



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS MANITOL DARI FRUKTOSA DENGAN
KATALIS RANEY-NIKEL**

SKRIPSI

YOGO SURO PRIYADI

0806328190

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS MANITOL DARI FRUKTOSA DENGAN
KATALIS RANEY-NIKEL**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
sarjana farmasi**

YOGO SURO PRIYADI

0806328190

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2012

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

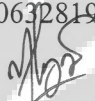
Depok, 6 Juli 2012



Yogo Suro Priyadi

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Yogo Suro Priyadi
NPM : 0806328190
Tanda tangan : 
Tanggal : 6 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Yogo Suro Priyadi

NPM : 0806328190

Program Studi : Sarjana Farmasi

Judul Skripsi : Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Herman Suryadi, M.S.

()

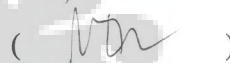
Pembimbing II : Drs. Hayun, M.Si.

()

Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S.

()

Penguji II : Dr. Nelly Dhevita Leswara, M.Sc., Apt.

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6 juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dan sumbangan pikiran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik, khususnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia beserta segenap staf pengajar
2. Bapak Dr. Herman Suryadi, M.S., selaku pembimbing I yang telah bersedia menyediakan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk memberikan bimbingan, motivasi, serta saran yang bermanfaat selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Bapak Drs. Hayun, M.Si., selaku pembimbing II yang telah bersedia memberikan bimbingan dan pengarahan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.Si. Apt., selaku pembimbing akademis, yang telah menyediakan waktu dan tenaganya untuk memberikan saran dan dukungan selama masa pendidikan.
5. PT. Dankos Farma dan PT. Kimia Farma yang telah memberikan bantuan bahan baku untuk keberlangsungan penelitian ini.
6. PT. Ditek Jaya, terutama Bapak Dian yang telah membantu serta menyediakan waktu dan tenaga untuk menangani masalah pada alat yang penulis pakai.
7. Ibu Lia selaku laboran Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif, Bapak Rustam, Ibu wulan, dan Ibu Vindy selaku Karyawan Laboratorium Pusat Pelayanan pada masyarakat atas bantuan, perhatian, saran, arahan, dan bimbingan kepada penulis selama penelitian serta penulisan skripsi.

8. Seluruh Laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah membantu kelancaran dalam masa perkuliahan, penelitian, serta penulisan skripsi.
9. Keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan penuh selama masa perkuliahan, serta tak henti – hentinya memberikan dukungan moril untuk penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
10. Teman – teman yang telah banyak membantu dan bekerja sama untuk keberlangsungan penelitian
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu – persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan yang sangat berharga bagi penulis.

Penulis menyadari penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan karena bermanfaat bagi penulis sebagai acuan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca, baik untuk menambah wawasan dan pengetahuan maupun sebagai referensi penelitian selanjutnya.

Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yogo Suro Priyadi
NPM : 0806328190
Program studi : S1 Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di: Depok

Pada tanggal: 6 Juli 2012

Yang menyatakan,



(Yogo Suro Priyadi)

ABSTRAK

Nama : Yogo Suro Priyadi

Program studi : Farmasi

Judul : Sintesis Manitol dari Fruktosa dengan Katalis Raney-Nikel

Manitol, suatu gula poliol yang terdiri dari enam rantai karbon bermanfaat sebagai bahan tambahan pada produksi tablet, pemanis, dan juga berkhasiat sebagai diuretik osmotik. Produksi manitol secara sintesis kimia yaitu dengan reaksi hidrogenasi fruktosa dengan katalis nikel menghasilkan manitol 48 – 50% b/b dengan hasil sampingan berupa sorbitol. Tujuan penelitian ini adalah mencari kondisi sintesis yang optimum agar didapatkan manitol dalam jumlah yang optimal. Optimasi kondisi sintesis manitol meliputi optimasi konsentrasi fruktosa (10, 15, dan 20%), konsentrasi katalis (3, 5, dan 7%), suhu (60, 80, 100, dan 120°C), dan waktu reaksi (40, 60, 80, dan 100 menit). Senyawa hasil sintesis dianalisis dengan alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan kolom Waters® Carbohydrate Analysis (3,9 mm x 300 mm, 10µm) dan fase gerak asetonitril-air (93:7) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Produk hasil sintesis dideteksi dengan detektor indeks bias. Hasil percobaan menunjukkan bahwa kondisi optimum untuk sintesis manitol adalah konsentrasi fruktosa 10%, konsentrasi katalis 5%, suhu sintesis 100°C, dan waktu sintesis 120 menit. Pada kondisi ini dihasilkan manitol sebesar 42,77%.

Kata kunci : Fruktosa, KCKT, Manitol, Sintesis, Sorbitol

xvi + 85 halaman : 9 tabel, 37 gambar, 9 lampiran

Daftar pustaka : 27 (1980 – 2012)

ABSTRACT

Name : Yogo Suro Priyadi

Study Program: Pharmacy

Title : Synthesis of Mannitol from Fructose using Raney-Nickel Catalyst

Mannitol is a six-carbon sugar polyol, have been used as inert excipient, sweetener, and also use as an osmotic diuretic. Production of mannitol with chemical synthesis process by hydrogenation of fructose over nickel based catalysts gave mannitol yield between 48 – 50% w/w , as a main product and sorbitol as side product. The purpose of this experiment was to found the optimum condition for the synthesis condition that can gave the optimum mannitol yields. The effect of concentration fructose (10, 15, and 20%), concentration catalyst (3, 5, and 7%), temperature (60, 80, 100, and 120°C), and synthesis time (40, 60, 80, and 100 minute) on the yield of mannitol were studied. Products from the synthesis were analysed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Waters® Carbohydrate Analysis coloum (3,9 mm x 300 mm, 10µm), and acetonitril-water (93:7) as the mobile phase, flow rate of the eluent was 1,0 mL/minute. Products of synthesis were detected with refractive index detector. 42,77 % mannitol yield were obtained at the condition of 10% fructose, 5% catalyst, 100°C reaction temperature, and 120 minutes reaction time.

Keywords : Fructose, HPLC, Mannitol, Synthesis, Sorbitol

xvi + 85 pages : 9 tables, 37 figures, 9 appendices

Bibliography : 27 (1980 – 2012)

DAFTAR ISI

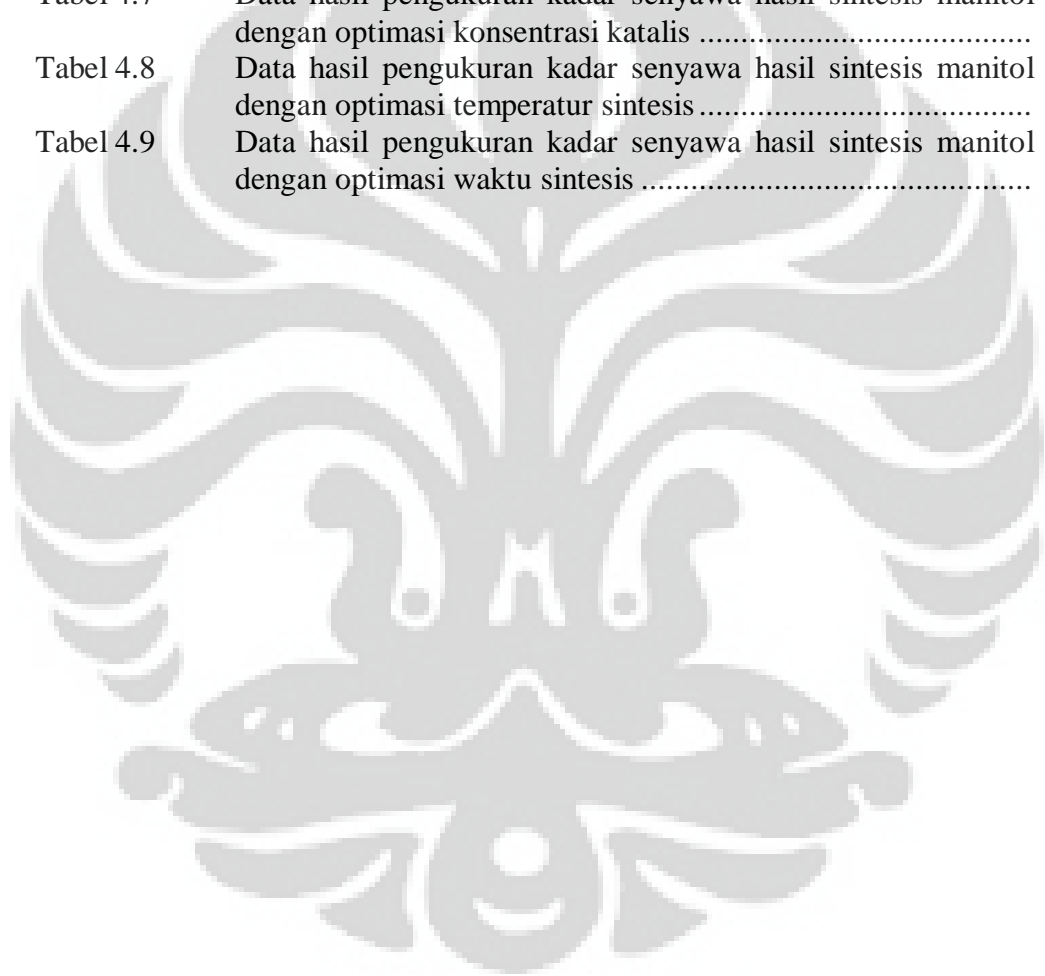
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sintesis Manitol	4
2.2 Fruktosa	7
2.3 Manitol	8
2.4 Sorbitol	9
2.5 Katalis Raney-Nikel	9
2.6 Teknik Isolasi dan Pemurnian	10
2.7 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	12
2.8 Spektroskopi Infra Merah	13
2.9 Jarak Lebur	13
2.10 Validasi Metode Analisis	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	17
3.2 Bahan	17
3.3 Peralatan	17
3.4 Cara Kerja	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Optimasi Kondisi Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa	24
4.2 Uji Kesesuaian Sistem	25
4.3 Validasi Metode Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa	26
4.4 Optimasi Kondisi Sintesis Manitol	29
4.5 Sintesis Manitol	31

4.6 Pemisahan Manitol	33
4.7 Karakterisasi Senyawa Manitol Hasil Sintesis	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR ACUAN	36



DAFTAR TABEL

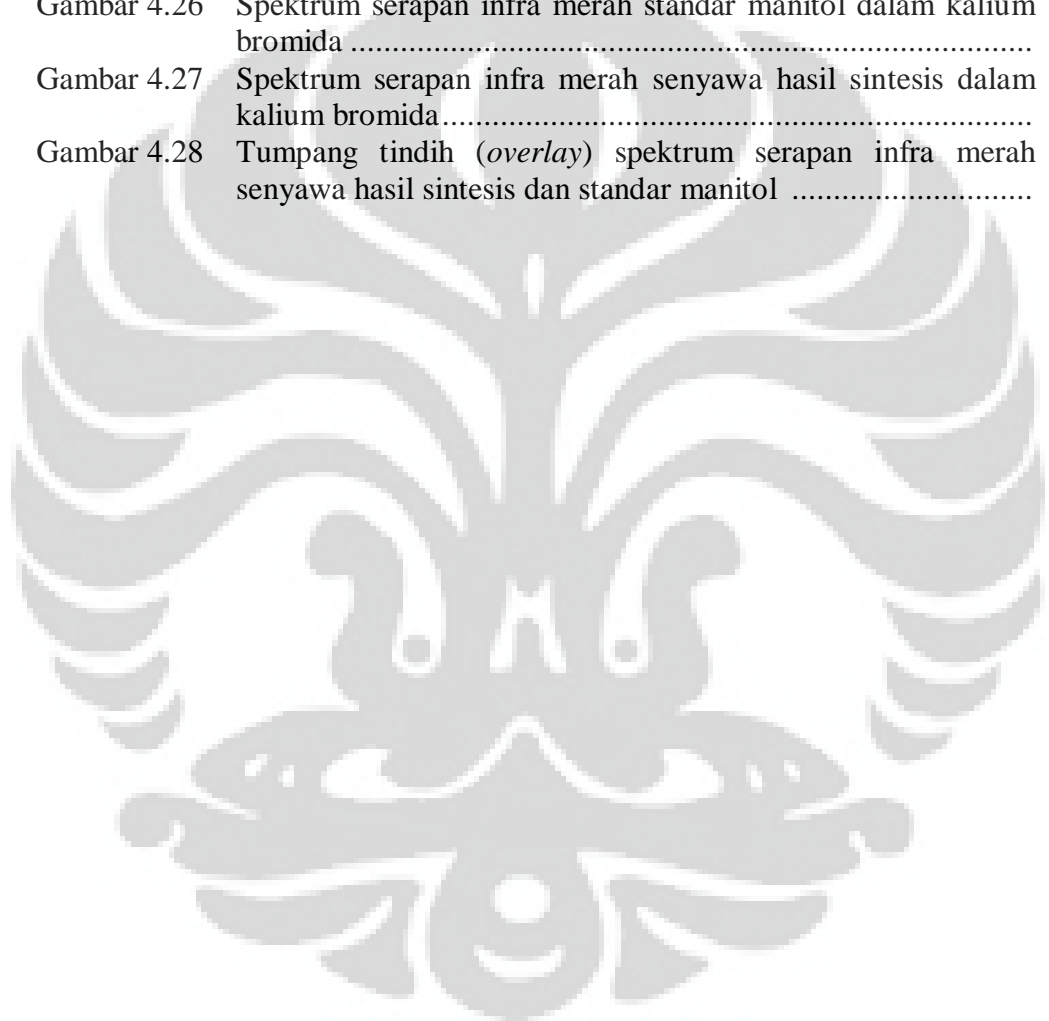
Tabel 4.1	Data hasil pemilihan metode analisis standar fruktosa, sorbitol, dan manitol	39
Tabel 4.2	Data hasil uji kesesuaian sistem	40
Tabel 4.3	Data hasil pengukuran kurva kalibrasi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol	41
Tabel 4.4	Data hasil uji akurasi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol ..	42
Tabel 4.5	Data hasil uji presisi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol	43
Tabel 4.6	Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi konsentrasi fruktosa	44
Tabel 4.7	Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi konsentrasi katalis	45
Tabel 4.8	Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi temperatur sintesis	46
Tabel 4.9	Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi waktu sintesis	47



