus sama dengan metode kuantitasi yang digunakan untuk menganalisis sampel dalam penelitian (Harmita, 2004; Ermer, 2005).

## **2. Presisi**

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis. Biasanya replikasi 6-15 dilakukan pada sampel tunggal untuk tiap-tiap konsentrasi (Gandjar dan Rohman, 2007). Nilai presisi akan diwakilkan oleh nilai simpangan deviasi (SD) dan persen simpangan baku relatif (% RSD) dari keterulangan atau *s* masing-masing deret standar yang diukur pada suatu konsentrasi dengan multi replikasi.

## **3. Spesifisitas**

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi dan komponen matriks. Penentuan spesifisitas metode dapat diperoleh dengan dua jalan. Cara pertama adalah dengan melakukan optimasi sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa yang dituju  $\geq 2$ ). Cara kedua untuk memperoleh spesifisitas adalah dengan menggunakan detektor selektif terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama sebagai contoh detektor elektrokimia hanya akan mendeteksi senyawa tertentu, sementara senyawa yang lainnya tidak terdeteksi (Gandjar dan Rohman, 2007).

## **4. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), batas deteksi dan batas kuantitasi dapat ditentukan dengan 2 metode yakni metode non-instrumental visual dan metode perhitungan. Metode non-instrumental visual digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan metode titrimetri. Metode perhitungan didasarkan

pada simpangan bakuresidual ( $S_{y/x}$ ) dan derajat kemiringan/*slope* ( $b$ ) dengan rumus perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3 s_{y/x}}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 s_{y/x}}{b}$$

## 5. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linearitas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $x$ ). Linearitas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Linearitas biasaya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematika data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit (WHO, 1992).

## 6. Rentang

Rentang atau kisaran suatu metode didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dan tertinggi yang mana suatu metode analisis menunjukkan akurasi, presisi, dan linearitas yang mencukupi. Kisaran-kisaran konsentrasi yang diuji tergantung pada jenis metode dan kegunaannya (Gandjar dan Rohman, 2007).

## 7. Ketangguhan

Kekuatan/ketahanan dievaluasi dengan melakukan variasi parameter-parameter metode seperti persentase pelarut organik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya. Suatu praktek yang baik untuk mengevaluasi ketahanan suatu

metode adalah dengan memvariasi parameter-parameter penting dalam suatu metode secara sistematis lalu mengukur pengaruhnya pada pemisahan (Gandjar dan Rohman, 2007).