DAFTAR GAMBAR

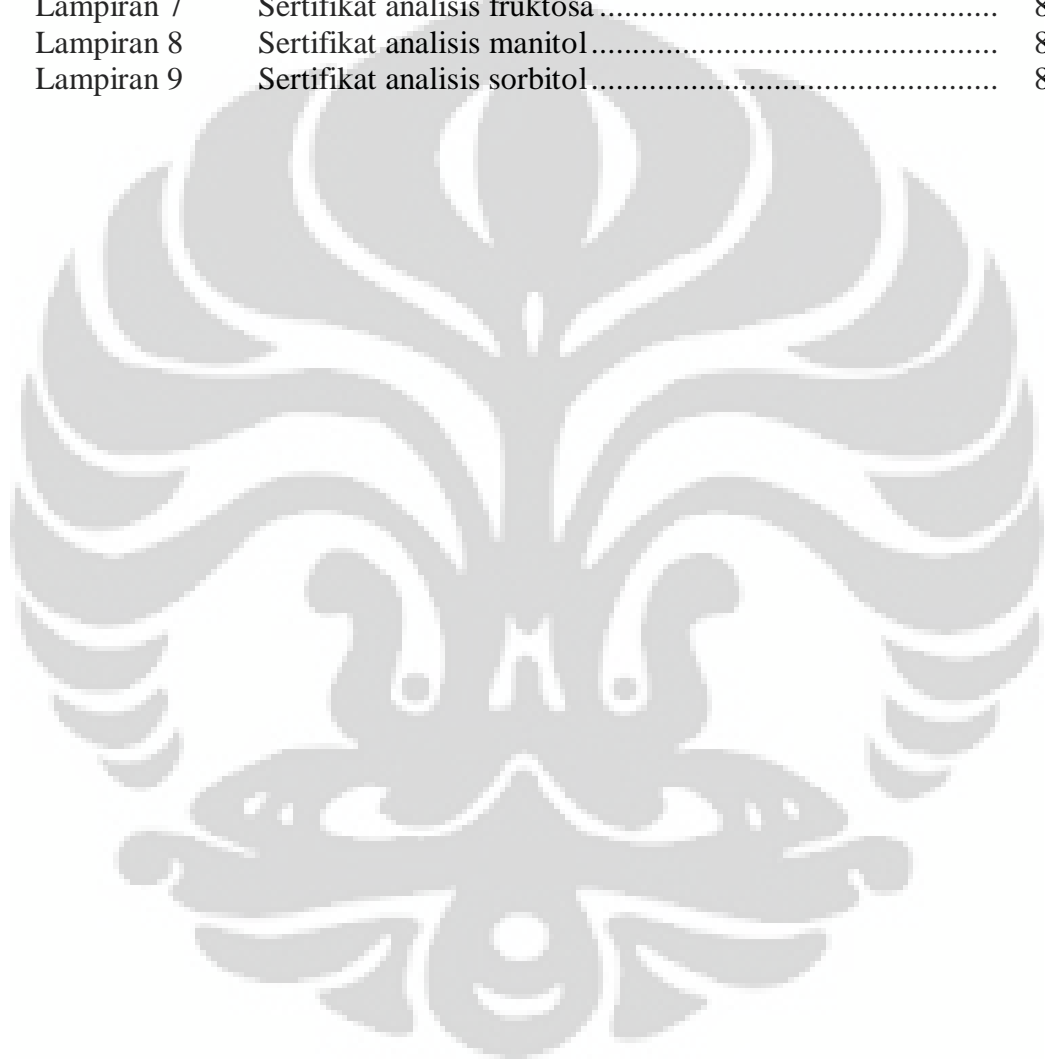
Gambar 2.1	Proses hidrogenasi fruktosa menjadi manitol dan sorbitol	5
Gambar 2.2	Rumus struktur fruktosa.....	7
Gambar 2.3	Rumus struktur manitol.....	8
Gambar 2.4	Rumus struktur sorbitol.....	9
Gambar 3.1	Alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	48
Gambar 4.1	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)	49
Gambar 4.2	Kromatogram larutan standar sorbitol 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)	50
Gambar 4.3	Kromatogram larutan standar manitol 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)	51
Gambar 4.4	Kromatogram larutan blanko dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	52
Gambar 4.5	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)	53
Gambar 4.6	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (87:13)	54
Gambar 4.7	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (90:10)	55
Gambar 4.8	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A), sorbitol 10000 μ g/mL (B), dan manitol 10000 μ g/mL (C) dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	56
Gambar 4.9	Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A), sorbitol 10000 μ g/mL (B), dan manitol 10000 μ g/mL (C) dengan fase gerak asetonitril-air (95:5)	57
Gambar 4.10	Kromatogram larutan sampel IA dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	58
Gambar 4.11	Kromatogram larutan sampel IB dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	59
Gambar 4.12	Kromatogram larutan sampel IC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	60
Gambar 4.13	Kromatogram larutan sampel IIB dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	61
Gambar 4.14	Kromatogram larutan sampel IIC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	62
Gambar 4.15	Kromatogram larutan sampel IIIA dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	63
Gambar 4.16	Kromatogram larutan sampel IIIC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	64
Gambar 4.17	Kromatogram larutan sampel IIID dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	65
Gambar 4.18	Kromatogram larutan sampel IVA dengan fase gerak	

	asetonitril-air (93:7)	66
Gambar 4.19	Kromatogram larutan sampel IVC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	67
Gambar 4.20	Kromatogram larutan sampel IVD dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	68
Gambar 4.21	Kromatogram larutan sampel pada kondisi optimum dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)	69
Gambar 4.22	Kurva kalibrasi fruktosa.....	70
Gambar 4.23	Kurva kalibrasi sorbitol.....	71
Gambar 4.24	Kurva kalibrasi manitol.....	72
Gambar 4.25	Kristal manitol hasil sintesis.....	73
Gambar 4.26	Spektrum serapan infra merah standar manitol dalam kalium bromida	74
Gambar 4.27	Spektrum serapan infra merah senyawa hasil sintesis dalam kalium bromida.....	75
Gambar 4.28	Tumpang tindih (<i>overlay</i>) spektrum serapan infra merah senyawa hasil sintesis dan standar manitol	76



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Cara memperoleh efisiensi kolom	77
Lampiran 2	Cara memperoleh resolusi	78
Lampiran 3	Cara memperoleh regresi linier untuk mendapatkan persamaan kurva kalibrasi	79
Lampiran 4	Cara perhitungan uji akurasi.....	80
Lampiran 5	Cara perhitungan koefisien variasi.....	81
Lampiran 6	Cara perhitungan kadar senyawa hasil sintesis.....	82
Lampiran 7	Sertifikat analisis fruktosa	83
Lampiran 8	Sertifikat analisis manitol.....	84
Lampiran 9	Sertifikat analisis sorbitol.....	85



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manitol adalah gula poliol yang terdiri dari enam rantai karbon dan memiliki rasa yang manis, yaitu sekitar 50% manisnya sukrosa dan digunakan sebagai pemanis pada makanan untuk penderita diabetes karena tidak menaikkan kadar glukosa darah dalam tubuh (Kearsley & Deis, 2006). Manitol telah digunakan secara luas baik dalam industri makanan maupun farmasi. Manitol memiliki sifat yang tidak reaktif, tidak higroskopis dan memiliki sifat kempa yang baik oleh karena itu dimanfaatkan pada produksi tablet kunyah dan granulasi serbuk sebagai eksipien (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Tidak hanya sebagai eksipien, manitol juga berkhasiat sebagai diuretik osmotik. Manitol antara lain digunakan untuk pengobatan gagal ginjal akut, menurunkan tekanan maupun volume intraokular, menurunkan tekanan ataupun volume cairan serebrospinal, dan sindrom disequilibrium pada hemodialisis (Nafrialdi, 2007). Seluruh manfaat tersebut membuat manitol menjadi komoditas penting dalam perdagangan. Penjualan manitol di pasar global diperkirakan mampu menghasilkan \$100 juta pertahunnya (Ghoreishi & Shahrestani, 2009).

Produksi manitol dapat dilakukan secara sintesis kimia, biologi, ataupun ekstraksi dari bahan alam. Sintesis manitol secara biologi dilakukan dengan fermentasi menggunakan mikroorganisme. Namun sintesis secara biologi belum banyak menjadi pilihan industri karena adanya resiko kontaminasi mikroorganisme (Ghoreishi & Shahrestani, 2009). Manitol banyak ditemukan pada bahan alam seperti zaitun, manna, rumput laut, dan alga. Walaupun demikian, produksi manitol dengan ekstraksi bahan alam juga belum menjadi pilihan industri karena kurang ekonomis (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005). Produksi manitol skala industri dilakukan dengan reaksi hidrogenasi fruktosa, sukrosa, atau sirup glukosa-fruktosa. Pada penelitian ini fruktosa dipilih sebagai senyawa awal untuk sintesis manitol karena dapat menghasilkan manitol lebih banyak dibanding sukrosa ataupun sirup glukosa-

fruktosa. Hidrogenasi fruktosa dengan katalis nikel akan menghasilkan manitol 48 – 50% b/b dengan hasil sampingan berupa sorbitol (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Sedangkan hidrogenasi sirup glukosa-fruktosa dengan kadar yang sama menghasilkan kira – kira campuran 25% manitol dan 75% sorbitol (Ghoreishi & Shahrestani, 2009).

Bentuk asiklik D-fruktosa dalam larutan yang mengandung air memiliki empat bentuk siklik yang berbeda, yaitu β -D-fruktopiranos, α -D-fruktopiranos, β -D-fruktofuranosa, and α -D- fruktofuranosa. Saat reaksi hidrogenasi, β -fruktosa akan menjadi manitol sedangkan α -fruktosa akan menjadi sorbitol (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005). Oleh karena itu, sintesis manitol dari fruktosa dapat diikuti oleh hasil sampingan berupa sorbitol. Hal inilah yang menjadi bahan penelitian para peneliti, yaitu untuk mencari kondisi optimum reaksi hidrogenasi agar didapatkan manitol dalam jumlah yang optimal.

Penelitian sebelumnya telah berhasil melakukan sintesis manitol dengan reaksi hidrogenasi menggunakan fruktosa sebagai substrat awal, diantaranya hidrogenasi fruktosa dengan katalis CuO-ZnO (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Penelitian lainnya adalah hidrogenasi fruktosa dengan katalis nano CoNiB dan polimer CoNiB (Liaw, Chen, & Chen, 2010). Selain itu manitol telah disintesis dengan hidrogenasi fruktosa menggunakan katalis Ru/C (Heinen, Peters, & Van Bekkum, 2000), serta menggunakan katalis Raney-Co dan fruktosa sebagai bahan awal (Mackert, Mohr, & Schwarz, 2001). Katalis Raney nikel telah berhasil dicoba sebagai katalis pada optimasi proses hidrogenasi glukosa menjadi sorbitol (Ahmed, Khadom, & Kadhum, 2009), serta pada hidrogenasi katalitik fruktosa menjadi manitol (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005).

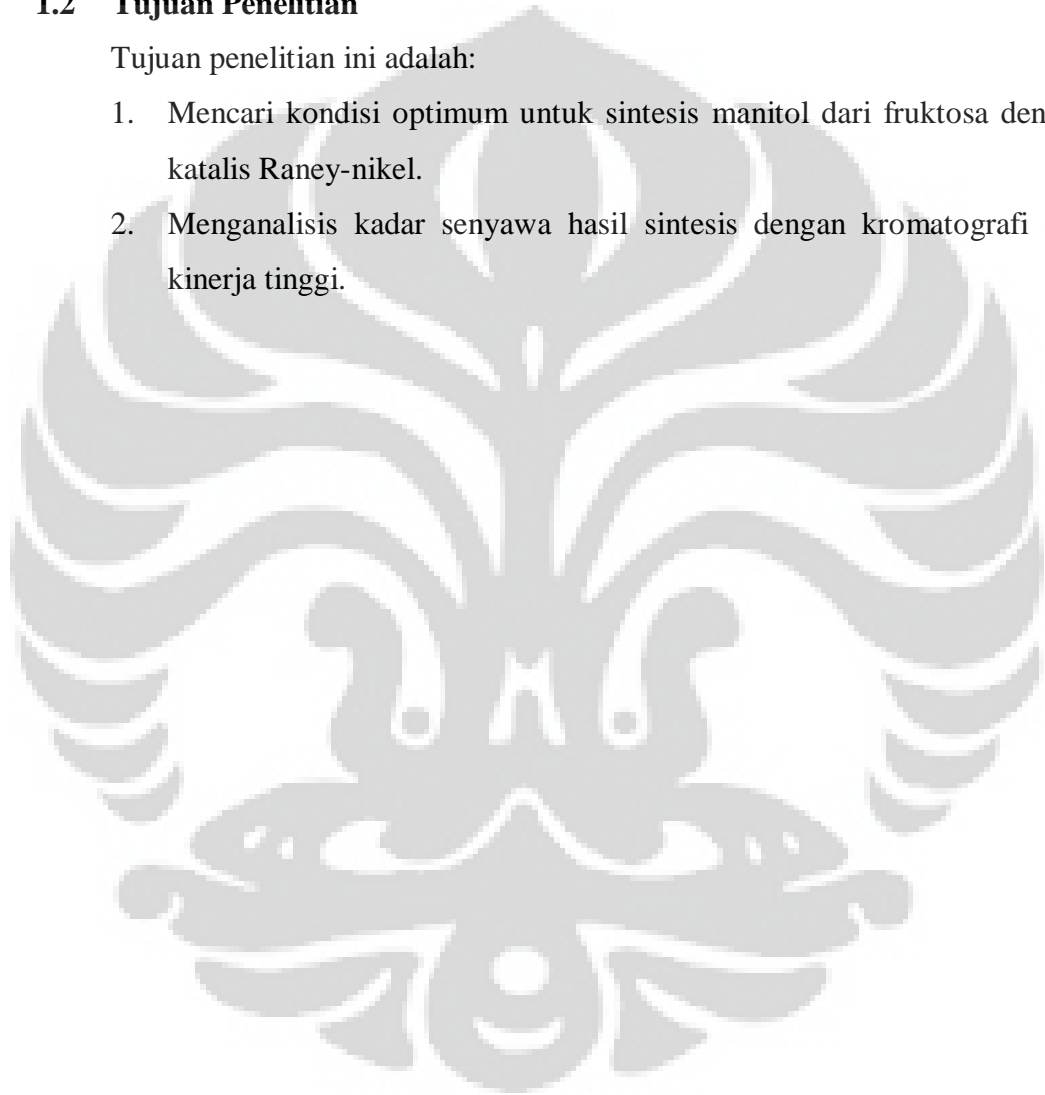
Beberapa cara pemisahan telah digunakan untuk memisahkan sorbitol dari manitol. Manitol akan terpisah dari sorbitol dengan proses kristalisasi fraksional. Dengan cara ini, manitol akan mengkristal terlebih dahulu dan sorbitol akan tetap terlarut dalam larutan (Ahmed, Khadom, & Kadhum, 2009). Hal ini terjadi karena sifat kelarutan manitol dan sorbitol yang berbeda. Kelarutan manitol adalah 22 g dalam 100 g air sedangkan kelarutan sorbitol adalah 235 g dalam 100 g air (Jamieson, 2012).

Pada penelitian ini, peneliti akan mencoba untuk mensintesis manitol dari senyawa awal fruktosa dengan bantuan katalis Raney-nikel. Selain itu, juga akan mencari kondisi optimum untuk sintesis manitol dari fruktosa dengan katalis Raney-nikel, serta menganalisis kadar senyawa hasil sintesis dengan kromatografi cair kinerja tinggi.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mencari kondisi optimum untuk sintesis manitol dari fruktosa dengan katalis Raney-nikel.
2. Menganalisis kadar senyawa hasil sintesis dengan kromatografi cair kinerja tinggi.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sintesis Manitol

Manitol dan sorbitol banyak ditemukan pada bahan alam namun produksinya secara komersial masih menggunakan metode hidrogenasi katalitik gula tereduksi, dimana gugus aldehid dan keton reaktif akan digantikan oleh gugus alkohol yang stabil (Kearsley & Deis, 2006). Sintesis manitol dapat dilakukan dengan sintesis kimia, biologi, dan ekstraksi bahan alam. Manitol dapat diekstraksi dari banyak bahan alam seperti manna, rumput laut, dan alga. Walaupun demikian, ekstraksi manitol dari bahan alam tidak terlalu baik dari segi ekonomi. Fermentasi dan hidrogenasi katalitik menjadi pilihan industri untuk memproduksi manitol. Proses hidrogenasi yang dibantu oleh katalis lebih luas untuk dipakai memproduksi manitol secara komersial (Ahmed & Kadhum, 2011).

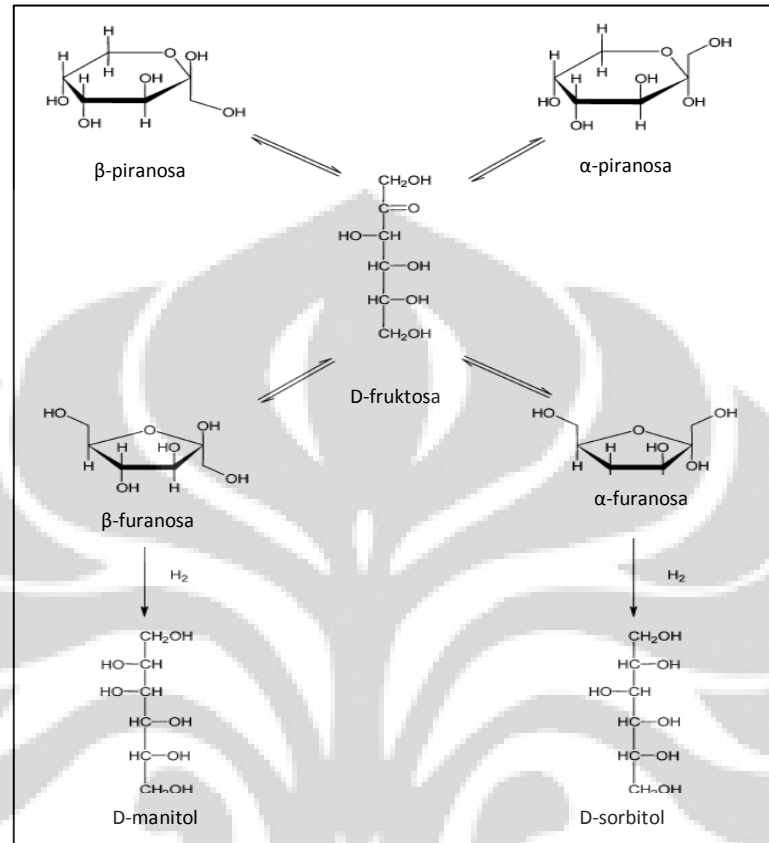
2.1.1 Sintesis Kimia

Produksi manitol skala industri dilakukan dengan reaksi hidrogenasi fruktosa, sukrosa, atau sirup glukosa-fruktosa (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Manitol hasil sintesis akan lebih banyak jika digunakan sirup dengan kadar fruktosa tinggi. Proses hidrogenasi membutuhkan tekanan dan temperatur tinggi serta penggunaan katalis metal dan gas hidrogen.

Bentuk asiklik D-fruktosa dalam larutan yang mengandung air memiliki empat bentuk siklik yang berbeda, yaitu β -D-fruktopiranos, α -D-fruktopiranos, β -D-fruktofuranos, and α -D-fruktofuranos. Saat reaksi hidrogenasi, β -fruktosa akan menjadi manitol sedangkan α -fruktosa akan menjadi sorbitol (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005). Oleh karena itu, sintesis manitol dari fruktosa dapat diikuti oleh hasil sampingan berupa sorbitol.

Reaksi hidrogenasi pada aldosa akan menghasilkan produk tunggal, contohnya glukosa akan berubah menjadi sorbitol. Lain halnya dengan ketosa seperti fruktosa yang jika dihidrogenasi akan menghasilkan dua buah produk. Hal ini disebabkan oleh dua macam kemungkinan orientasi gugus hidroksil pada atom

C kedua. Pada kondisi reaksi normal akan terbentuk manitol (HO-C-H) dan sorbitol (H-C-OH) dalam jumlah yang sama. (Kearsley & Deis, 2006)



[Sumber: Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005, telah diolah kembali]

Gambar 2.1 Proses hidrogenasi fruktosa menjadi manitol dan sorbitol

2.1.2 Sintesis biologi

Manitol diproduksi dengan fermentasi mikroorganisme. Proses fermentasi memiliki sejumlah keuntungan bila dibandingkan sintesis secara kimia, seperti reaksi pembentukan manitol dari fruktosa tidak menghasilkan produk sampingan yang nantinya akan sulit dipisahkan, dan tidak membutuhkan substrat yang kemurniannya tinggi. Namun tetap ada kekhawatiran mengenai masalah keamanan produk karena prosesnya yang melibatkan bakteri, kapang, maupun fungi. Oleh karena hal ini, penggunaan metode sintesis biologi masih ditunda untuk tujuan produksi komersial (Ghoreishi & Shahrestani, 2009).

2.1.3 Ekstraksi Bahan Alam

Manitol ditemukan sebagai kandungan utama pada beberapa bahan alam seperti tanaman plane (80 – 90%), manna (30 – 50%), dan zaitun. Manitol juga dapat ditemukan di rumput laut, terutama ganggang cokelat, dimana kandungan manitolnya dapat mencapai 20%. Penelitian saat ini banyak mempelajari mengenai metode *supercritical fluid extraction* untuk mendapatkan manitol dari bahan alam (Ghoreishi & Shahrestani, 2009).

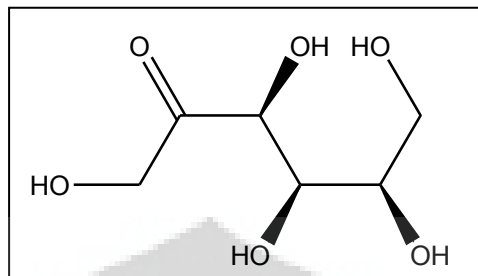
Supercritical Fluids Extraction (SFE) adalah suatu metode pemisahan senyawa organik dari matriksnya yang menggunakan pelarut yang memiliki temperatur dan tekanan yang mendekati kritis (*critical point*) pada kondisi temperatur dan tekanan tinggi. Fluida Superkritis (SCF) adalah suatu substansi yang menyatakan bahwa saat suhu dan tekanan lebih tinggi daripada suhu dan tekanan kritis (*critical point*), berbentuk seperti gas, bukan cairan tetapi memiliki berat jenis seperti cairan ($0,1 \pm 1 \text{ g/mL}$) (Clifford & Williams, 2000).

Cairan yang banyak digunakan dalam *Supercritical Fluid Extraction* adalah karbon dioksida (CO_2). Karbon dioksida (CO_2) banyak digunakan karena bersifat inert, aman, tidak mahal, tidak mudah terbakar, dan tidak toksik. Untuk meningkatkan kemampuan melarutkan, biasanya ditambahkan kosolven berupa pelarut organik, seperti etanol atau metanol (Clifford & Williams, 2000).

Ekstraksi konvensional juga masih digunakan untuk produksi manitol. Salah satu contohnya adalah menggunakan ekstraksi soxhlet dengan pelarut etanol, air, dan metanol untuk menghasilkan manitol dari alga (alga merah, Rhodophyta). Metode ini menghasilkan manitol sebanyak 21% (Ghoreishi & Shahrestani, 2009). Ekstraksi manitol dari bahan alam menggunakan pelarut cair memiliki beberapa kekurangan yaitu jumlah pelarut yang dibutuhkan lebih banyak dan sifat toksik dari pelarut yang digunakan.

2.2 Fruktosa

Fruktosa memiliki struktur kimia sebagai berikut:



[Sumber: Merck & Co., Inc., 2001]

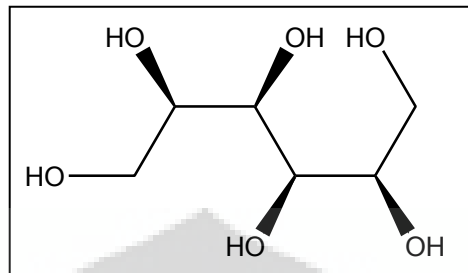
Gambar 2.2 Rumus struktur fruktosa

Rumus molekul	: $C_6H_{12}O_6$
Berat molekul	: 180,16
Sinonim	:D-arabino-2-hexulose; Fructamyl; Fructofin; D-(-)-fructopyranose; b-D-fructose; fructosum; fruit sugar; Krystar; laevulose; levulose; nevulose
Fungsi	: pemanis, diluen tablet
Organoleptis	: tidak berbau, kristal tidak berwarna atau berwarna putih dengan rasa manis
Kelarutan	: larut dalam 1:14 metanol; larut 1:15 etanol; larut 1:0,3 air
Metode Uji fruktosa:	

1. Dengan rotasi optik (The United States Pharmacopeial Convention, 2006)
Masukkan 10 gram fruktosa yang telah dikeringkan dan ditimbang seksama ke dalam labu ukur 100 mL. Larutkan dalam 50 mL air. Tambahkan 0,2 mL ammonium hidroksida 6 N, tambahkan air hingga batas dan kocok. Setelah 30 menit, tetapkan rotasi angular di tube 100 mm pada 25°C. Rotasi yang didapat, dalam derajat, dikalikan 1,124, dinyatakan dalam g $C_6H_{12}O_6$ dari fruktosa yang ditimbang.

2.3 Manitol

Manitol memiliki struktur kimia sebagai berikut:



[Sumber: Merck & Co., Inc., 2001]

Gambar 2.3 Rumus struktur manitol

Rumus molekul	: $C_6H_{14}O_6$
Berat molekul	: 182,17
Sinonim	: manna sugar; D-mannite; mannite; mannitolum
Fungsi	: diluen, pemanis, diuretik osmotik, agen tonisitas
Organoleptis	: serbuk hablur atau granul mengalir bebas, putih, tidak berbau, manis.
Kelarutan	: mudah larut dalam air, larut dalam larutan basa, sukar larut dalam piridina, sangat sukar larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam eter.

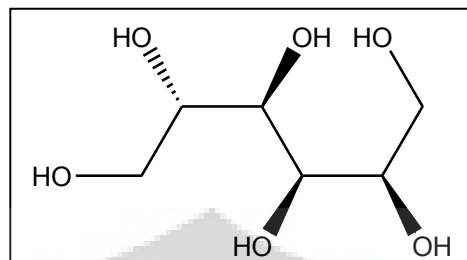
Metode Uji manitol:

1. Secara kromatografi cair kinerja tinggi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Kromatografi cair kinerja tinggi yang dilengkapi dengan detektor indeks bias yang dipertahankan pada suhu tetap dan kolom 4 mm x 25 cm berisi bahan pengisi *L19*. Atur suhu kolom antara 30° dan 85°, pertahankan lebih kurang 2° dari suhu yang dipilih dengan laju aliran lebih kurang 0,5 mL permenit. Volume suntikan lebih kurang 20µl. Resolusi antara puncak sorbitol dan manitol tidak kurang dari 2,0.

2.4 Sorbitol

Sorbitol memiliki struktur kimia sebagai berikut:



[Sumber: Merck & Co., Inc., 2001]

Gambar 2.4 Rumus struktur sorbitol

Rumus molekul	: $C_6H_{14}O_6$
Berat molekul	: 182,17
Sinonim	: Meritol; Neosorb; Sorbitab; sorbite; D-sorbitol; Sorbitol Instant; sorbitolum; Sorbogem
Fungsi	: humektan, plasticizer, agen penstabil, pemanis, diluen
Organoleptis	: serbuk granul, higroskopis, warna putih, rasa manis
Kelarutan	: sangat mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol, dalam metanol, dan dalam asam asetat

Metode Uji sorbitol:

1. Secara kromatografi cair kinerja tinggi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Kromatografi cair kinerja tinggi yang dilengkapi dengan detektor indeks bias yang suhunya dipertahankan tetap dan kolom 7,8 mm x 30 cm berisi bahan pengisi *L19*. Suhu kolom dipertahankan $30^\circ \pm 2^\circ$. Laju aliran lebih kurang 0,2 mL permenit. Volume suntikan lebih kurang 20 μ l.

2.5 Katalis Raney-Nikel

Katalis tipe Raney pertama kali diperkenalkan pada tahun 1924. Sejak saat itu katalis ini, baik dalam bentuk serbuk maupun granul telah digunakan secara luas untuk proses komersial, termasuk hidrogenasi senyawa organik tak jenuh, seperti pada hidrogenasi adiponitril menjadi heksametilendiamin dan hidrogenasi benzena menjadi sikloheksana. Katalis Raney juga digunakan pada reaksi reduksi seperti alkilasi senyawa karbonil dengan amin, hidrogenolisis ester menjadi eter,

pada sel elektrode, dan pada dehalogenasi (Zeifert, Blasquez, Moreno, & Calderon, 2008). Katalis Raney nikel juga telah digunakan sebagai katalis pada optimasi proses hidrogenasi glukosa menjadi sorbitol (Ahmed, Khadom, & Kadhum, 2009), serta pada hidrogenasi katalitik fruktosa menjadi manitol (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005).

Raney nikel adalah katalis padat yang terdiri dari butiran halus nikel-alumunium alloy yang terdiri dari 48 – 52% nikel dan 48 – 52% alumunium. Raney nikel dikembangkan pada tahun 1924 oleh Murray Raney sebagai katalis alternatif untuk hidrogenasi minyak sayur pada proses industri. Pembuatan katalis Raney-nikel adalah dengan mencampurkan sejumlah sama alumunium dan nikel pada suhu 1200 - 1500°C, kemudian campuran ini dicampurkan dengan alkali yang akan melarutkan alumunium. Katalis kemudian dicuci sehingga bebas dari alkali. Keuntungan penggunaan katalis ini adalah lebih murah dibandingkan katalis platinum, jumlah substrat yang dapat dihidrogenasi lebih banyak, serta prosesnya yang relatif cepat (Vogel, 1989).

2.6 Teknik Isolasi dan Pemurnian

Metode pemisahan merupakan suatu cara yang digunakan untuk memisahkan atau memurnikan suatu senyawa atau sekelompok senyawa yang mempunyai susunan kimia yang berkaitan dari suatu bahan, baik dalam skala laboratorium maupun skala industri. Metode pemisahan bertujuan untuk mendapatkan zat murni atau beberapa zat murni dari suatu campuran, sering disebut sebagai pemurnian dan juga untuk mengetahui keberadaan suatu zat dalam suatu sampel

2.6.1 Filtrasi

Filtrasi atau penyaringan merupakan metode pemisahan untuk memisahkan zat padat dari cairannya dengan menggunakan alat berpori (penyaring). Dasar pemisahan metode ini adalah perbedaan ukuran partikel antara pelarut dan zat terlarutnya. Penyaring akan menahan zat padat yang mempunyai ukuran partikel lebih besar dari pori saringan dan meneruskan pelarut.

Proses filtrasi yang dilakukan adalah bahan harus dibuat dalam bentuk larutan atau berwujud cair kemudian disaring. Hasil penyaringan disebut filtrat sedangkan sisa yang tertinggal dipenyaring disebut residu. (ampas). Penyaringan di laboratorium dapat menggunakan kertas saring dan penyaring buchner. Penyaring buchner adalah penyaring yang terbuat dari bahan kaca yang kuat dilengkapi dengan alat penghisap.

2.6.2 Rekristalisasi

Teknik rekristalisasi adalah suatu teknik pemurnian bahan kristalin. Seringkali senyawa yang diperoleh dari hasil suatu sintesis memiliki kemurnian yang tidak terlalu tinggi. Untuk memurnikan senyawa tersebut perlu dilakukan rekristalisasi. Untuk merekristalisasi suatu senyawa kita harus memilih pelarut yang cocok dengan senyawa tersebut. Setelah senyawa tersebut dilarutkan kedalam pelarut yang sesuai kemudian dipanaskan (direfluks) sampai semua senyawa tersebut larut sempurna. Apabila pada temperatur kamar, senyawa tersebut sudah larut secara sempurna di dalam pelarut maka tidak perlu lagi dilakukan pemanasan (Vogel, 1989).

Pemanasan hanya dilakukan apabila senyawa tersebut belum atau tidak larut sempurna pada keadaan suhu kamar. Setelah senyawa tersebut larut sempurna di dalam pelarut baik dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan, maka kemudian larutan tersebut disaring dalam keadaan panas. Kemudian larutan hasil penyaringan tersebut didinginkan perlahan-lahan sampai terbentuk Kristal. Salah satu faktor penentu keberhasilan proses rekristalisasi adalah pemilihan zat pelarut (Vogel, 1989).

Metode kristalisasi yang digunakan untuk memisahkan manitol dan sorbitol adalah kristalisasi fraksional. Kristalisasi fraksional adalah metode untuk memisahkan dua atau lebih komponen dalam campuran dimana komponen – komponen tersebut memiliki kelarutan yang berbeda dalam pelarut tertentu. (Singh, Gupta, & Bajpai, 1980)

2.7 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi adalah istilah umum untuk berbagai cara pemisahan berdasarkan partisi cuplikan antara fase yang bergerak, dapat berupa gas atau zat cair, dan fase diam, dapat berupa zat cair atau zat padat (Johnson & Stevenson, 1991). KCKT merupakan teknik analisis yang paling cepat berkembang dalam kimia analitik (Harmita, 2006). Saat ini KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel dalam sejumlah bidang. KCKT merupakan metode yang dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif dan kuantitatif.

Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri atas:

1. Pompa

Fase gerak dalam KCKT adalah zat cair, dan untuk menggerakannya melalui kolom diperlukan alat, yaitu pompa (Johnson & Stevenson, 1991). Tujuan penggunaan pompa adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan.

2. Injektor

Injektor berfungsi untuk memasukkan cuplikan ke dalam kolom. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan memasukkan sampel ke kolom.

3. Kolom

Kolom merupakan jantung kromatografi. Keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat (Johnson & Stevenson, 1991). Kolom berfungsi untuk memisahkan masing-masing komponen. Kolom yang baik memiliki HETP yang kecil dan N yang besar. Untuk suatu puncak yang simetris, faktor ikutan (T_f) besarnya satu, dan besarnya harga T_f ini akan bertambah jika kromatogram makin tampak berekor.

4. Detektor KCKT

Keunggulan KCKT juga adalah luasnya pilihan detektor yang dapat digunakan. Terdapat detektor serapan optik, detektor indeks bias, detektor

fluorosensi, detektor elektrokimia, detektor ionisasi nyala, detektor evaporation light scattering, dan detektor radioaktif (Harmita, 2006).

5. Komputer, integrator, rekorder

Ketiganya adalah alat pengumpul data dan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram.

2.8 Spektroskopi Infra Merah

Kebanyakan energi vibrasi dari molekul sesuai dengan daerah infra merah dari spektrum elektromagnetik. Vibrasi dari molekul dapat diukur dengan instrumen spektroskopi inframerah. Vibrasi yang informatif untuk tujuan elucidasi struktur adalah pada daerah antara bilangan gelombang 4000 cm^{-1} hingga 400 cm^{-1} . Besarnya bilangan gelombang bergantung pada kekuatan ikatan dan massa atom yang melakukan ikatan kimia. Cahaya yang diserap oleh molekul diterjemahkan kedalam sebuah kurva spektrum infra merah dengan absis berupa bilangan gelombang dan ordinat berupa intensitas serapan. Hal yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasi kurva serapan infra merah adalah: bilangan gelombang, bentuk kurva serapan (sempit tajam atau melebar), dan intensitas serapan (kuat, sedang, atau lemah) (Kosela, 2010).

2.9 Jarak Lebur

Jarak lebur merupakan ciri penting senyawa organik padat. Jarak lebur memiliki arti penting dalam identifikasi dan pengukuran kemurnian. Penggunaan untuk identifikasi didasarkan pada fakta bahwa semua senyawa murni mempunyai jarak lebur yang tajam, atau mempunyai jarak temperatur yang sangat kecil ketika berubah sempurna dari padat ke cair. Jarak temperatur maksimum untuk senyawa murni adalah $1\text{-}2^\circ\text{C}$. Selain itu, penggunaan titik lebur untuk identifikasi juga didasarkan pada fakta bahwa senyawa yang tidak murni menunjukkan dua fenomena, pertama yaitu suhu lebur yang lebih rendah, dan kedua memiliki jarak lebur yang lebih lebar. Tes kemurnian pertama yang harus dilakukan adalah dengan tes kemurnian dengan uji titik lebur (Singh, Gupta, & Bajpai, 1980).

Alat yang digunakan untuk menguji titik lebur suatu senyawa adalah termopan. Untuk identifikasi kualitatif, titik lebur merupakan tetapan fisika yang penting terutama untuk suatu senyawa hasil sintesis, isolasi, maupun kristalisasi. Titik lebur suatu kristal padat adalah suhu ketika padatan mulai berubah menjadi cairan pada tekanan udara satu atmosfer. Jika suhu dinaikkan, molekul senyawa akan menyerap energi. Makin tinggi suhu makin banyak energi yang diserap maka akan menaikkan gerakan vibrasi dan rotasi molekul. Jika suhu terus dinaikkan mengakibatkan rusaknya molekul dan berubah dari padatan menjadi cairan. Pada keadaan cairan molekul masih terikat satu dengan yang lainnya tetapi sudah tidak teratur lagi.

2.10 Validasi Metode Analisis (Harmita, 2006)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk penggunaannya. Parameter-parameter yang dinilai pada validasi metode analisis adalah kecermatan (akurasi), keseksamaan (presisi), selektivitas (spesifisitas), linearitas dan rentang, batas deteksi dan batas kuantitasi, ketangguhan metode (ruggedness) dan kekuatan (robustness).

2.10.1 Kecermatan (Akurasi)

Kecermatan adalah kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai hasil perolehan kembali dari analit yang ditambahkan. Ada dua cara penentuan akurasi yaitu cara absolut dan cara adisi. Syarat akurasi yang baik adalah 98 – 102% dan $\pm 10\%$ untuk sampel hayati. Dianjurkan untuk melakukan penentuan akurasi dengan 5 konsentrasi berbeda (80 – 120%) yaitu 80%, 90%, 100%, 110% dan 120%.

2.10.2 Keseksamaan (Presisi)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individu rata – rata jika prosedur diterapkan berulang pada sampel – sampel yang diambil dari campuran

yang homogen. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium.

Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (repeatability) atau ketertiruan (reproducibility). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Ketertiruan adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda.

2.10.3 Selektivitas (Specificity)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (degree of bias) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

Selektivitas metode ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, atau pembawa plasebo dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan zat – zat tadi. Penyimpangan hasil jika ada merupakan selisih dari hasil uji keduanya.

2.10.4 Linearitas (Linearity) dan Rentang (Range)

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

2.10.5 Batas Kuantitasi (LOQ) dan Batas Deteksi (LOD)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda – beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko.

2.10.6 Ketangguhan (Ruggedness)

Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dan lainnya. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara laboratorium dan antar analisis.

2.10.7 Kekuatan (Robustness)

Untuk memvalidasi suatu metode perlu dibuat perubahan metodologi yang kecil dan terus menerus dan mengevaluasi respon analitik dan efek pada presisi dan akurat.

BAB 3

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif dan Laboratorium Instrumen Kimia Departemen Farmasi FMIPA UI Depok dalam jangka waktu Februari 2012 sampai dengan Mei 2012

2.2 Bahan

Fruktosa (Merck), Manitol (Dankos Farma), Sorbitol (Kalbe Farma), Alumunium-nikel alloy (Sigma-Aldrich), Gas hidrogen (Samator), Aquabidestilata (Widatra Bhakti), Asetonitril (Merck), Metanol (Merck), Natrium Hidroksida (Mallinckrodt), Etanol (Merck).

2.3 Peralatan

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Shimadzu) terdiri dari sistem pompa LC-20AD (shimadzu), injector manual, oven kolom CTO-6AS (Shimadzu), Degasser DGU-20A5 (Shimadzu), kolom Waters® Carbohydrate Analysis (3,9 mm x 300 mm, 10 μ m), detektor refraktif index (RID-10A Shimadzu), dan pengolah data pada komputer, Syringe 100 μ L (Hamilton), Spektrofotometer Infra merah FTIR 8400S (Shimadzu), Alat penentu titik lebur (Stuart Scientific), Timbangan analitik (Acculab), oven (Heraeus), Evaporator, Penghilang gas (Elmasonic S60H), Pengaduk magnetik (Cimarec), Filter eluen dan sampel (Whatman), dan Alat-alat gelas.

2.4 Cara Kerja

2.4.1 Persiapan Analisis

2.4.1.1 Pembuatan Larutan Standar Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa

Senyawa baku manitol dan fruktosa masing-masing ditimbang seksama sebanyak 1000 mg, dan sorbitol 1200 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu

ukur 100,0 mL dan dilarutkan dengan air hingga batas sehingga diperoleh konsentrasi masing - masing 10000 $\mu\text{g/mL}$.

2.4.1.2 Aktivasi Katalis Raney-nikel (Vogel, 1989)

Larutan 38 gram natrium hidroksida dalam 150 mL aquadest dimasukkan ke dalam gelas piala 1L yang diletakkan di atas pengaduk stirrer dan didinginkan pada penangas es hingga suhunya 10°C . Tambahkan 30 gram aluminium – nikel alloy sedikit demi sedikit ke dalam larutan natrium hidroksida sambil terus diaduk dan dijaga suhunya agar tidak melebihi suhu kamar. Jika terbentuk busa tambahkan 1mL oktanol. Setelah 2 jam, pengadukan dihentikan, keluarkan gelas piala dari penangas es, dan biarkan campuran pada temperatur kamar. Ketika proses pelepasan hidrogen melambat, panaskan campuran perlahan – lahan pada penangas air hingga proses pelepasan hidrogen kembali melambat (sekitar 8 – 12 jam). Tambahkan aquadest untuk mengganti volume air yang berkurang, kemudian aduk kembali, biarkan sebentar dan dekantasi cairan supernatannya. Pindahkan padatan nikel ke dalam tabung silinder dengan bantuan air, kemudian dekantasi kembali. Tambahkan larutan 5 gram natrium hidroksida dalam 50 mL aquadest, kocok agar katalis terdispersi secara merata, setelah itu diamkan dan dekantasi larutan alkalinnya. Cuci katalis dengan mensuspensikannya di dalam aquadest dan dekantasi hingga pH netral. Setelah pH-nya netral, cuci kembali sebanyak 10 kali dengan aquadest. Ulangi pencucian 3 kali masing – masing dengan etanol 95% dan tiga kali dengan etanol absolut. Simpan katalis di dalam botol tertutup rapat yang berisi etanol absolut. Produk yang dihasilkan bersifat piroforik.

2.4.2 Optimasi Kondisi Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa

Larutan campuran yang mengandung manitol, sorbitol, dan fruktosa dengan konsentrasi masing – masing 10000 $\mu\text{g/mL}$ disuntikkan sebanyak 20,0 μl ke alat KCKT dengan fase gerak asetone-nitril-air (85:15). Selanjutnya, suntikkan 20,0 μl larutan ke alat KCKT dengan fase gerak asetone-nitril-air (87;13), fase gerak asetone-nitril-air (90:10), fase gerak asetone-nitril-air (93:7), dan fase gerak asetone-nitril-air (95:5).

Untuk pemilihan metode, laju alir yang digunakan sebesar 1,0 mL/menit dan hasil elusi dideteksi dengan detektor indeks bias. Catat waktu retensi, nilai N, HETP, faktor ikutan, dan resolusi yang diperoleh. Bandingkan hasil analisis yang diperoleh dari masing – masing fase gerak.

2.4.3 Uji Kesesuaian Sistem

Larutan induk yang mengandung campuran manitol, sorbitol, dan fruktosa dengan konsentrasi masing – masing 10000 µg/mL disuntikkan sebanyak 20,0 µl ke alat KCKT dengan fase gerak dan laju alir terpilih. Catat waktu retensi, hitung nilai N, HETP, faktor ikutan yang diperoleh, serta presisi pada lima kali penyuntikkan.

2.4.4 Validasi Metode Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa

2.4.4.1 Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar

Larutan standar fruktosa, sorbitol, dan manitol diencerkan hingga seri konsentrasi 2000µg/mL, 3000µg/mL, 4000µg/mL, 6000µg/mL, dan 8000µg/mL. Masing-masing larutan dengan seri konsentrasi tersebut dan larutan standar disuntikkan sebanyak 20,0µl ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Hasil kromatogram berupa area fruktosa, sorbitol, dan manitol dicatat dan dibuat persamaan kurva kalibrasi dari data tersebut.

2.4.4.2 Uji Selektivitas

Larutan blanko yaitu aquabidest disuntikkan sebanyak 20µL ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Hasil kromatogram larutan blanko tidak boleh ada gangguan yang bermakna disekitar waktu retensi fruktosa, sorbitol, dan manitol.

2.4.4.3 Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan pada kadar manitol, sorbitol, dan fruktosa sebesar 80%, 100%, dan 120%. Ditimbang sejumlah standar manitol, sorbitol, dan fruktosa. Pengenceran dilakukan dengan aquabidest hingga didapat konsentrasi 4000µg/mL, 5000µg/mL, dan 6000µg/mL. Larutan disuntikkan sebanyak tiga kali

masing-masing 20,0 μ l ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Dihitung nilai % perolehan kembali (% *recovery*).

2.4.4.4 Uji Presisi

Uji presisi dilakukan pada kadar manitol, sorbitol, dan fruktosa sebesar 100%, sebanyak enam kali penimbangan. Dihitung simpangan baku relatif dan koefisien variasinya (KV)

2.4.5 Optimasi Kondisi Sintesis Manitol

2.4.5.1 Optimasi Konsentrasi Fruktosa

Disiapkan larutan D-fruktosa konsentrasi 10%, 15% dan 20% dengan melarutkan berturut – turut 2g D-fruktosa dalam 20 mL air, 3g D-fruktosa dalam 20 mL air, dan 4g D-fruktosa dalam 20 mL air. Larutan dicampurkan dengan katalis Raney-nikel dengan jumlah 3%. Masukkan gas hidrogen ke dalam campuran. Wadah segera ditutup rapat dan dikocok sebentar. Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit.

2.4.5.2 Optimasi konsentrasi Katalis Raney-Nikel

Disiapkan larutan D-fruktosa konsentrasi 10% dengan melarutkan 2g D-fruktosa dalam 20 mL air. Larutan dicampurkan dengan katalis Raney-nikel dengan jumlah 3%, 5%, dan 7%. Masukkan gas hidrogen ke dalam campuran. Wadah segera ditutup rapat dan dikocok sebentar. Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit.

2.4.5.3 Optimasi Temperatur Sintesis

Disiapkan larutan D-fruktosa konsentrasi 10% dengan melarutkan 2g D-fruktosa dalam 20 mL air. Larutan dicampurkan dengan katalis Raney-nikel dengan jumlah 3%. Masukkan gas hidrogen ke dalam campuran. Wadah segera ditutup rapat dan dikocok sebentar. Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu

oven diatur 60°C, 80°C, 100°C, dan 120°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit.

2.4.5.4 Optimasi Waktu Sintesis

Disiapkan larutan D-fruktosa konsentrasi 10% dengan melarutkan 2g D-fruktosa dalam 20 mL air. Larutan dicampurkan dengan katalis Raney-nikel dengan jumlah 3%. Masukkan gas hidrogen ke dalam campuran. Wadah segera ditutup rapat dan dikocok sebentar. Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 40, 60, 80, dan 100 menit.

2.4.6 Analisis Kadar Senyawa Hasil Sintesis

Campuran yang telah direaksikan didinginkan terlebih dahulu kemudian disaring untuk memisahkan filtratnya dengan katalis. Supernatan yang didapat diencerkan 10 kali dan dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi untuk menentukan kadar manitol, sorbitol, dan fruktosa. Sistem KCKT yang digunakan adalah kolom Waters® Carbohydrate Analysis (3,9 mm x 300 mm, 10µm) dengan kondisi analisis yang terpilih. Suhu analisa 40°C. Gula dan gula alkohol dideteksi dengan detektor refraktif indeks.

2.4.7 Sintesis Manitol

Disiapkan larutan D-fruktosa dengan volume 20 mL dengan konsentrasi yang optimum. Larutan tersebut dicampurkan dengan katalis Raney-nikel dengan konsentrasi yang optimum. Masukkan gas hidrogen ke dalam campuran. Wadah segera ditutup rapat dan dikocok sebentar. wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur pada suhu optimum. Campuran direaksikan pada waktu optimum. Kemudian hasilnya dianalisis seperti pada cara 3.4.6

2.4.8 Pemisahan Manitol dan Sorbitol

Filtrat yang telah dipisahkan dari katalis dipekatkan dengan menggunakan sistem evaporasi vakum. Larutan kemudian didinginkan pada suhu 15°C. Setelah 2 jam, manitol akan mengkristal dengan bentuk seperti jarum halus. (Ahmed,

Khadom, & Kadhum, 2009). Kristal manitol dipisahkan dengan penyaringan. Kristal kemudian dikeringkan hingga terbentuk padatan yang kering.

2.4.9 Karakterisasi Senyawa Manitol Hasil Sintesis

2.4.9.1 Penentuan Jarak Lebur

Manitol sebagai senyawa hasil sintesis dimasukkan ke dalam mikrokapiler yang tertutup salah satu ujungnya. Mikrokapiler dimasukkan ke dalam alat penentu titik lebur dan pemanas diaktifkan. Kenaikan suhu diatur $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai 60% suhu lebur yang diinginkan (164°C). Ketika suhu mencapai 149°C (kurang 15°C dari suhu yang diinginkan), kenaikan suhu diatur menjadi $1^{\circ}\text{C}/\text{menit}$. Suhu pada saat mula-mula zat melebur hingga melebur sempurna seluruhnya dicatat sebagai jarak lebur. Bandingkan hasil yang diperoleh jarak lebur manitol standar.

2.4.9.2 Spektroskopi Infra Merah

Senyawa manitol sebanyak lebih kurang 5 mg ditimbang kemudian digerus dengan 45 mg kalium bromida yang telah dikeringkan selama 24 jam pada suhu 105°C . Kalium bromida yang telah dikeringkan selama 24 jam pada suhu 105°C digerus dan dimasukkan kedalam wadah sampel analisis. Kemudian dibuat *background* menggunakan kalium bromida. Selanjutnya campuran dianalisis pada bilangan gelombang 4000 cm^{-1} sampai 400 cm^{-1} . Bandingkan hasil yang diperoleh dengan spektrum infra merah manitol standar.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dilakukan sintesis manitol dari fruktosa dengan menggunakan katalis Raney-nikel. Pada sintesis manitol dari fruktosa terjadi reaksi hidrogenasi pada gugus keton pada atom C kedua fruktosa menjadi gugus alkohol. Bentuk asiklik D-fruktosa dalam larutan aqueous memiliki empat bentuk siklik yang berbeda, yaitu β -D-fruktopiranos, α -D-fruktopiranos, β -D-fruktofuranos, and α -D-fruktofuranos. Saat reaksi hidrogenasi, β -fruktosa akan menjadi manitol sedangkan α -fruktosa akan menjadi sorbitol. Hal tersebut menyebabkan sintesis manitol dari fruktosa dapat diikuti oleh hasil sampingan berupa sorbitol. (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005). Oleh karena itu perlu dilakukan optimasi kondisi sintesis manitol dari fruktosa agar jumlah manitol yang dihasilkan dapat maksimal dan jumlah sorbitol sebagai produk sampingan dapat seminimal mungkin.

Senyawa hasil sintesis kemudian dianalisis dengan alat kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan kolom silika dengan ikatan propilamin (Waters® Carbohydrate Analysis) dan dideteksi dengan detektor indeks bias. Analisis senyawa menggunakan detektor indeks bias karena senyawa karbohidrat tidak memiliki gugus kromofor maupun fluorofor yang dapat dideteksi pada panjang gelombang UV, visible, dan fluoresensi. Umumnya karbohidrat menyerap panjang gelombang dekat daerah UV 180 – 220 nm (Johnson & Stevenson, 1991). Namun pada panjang gelombang ini seringkali ditemukan adanya gangguan dari komponen lain yang terdapat dalam sampel.

Komposisi fase gerak memengaruhi resolusi dan waktu retensi analit. Jika jumlah asetonitril ditingkatkan maka dapat meningkatkan resolusi, namun hal ini akan menyebabkan waktu retensi menjadi semakin lama. Sebaliknya, jika jumlah asetonitril diturunkan, waktu retensi zat akan semakin cepat karena sampel yang berupa gula akan lebih mudah larut dalam fase gerak, namun hal ini berakibat resolusinya semakin berkurang (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Oleh karena

itu, perlu dilakukan optimasi terhadap komposisi fase gerak sehingga dapat diperoleh kondisi optimum untuk pemisahan fruktosa, sorbitol, dan manitol.

4.1 Optimasi Kondisi Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa

Pemilihan metode analisis campuran manitol, sorbitol, dan fruktosa dilakukan terhadap lima komposisi fase gerak yaitu asetonitril-air (85:15), fase gerak asetonitril-air (87:13), fase gerak asetonitril-air (90:10), fase gerak asetonitril-air (93:7), dan fase gerak asetonitril-air (95:5). Laju alir yang digunakan sebesar 1,0 mL/menit. Larutan standar yang digunakan adalah campuran fruktosa, manitol, dan sorbitol. Sebelum dilakukan optimasi kondisi analisis, dilakukan penyuntikan larutan tunggal masing – masing standar untuk mengetahui zat mana yang akan terelusi lebih dahulu. Berdasarkan pengamatan, fruktosa memiliki waktu retensi yang lebih singkat dibandingkan sorbitol. Sedangkan manitol memiliki waktu retensi yang paling lama diantara ketiga zat yang dianalisis.

Metode yang dipilih adalah metode analisis dengan komposisi fase gerak asetonitril-air (93:7). Nilai statistik N, HETP, T_f , dan R yang dihasilkan lebih baik dibandingkan pada metode analisis dengan komposisi fase gerak lainnya. Cara menghitung nilai N, HETP, T_f , dan R dapat dilihat pada rumus 4.1 sampai rumus 4.4 pada lampiran 1 dan 2. Hasil statistik metode – metode tersebut dapat dilihat pada tabel 4.1, serta kromatogram setiap metode dapat dilihat pada gambar 4.1 sampai gambar 4.9

Kondisi analisis yang dipilih yaitu komposisi fase gerak asetonitril-air (93:7) sebenarnya belum memenuhi persyaratan pemisahan yang baik. Pemisahan suatu senyawa dapat dikatakan memenuhi persyaratan apabila nilai resolusi antara kedua senyawa tersebut lebih dari 1,5 (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Resolusi antara puncak manitol dan sorbitol yang didapatkan adalah 1,27. Selain itu nilai jumlah plat teoritis (N) dari puncak fruktosa pada kondisi analisis terpilih juga masih dibawah 2000, yaitu didapatkan nilai N 1272,233. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi fase gerak asetonitril-air (93:7) belum dapat menganalisis campuran fruktosa, sorbitol, dan manitol dengan maksimal. Oleh karena itu, pada penellitian selanjutnya dapat dicari kembali metode analisis yang

baik untuk memisahkan dan menganalisis campuran fruktosa, sorbitol, dan manitol. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan mengganti kolom dengan kolom yang berisi bahan pengisi L19, sebagaimana yang dianjurkan pada Farmakope Indonesia Edisi IV (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Kolom L19 berisi resin penukar kation kuat yang terdiri dari kopolimer ikatan silang stirena-divinilbenzena tersulfonasi dalam bentuk kalsium dengan diameter lebih kurang $9\mu\text{m}$.

4.2 Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menjamin bahwa sistem kromatografi yang digunakan akan bekerja dengan baik selama analisis berlangsung. Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan melakukan penyuntikan secara berulang pada suatu kondisi analisis dan dilakukan pada hari yang sama. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam persentase koefisien variasi (KV) yang menunjukkan batas variasi yang diperbolehkan dalam suatu analisis. Semakin kecil nilai KV menunjukkan semakin baik suatu sistem yang digunakan. Penyuntikan ulang larutan baku umumnya tertera dalam masing – masing monografi, hasil pengukurannya diperbandingkan untuk memastikan apakah persyaratan presisi telah dipenuhi. Bila tidak dinyatakan lain dalam masing – masing monografi, untuk perhitungan digunakan data kromatogram lima kali hasil penyuntikan ulang, jika dinyatakan batas simpangan baku relatif 2,0% atau kurang, dan digunakan data kromatogram penyuntikan ulang enam kali, jika dinyatakan batas simpangan baku relatif lebih dari 2,0% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Pada masing – masing monografi fruktosa, manitol, dan sorbitol dipersyaratkan bahwa simpangan baku relatifnya kurang dari sama dengan 2,0%, sehingga dilakukan lima kali penyuntikan ulang.

Larutan campuran fruktosa, sorbitol, dan manitol dengan konsentrasi masing – masing $10000\ \mu\text{g/mL}$ disuntikkan sebanyak lima kali pengulangan ke alat KCKT dengan menggunakan metode analisis terpilih. Dari hasil penyuntikan, diperoleh area dan waktu retensi larutan standar fruktosa, sorbitol, dan manitol yang kemudian dihitung nilai rata – rata dan koefisien variasinya. Kromatogram hasil analisis dapat dilihat pada gambar 4.8

Rata – rata area larutan standar fruktosa adalah 1441380 mV/s dengan nilai KV sebesar 0,94%. Waktu retensi rata – rata larutan standar fruktosa adalah 10,821 menit dengan nilai KV sebesar 1,04%. Area rata – rata sorbitol adalah 888465,8 mV/s dengan nilai KV 1,36%. Waktu retensi rata – rata sorbitol adalah 16,427 menit dengan nilai KV 0,99%. Area rata – rata manitol adalah 1481892 mV/s dengan nilai KV 0,77%. Waktu retensi rata – rata sorbitol adalah 17,906 menit dengan nilai KV 1,00%. Hasil statistik uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada tabel 4.2.

4.3 Validasi Metode Analisis Campuran Manitol, Sorbitol, dan Fruktosa

4.3.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar

Kurva kalibrasi menggambarkan hubungan antara respon detektor dengan konsentrasi analit yang diketahui. Pembuatan kurva kalibrasi diawali dengan membuat seri pengenceran larutan campuran fruktosa, sorbitol, dan manitol. Pengenceran dilakukan dari larutan induk dan dibuat enam level konsentrasi larutan, yaitu konsentrasi 2000, 3000, 4000, 6000, 8000, dan 10000 µg/mL. Pada percobaan, diperoleh persamaan kurva kalibrasi fruktosa yaitu $y = -320,60 + 142,26x$, persamaan kurva kalibrasi sorbitol yaitu $y = -13631,23 + 92,89x$, dan persamaan kurva kalibrasi manitol yaitu $y = 32873,50 + 143,22 x$. Cara mendapatkan persamaan kurva kalibrasi dapat dilihat pada lampiran III , rumus 4.5 – 4.7.

Koefisien relasi (r) fruktosa yang diperoleh adalah $r = 0,9997$, sedangkan koefisien relasi sorbitol adalah $r = 0,9990$, dan koefisien relasi manitol adalah $r = 0,9995$. Nilai r yang diperoleh memenuhi standar linearitas yang ditetapkan yaitu $\geq 0,999$ (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Grafik kurva kalibrasi larutan standar fruktosa, sorbitol, dan manitol dapat dilihat pada Gambar 4.22 – 4.24.

4.3.2 Uji Selektivitas

Uji selektivitas digunakan untuk mengetahui kemungkinan terdapatnya gangguan dari komponen – komponen lain dalam sampel yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran analit (Gandjar & Rohman, 2007). Detektor indeks bias adalah detektor yang merespon perbedaan indeks bias bila suatu zat

melewatinya. Detektor indeks bias dapat mendeteksi semua larutan yang berbeda komposisinya dengan komposisi fase gerak yang digunakan (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Oleh karena itu, air yang merupakan pelarut yang digunakan dalam sintesis akan ikut terdeteksi dan perlu diketahui kemungkinan terdapatnya gangguan dari komponen tersebut terhadap kromatogram senyawa yang dianalisis. Hasil kromatogram menunjukkan bahwa tidak ada gangguan di sekitar waktu retensi fruktosa, sorbitol, dan manitol. Kromatogram larutan blanko dapat dilihat pada gambar 4.4.

4.3.3 Uji Akurasi

Akurasi (kecermatan) merupakan parameter yang menunjukkan kedekatan hasil analisis yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Uji akurasi dinyatakan dengan uji perolehan kembali. Pada bahan baku obat, uji akurasi diperoleh dari perbandingan hasil analisis bahan baku standar. Untuk analisis produk obat, uji akurasi dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah tertentu zat aktif ke dalam formulasi plasebo (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Uji akurasi dilakukan pada kadar 80%, 100%, dan 120% dari yang tertera pada label sediaan jadi. (Food and Drug Administration, 1994).

Sampel yang akan dianalisis nantinya adalah sampel hasil sintesis manitol dari fruktosa sehingga belum dapat dipastikan berapa konsentrasi manitol yang terdapat pada sampel tersebut. Hidrogenasi fruktosa sendiri dengan katalis nikel akan menghasilkan manitol 48 – 50% b/b dengan hasil sampingan berupa sorbitol (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Dari acuan tersebut dapat diperkirakan bahwa persentase maksimum manitol yang terbentuk adalah 50% dihitung dari jumlah fruktosa yang digunakan. Oleh karena itu konsentrasi larutan standar fruktosa, sorbitol, dan manitol yang digunakan adalah 4000, 5000, dan 6000 µg/mL.

Serbuk standar fruktosa, sorbitol, dan manitol yang telah ditimbang, ditambahkan aquabidest dan dilarutkan. Larutan kemudian disuntikkan sebanyak 20 µL ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dalam setiap level konsentrasi (80%, 100%, dan 120%). Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi fruktosa, sorbitol,

dan manitol yang disuntikkan dengan memasukkan area masing – masing zat yang dianalisis ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Persentase perolehan kembali (%UPK) diperoleh dengan membandingkan nilai konsentrasi masing – masing sampel yang didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan kurva kalibrasi dengan konsentrasi sampel yang sebenarnya dikalikan 100%.

Metode yang digunakan memenuhi nilai akurasi yaitu nilai persentase perolehan kembali antara 98 – 102% dan menunjukkan presisi yang baik dengan nilai koefisien variasi (KV) tidak lebih dari 2%. Cara perhitungan untuk akurasi dan nilai KV dapat dilihat pada rumus 4.8, lampiran 4 dan rumus 4.9 – 4.11, lampiran 5. Data statistik uji akurasi dapat dilihat pada tabel 4.4

4.3.4 Uji Presisi

Presisi atau keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Suatu metode dikatakan memenuhi kriteria uji presisi jika memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) $\leq 2,0\%$ (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010). Uji presisi dilakukan pada kadar manitol, sorbitol, dan fruktosa sebesar $5000\mu\text{g/mL}$ sebanyak enam kali penimbangan.

Serbuk standar fruktosa, sorbitol, dan manitol yang telah ditimbang, ditambahkan aquabidest dan dilarutkan. Larutan kemudian disuntikkan sebanyak $20\mu\text{L}$ ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Penimbangan dilakukan sebanyak enam kali pengulangan dengan konsentrasi yang sama. Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi fruktosa, sorbitol, dan manitol yang disuntikkan dengan memasukkan area masing – masing zat yang dianalisis ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Persentase perolehan kembali (%UPK) diperoleh dengan membandingkan nilai konsentrasi masing – masing sampel yang didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan kurva kalibrasi dengan konsentrasi sampel yang sebenarnya dikalikan 100%. Dari nilai %UPK, kemudian dihitung koefisien variasi untuk masing – masing zat.

Metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria presisi yaitu nilai KV sebesar 0,37% untuk fruktosa, 0,88% untuk sorbitol, dan 0,29% untuk manitol.

Cara perhitungan untuk akurasi dan nilai KV dapat dilihat pada rumus 4.9 – 4.11, lampiran 5. Data statistik uji presisi dapat dilihat pada tabel 4.5.

4.4 Optimasi Kondisi Sintesis Manitol

4.4.1 Optimasi Konsentrasi Fruktosa

Optimasi pertama yang dilakukan adalah optimasi konsentrasi fruktosa yang digunakan untuk sintesis manitol. Dipilih tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 15% dan 20%. Larutan fruktosa 10%, 15% dan 20% dalam 20mL air kemudian ditambahkan dengan 1% katalis Raney-nikel dan dialirkan gas hidrogen ke dalamnya. Wadah segera ditutup rapat Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit. Setelah 60 menit wadah dikeluarkan dari oven dan didiamkan hingga suhu kamar. Katalis kemudian dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan dan larutan jernih yang didapatkan diencerkan 10 kali untuk yang konsentrasi 10% dan 20 kali untuk yang konsentrasinya 20% dan 30%

Larutan yang telah diencerkan kemudian disuntikkan sebanyak 20 μ L ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi manitol dan sorbitol yang terbentuk serta konsentrasi fruktosa yang tersisa dengan memasukkan area masing – masing zat ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Dari hasil perhitungan didapatkan hasil bahwa konsentrasi manitol optimum didapatkan pada konsentrasi fruktosa 10%, yaitu terbentuk 4,71% manitol. Fruktosa dalam konsentrasi yang lebih besar, yaitu 15 dan 20% tidak dapat menghasilkan manitol secara maksimal, bahkan jumlah manitol yang terbentuk semakin menurun saat konsentrasi fruktosa dinaikkan. Hal ini kemungkinan terjadi karena jumlah molekul fruktosa yang berkompetisi untuk menempati sisi aktif katalis semakin banyak sehingga katalis dan jumlah katalis tidak cukup untuk reaksi berlangsung. Cara menghitung dapat dilihat pada lampiran 6, rumus 4.12 – 4.14. Data statistik dapat dilihat pada tabel 4.6. Kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.10 – 4.12.

4.4.2 Optimasi konsentrasi Katalis Raney-Nikel

Optimasi yang dilakukan berikutnya adalah optimasi konsentrasi katalis yang digunakan untuk sintesis manitol. Dipilih tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 3%, 5% dan 7%. Larutan fruktosa 10% dalam 20mL air ditambahkan dengan katalis Raney-nikel berbagai konsentrasi dan dialirkan gas hidrogen ke dalamnya. Wadah segera ditutup rapat Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit. Setelah 60 menit wadah dikeluarkan dari oven dan didiamkan hingga suhu kamar. Katalis kemudian dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan dan larutan jernih yang didapatkan diencerkan 10 kali.

Larutan yang telah diencerkan kemudian disuntikkan sebanyak 20 μ L ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi manitol dan sorbitol yang terbentuk serta konsentrasi fruktosa yang tersisa dengan memasukkan area masing – masing zat ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Dari hasil perhitungan didapatkan hasil bahwa konsentrasi manitol optimum didapatkan pada konsentrasi katalis 5%, yaitu terbentuk 5,36% manitol. Cara menghitung dapat dilihat pada lampiran 6, rumus 4.12 – 4.14. Data statistik dapat dilihat tabel 4.7. Kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.13 – 4.14.

4.4.3 Optimasi Temperatur Sintesis

Optimasi yang dilakukan selanjutnya adalah optimasi temperatur reaksi. Dipilih empat temperatur yang berbeda yaitu 60°C, 80°C, 100°C, dan 120°C. Larutan fruktosa 10% dalam 20mL air ditambahkan dengan katalis Raney-nikel 3% dan dialirkan gas hidrogen ke dalamnya. Wadah segera ditutup rapat Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur sesuai dengan kondisi yang akan dioptimasi. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 60 menit. Setelah 60 menit wadah dikeluarkan dari oven dan didiamkan hingga suhu kamar. Katalis kemudian dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan dan larutan jernih yang didapatkan diencerkan 10 kali.

Larutan yang telah diencerkan kemudian disuntikkan sebanyak 20 μ L ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Setelah kromatogram didapatkan,

dihitung konsentrasi manitol dan sorbitol yang terbentuk serta konsentrasi fruktosa yang tersisa dengan memasukkan area masing – masing zat ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Dari hasil perhitungan didapatkan hasil bahwa konsentrasi manitol optimum didapatkan pada temperatur 100°C yaitu terbentuk 20,09% manitol. Cara menghitung dapat dilihat pada lampiran 6, rumus 4.12 – 4.14. Data statistik dapat dilihat tabel 4.8. Kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.15 – 4.17.

4.4.4 Optimasi Waktu Sintesis

Optimasi yang dilakukan terakhir adalah optimasi waktu reaksi yang digunakan untuk sintesis manitol. Dipilih tiga waktu reaksi yang berbeda yaitu 40, 60, 80, dan 100 menit. Larutan fruktosa 10% dalam 20mL air ditambahkan dengan katalis Raney-nikel 3% dan dialirkan gas hidrogen ke dalamnya. Wadah segera ditutup rapat Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 80°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu yang bervariasi sesuai dengan kondisi untuk optimasi. Setelah selesai wadah dikeluarkan dari oven dan didiamkan hingga suhu kamar. Katalis kemudian dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan dan larutan jernih yang didapatkan diencerkan 10 kali.

Larutan yang telah diencerkan kemudian disuntikkan sebanyak 20 μ L ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi manitol dan sorbitol yang terbentuk serta konsentrasi fruktosa yang tersisa dengan memasukkan area masing – masing zat ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Dari hasil perhitungan didapatkan hasil bahwa konsentrasi manitol optimum didapatkan pada waktu reaksi 120 menit yaitu terbentuk 38,66 % manitol. Cara menghitung dapat dilihat pada lampiran 6, rumus 4.12 – 4.14. Data statistik dapat dilihat tabel 4.9. Kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.18 – 4.20.

4.5 Sintesis Manitol

Setelah seluruh optimasi dilakukan dan hasilnya dianalisis, dipilih kondisi sintesis yang dapat menghasilkan manitol paling banyak. Kondisi sintesis yang dipilih adalah konsentrasi fruktosa 10%, konsentrasi katalis 5%, temperatur reaksi

100°C, dan waktu reaksi 120 menit. Larutan fruktosa 10% dalam 20mL air ditambahkan dengan katalis Raney-nikel 5% dan dialirkan gas hidrogen ke dalamnya. Wadah segera ditutup rapat Wadah dimasukkan ke dalam oven. Suhu oven diatur 100°C. Campuran direaksikan dalam oven dengan waktu 120menit. Setelah selesai wadah dikeluarkan dari oven dan didiamkan hingga suhu kamar. Katalis kemudian dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan dan larutan jernih yang didapatkan diencerkan 10 kali.

Larutan yang telah diencerkan kemudian disuntikkan sebanyak 20 µL ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Setelah kromatogram didapatkan, dihitung konsentrasi manitol dan sorbitol yang terbentuk serta konsentrasi fruktosa yang tersisa dengan memasukkan area masing – masing zat ke dalam masing – masing kurva kalibrasi. Dari hasil perhitungan didapatkan hasil bahwa konsentrasi manitol yang didapatkan pada kondisi sintesis yang optimum adalah 42,77% manitol. Cara perhitungan kadar senyawa hasil sintesis ada pada lampiran 6 dan rumus 4.12 – 4.14. Data statistik dapat dilihat tabel 4.6. Kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.21.

Manitol yang dihasilkan dari reaksi hidrogenasi belum dapat dikatakan maksimal. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan metode yang digunakan pada penelitian kali ini dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian terdahulu digunakan metode pengaliran gas hidrogen secara terus menerus dari awal reaksi hingga reaksi selesai. Metode ini memerlukan peralatan yang jauh lebih kompleks dan standar keamanan yang tinggi karena gas hidrogen yang digunakan bersifat mudah meledak sehingga metode ini riskan untuk dilakukan. Oleh karena itu dipilihlah metode pengaliran gas hidrogen hanya pada awal reaksi, dimana gas hidrogen ditambahkan hanya saat sebelum reaksi hingga larutan jenuh dan kemudian wadah ditutup rapat. Hal ini menyebabkan hidrogen dapat habis sebelum reaksi selesai atau manitol yang telah terbentuk teroksidasi kembali menjadi fruktosa sehingga manitol yang dihasilkan kurang maksimal.

Prinsip dari sintesis manitol dari fruktosa dengan katalis Raney-nikel adalah perpindahan masa. Dimana katalis Raney-nikel yang struktur permukaannya berpori akan menyediakan tempat reaksi bagi fruktosa dan gas

hidrogen (Toukoniitty, Kuusisto, Mikkola, Salmi, & Murzin, 2005). Oleh karena itu keberadaan katalis Raney-nikel penting pada sintesis ini.

Pada sintesis manitol dengan kondisi sintesis yang optimum tidak dihasilkan sorbitol. Sorbitol terbentuk dari α -fruktofurana dan α -fruktopirana. Bentuk α dari fruktosa ini hanya terdapat maksimal 12% (Kuusisto, Mikkola, Casal, Karhu, Vayrynen, & Salmi, 2005). Persentase bentuk α fruktosa ini sangat kecil bila dibandingkan dengan bentuk β yang nantinya akan membentuk manitol, yaitu sekitar 85%. Sehingga akan lebih sulit untuk menghasilkan sorbitol bila dibandingkan dengan manitol pada sintesis menggunakan senyawa awal fruktosa. Namun, hal ini sebenarnya menguntungkan karena sorbitol yang merupakan produk samping sintesis ini tidak dihasilkan sehingga proses pemisahan manitol dari larutan hasil sintesis lebih mudah.

4.6 Pemisahan Manitol

Filtrat hasil sintesis dengan kondisi sintesis optimum dipekatkan terlebih dahulu dengan menggunakan sistem evaporasi vakum menggunakan alat freeze-dryer. Larutan kemudian didinginkan pada suhu 15°C. Setelah 2 jam, manitol akan mengkristal dengan bentuk seperti jarum halus. Kristal manitol dipisahkan dengan penyaringan dan dikeringkan pada suhu 40°C. Setelah dikeringkan didapatkan kristal berbentuk jarum halus berwarna putih dan rasa manis dengan berat 97,2 mg. Setelah dihitung dan dibandingkan dengan konsentrasi manitol yang dianalisis menggunakan alat KCKT didapatkan bahwa manitol yang berhasil dipisahkan hanya 11,36%. Hal ini menunjukkan proses pemisahan secara kristalisasi fraksional belum dapat memisahkan manitol secara sempurna. Hasil tersebut didukung oleh penelitian terdahulu, dimana hasil pemisahan manitol hanya sekitar 17% (Airaksinen & Weymarn, 2003). Gambar Kristal senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada gambar 4.25

4.7 Karakterisasi Senyawa Manitol Hasil Sintesis

4.7.1 Penentuan Jarak Lebur

Jarak lebur memiliki arti penting dalam identifikasi dan pengukuran kemurnian. Penggunaan untuk identifikasi didasarkan pada fakta bahwa semua

senyawa murni mempunyai jarak lebur yang tajam, atau mempunyai jarak temperatur lebur yang sangat kecil ketika berubah sempurna dari padat ke cair. Jarak temperatur maksimum untuk senyawa murni adalah 1-2°C (Singh, Gupta, & Bajpai, 1980). Manitol memiliki jarak lebur 164 – 169°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Jarak lebur serbuk manitol standar adalah 164 - 165°C. Setelah dilakukan percobaan, didapatkan bahwa jarak lebur senyawa hasil sintesis adalah 163 - 165°C. Hal ini menunjukkan kedekatan jarak lebur antara serbuk manitol standar dengan serbuk manitol hasil sintesis.

4.7.2 Spektroskopi Infra Merah

Analisi spektrum inframerah untuk mengkonfirmasi identitas sampel hasil sintesis dengan standar manitol, dilihat spektrum pada daerah sidik jari pada 1500 – 700 cm^{-1} . Pada daerah sidik jari sedikit saja perbedaan dalam struktur dan susunan molekul, akan menyebabkan distribusi puncak absorpsi berubah (Khopkar, 1990). Spektrum inframerah senyawa manitol menunjukkan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang 1019, 1083, 1421, 1280 cm^{-1} (Moffat, Osselton, & Widdop, 2005). Pada percobaan menggunakan standar serbuk manitol didapatkan puncak – puncak serapan pada bilangan gelombang 1016.52, 1078.24, 1280.78, 1417.73 cm^{-1} . Gambar spektrum inframerah standar manitol dapat dilihat pada Gambar 4.29. Pada senyawa hasil sintesis menunjukkan puncak – puncak serapan pada bilangan gelombang 1020.38, 1084.03, 1261.49, 1419.66. Gambar spektrum inframerah senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 4.30. Hasil tumpang tindih (*overlay*) spektrum inframerah senyawa hasil sintesis dan standar manitol dapat dilihat pada Gambar 4.31. Dari hasil tumpang tindih terlihat bahwa senyawa hasil sintesis dan standar manitol relatif memiliki kesamaan bentuk spektrum.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kondisi optimum untuk sintesis manitol adalah konsentrasi fruktosa 10%, konsentrasi katalis 5%, temperatur reaksi 100°C, dan waktu reaksi 120 menit, yaitu menghasilkan manitol dengan persentase 42,77%. Kadar senyawa hasil sintesis dapat dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan kolom Waters® Carbohydrate Analysis (3,9 mm x 300 mm, 10µm), fase gerak asetronitril-air (93:7) dengan laju alir 1,0 mL/ menit dan dideteksi dengan detektor indeks bias.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk mengoptimasi metode analisis campuran fruktosa, sorbitol, dan manitol agar didapatkan pemisahan yang lebih baik serta mengoptimasi kondisi sintesis manitol dari fruktosa agar didapatkan jumlah manitol yang lebih banyak.

DAFTAR ACUAN

- Ahmed, M. J., Khadom, A. A., & Kadhum, A. A. (2009). Optimization Hydrogenation Process of D-Glucose to D-Sorbitol Over Raney Nickel Catalyst. *European Journal of Scientific Research* , 30 (2), 294 - 304.
- Ahmed, M. J., & Kadhum, A. A. (2011). Hydrogenation of D-Fructose over Activated Charcoal Supported Platinum Catalyst. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical engineers* , 42, 114 - 119.
- Airaksinen, U., & Weymarn, N. V. (2003). *Patent No. 20040063183*. Chicago.
- Clifford, A. A., & Williams, J. R. (2000). Introduction to Supercritical Fluids and Their Applications. In A. A. Clifford, & J. R. Williams, *Supercritical Fluid Methods and Protocols* (pp. 1 - 13). New Jersey: Humana Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia* (IV ed., pp. 519, 756, 1018, & 1016). Jakarta: Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan.
- Food and Drug Administration. (1994, November). *Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods*. Retrieved Mei 20, 2012, from <http://www.fda.gov>
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. (pp. 467). Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ghoreishi, S. M., & Shahrestani, R. G. (2009). innovative Strategies for Engineering Mannitol Production. *Food Science & Technology* , 20, 263 - 270.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. (pp. 144-162). Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Heinen, A. W., Peters, J. P., & Van Bekkum, H. (2000). Hydrogenation of Fructose on Ru/C Catalyst. *Carbohydr. Res.* , 330, 328.
- Jamieson, P. R. (2012). Sorbitol and Manitol. In L. O. Nabors, *Alternative Sweeteners* (IV ed., pp. 333 - 347). Boca Raton: CRC Press.

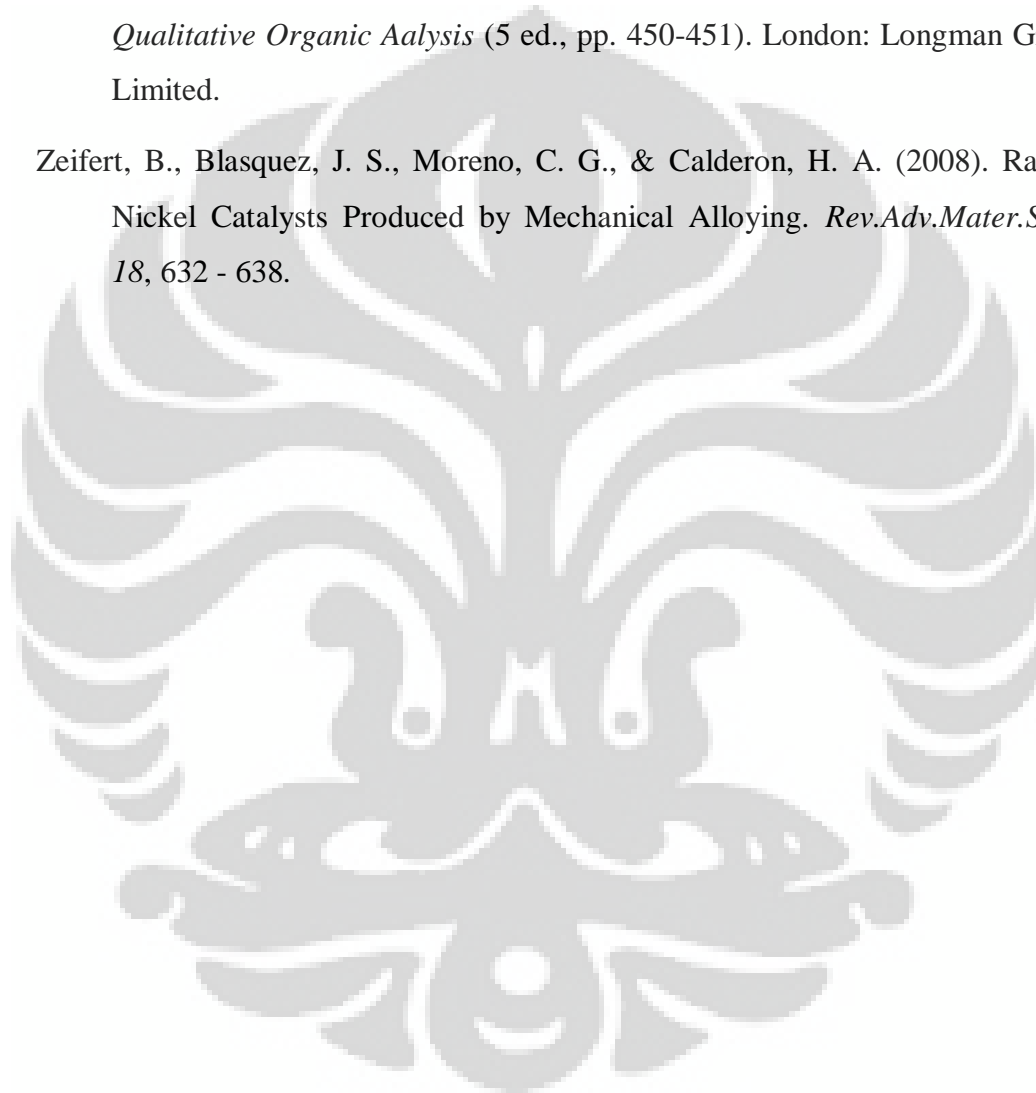
- Johnson, E. L., & Stevenson, R. (1991). *Dasar Kromatografi Cair*. (K. Padmawinata, Trans., pp. 1-6) Bandung: Penerbit ITB.
- Kearsley, M. W., & Deis, R. C. (2006). Sorbitol and Mannitol. In H. Mitchell, *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology* (pp. 249 - 261). Oxford: Blackwell.
- Khopkar, S. M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. (A. Saptorahardjo, Trans., pp. 231-239) Jakarta: UI Press
- Kosela, S. (2010). *Cara Mudah dan Sederhana Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Spektra Data (NMR, Mass, IR, UV)* (pp. 179). Jakarta: Lembaga Penerbit FE UI.
- Kuusisto, J., Mikkola, J.-P., Casal, P. P., Karhu, H., Vayrynen, J., & Salmi, T. (2005). Kinetics of the Catalytic Hydrogenation of D-Fructose over a CuO-ZnO Catalyst. *Chemical Engineering Journal* , 115, 93 - 102.
- Liaw, B., Chen, C., & Chen, Y. (2010). Hydrogenation of Fructose over Amorphous Nano-Catalysts of CoNiB and Polymer-stabilized CoNiB. *Chemical Engineering Journal* , 157, 140-145.
- Mackert, P., Mohr, T., & Schwarz, E. (2001). *Patent No. 6,649,754*. Darmstadt.
- Merck & Co., Inc. (2001). *The Merck Index* (13 ed.). New Jersey: Merck Research Laboratories.
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., & Widdop, B. (Eds.). (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical press.
- Nafrialdi. (2007). Diuretik dan Antidiuretik. In S. G. Gunawan (Ed.), *Farmakologi dan Terapi* (V ed., pp. 398 - 399). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Singh, P. R., Gupta, D. S., & Bajpai, K. S. (1980). *Experimental Organic Chemistry* (Vol. 1, pp. 23-30). New Delhi: Tata McGraw-Hill.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2010). *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (3 ed., pp. 177-178, 535-590, & 625-626). New Jersey: John Wiley & Sons.

The United States Pharmacopeial Convention. (2006). *USP 30 - NF 25*. Rockville: Twinbrook Parkway.

Toukoniitty, B., Kuusisto, J., Mikkola, J.-P., Salmi, T., & Murzin, D. Y. (2005). Effect of Ultrasound on Catalytic Hydrogenation of D-Fructose to D-Mannitol. *American Chemical Society* , 44, 9370 - 9375.

Vogel, A. I. (1989). *A Text-book of Practical Organic Chemistry Including Qualitative Organic Analysis* (5 ed., pp. 450-451). London: Longman Group Limited.

Zeifert, B., Blasquez, J. S., Moreno, C. G., & Calderon, H. A. (2008). Raney-Nickel Catalysts Produced by Mechanical Alloying. *Rev.Adv.Mater.Sci.* , 18, 632 - 638.



Tabel 4.1 Data hasil pemilihan metode analisis standar fruktosa, sorbitol, dan manitol

Fase gerak		Plat Teoritis (N)	HETP	Faktor ikutan (Tf)	Resolusi (R)
Asetonitril- air (85:15)	Fruktosa	424,093	353,696	1,804	-
	Sorbitol	470,681	318,687	1,734	1,239
	Manitol				
Asetonitril- air (87:13)	Fruktosa	384,031	390,593	1,99	-
	Sorbitol	550,046	272,705	1,443	1,409
	Manitol				
Asetonitril- air (90:10)	Fruktosa	523,149	286,725	2,267	-
	Sorbitol	433,331	346,156	1,172	1,831
	Manitol				
Asetonitril- air (93:7)	Fruktosa	1272,233	117,903	1,452	-
	Sorbitol	2596,948	57,76	1,065	4,347
	Manitol	2665,35	56,278	1,229	1,27
Asetonitril- air (95:5)	Fruktosa	533,026	281,412	2,609	-
	Sorbitol	1540,257	97,386	1,31	3,527
	Manitol	1031,771	145,381	2,227	0,894

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL
 Konsentrasi : Fruktosa 10000 µg/mL
 : Sorbitol 10000 µg/mL
 : Manitol 10000 µg/mL

Tabel 4.2 Data hasil uji kesesuaian sistem

Waktu retensi (menit)			Area (mV/s)			Rata – rata area (mV/s)			Koefisien variasi (%)		
Fruktosa	Sorbitol	Manitol	Fruktosa	Sorbitol	Manitol	Fruktosa	Sorbitol	Manitol	Fruktosa	Sorbitol	Manitol
10,596	16,104	17,549	1465050	872636	1465422	1441380	888465,80	1481892	0,94	1,36	0,77
10,866	16,492	17,982	1435456	893313	1474118						
10,892	16,531	18,017	1431998	907206	1484546						
10,885	16,536	18,021	1446943	890748	1486437						
10,866	16,473	17,959	1427455	878426	1498937						

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL
 Konsentrasi : Fruktosa 10000 µg/mL
 Sorbitol 10000 µg/mL
 Manitol 10000 µg/mL

Tabel 4.3 Data hasil pengukuran kurva kalibrasi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol

Konsentrasi Fruktosa ($\mu\text{g/mL}$)	Area Fruktosa (mV/s)	Konsentrasi sorbitol ($\mu\text{g/mL}$)	Area sorbitol (mV/s)	Konsentrasi manitol ($\mu\text{g/mL}$)	Area manitol (mV/s)
10012	1484546	10016	907206	10012	1484546
8009,6	1158255	8012,8	728048	8009,6	1158255
6007,2	890698	6009,6	567043	6007,2	890698
4004,8	607510	4006,4	363645	4004,8	607510
3003,6	459238	3004,8	257952	3003,6	459238
2002,4	328900	2003,2	164656	2002,4	328900

Keterangan:

Fruktosa:

$$a = -320,60$$

$$b = 142,26$$

$$r = 0,9997$$

$$y = 142,26x - 320,60$$

Sorbitol:

$$a = -13631,23$$

$$b = 92,89$$

$$r = 0,9990$$

$$y = 92,89x - 13631,2$$

Manitol:

$$a = 32873,50$$

$$b = 143,22$$

$$r = 0,9995$$

$$y = 143,22x - 32873,5$$

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μm , 300 x 3,9 mm

Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μL

Tabel 4.4 Data hasil uji akurasi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol

Zat	Konsentrasi	Area (mV/s)	Perolehan kembali (%0)	Rata – rata (%)	Simpangan baku (%)	Koefisien variasi (%)
Fruktosa	4150	594423	100,74	99,66	1,14	1,14
		588755	99,78			
		581048	98,44			
	5110	740784	101,95	101,09	1,07	1,06
		725854	99,89			
		737186	101,45			
	6030	842217	98,22	99,22	0,92	0,92
		857579	100,01			
		852792	99,45			
Sorbitol	4110	375026	101,8	100,24	1,81	1,80
		370658	100,66			
		361531	98,26			
	5090	451037	98,28	99,66	1,60	1,60
		465853	101,41			
		455811	99,28			
	6080	555358	100,74	101,16	0,36	0,36
		559052	101,4			
		558714	101,34			
Manitol	4100	620008	99,99	99,67	0,79	0,80
		621654	100,26			
		612896	98,77			
	5050	763904	101,08	101,26	0,37	0,36
		768264	101,68			
		763444	101,01			
	6030	879914	98,08	98,24	0,16	0,17
		881269	98,24			
		882737	98,41			

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL

Tabel 4.5 Data hasil uji presisi standar fruktosa, sorbitol, dan manitol

Zat	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area (mV/s)	Perolehan kembali (%)	Rata – rata (%)	Simpangan deviasi (%)	Koefisien variasi (%)
Fruktosa	5050	731322	101,84	101,47	0,38	0,37
	5090	734226	101,44			
	5080	731571	101,27			
	5060	731922	101,72			
	5060	731709	101,69			
	5070	726821	100,81			
Sorbitol	5110	458456	99,45	99,16	0,88	0,88
	5100	451717	98,23			
	5040	450920	99,22			
	5080	451116	98,49			
	5090	453947	98,89			
	5090	462510	100,7			
Manitol	5110	761582	99,57	99,50	0,29	0,29
	5100	759281	99,45			
	5030	746367	99,04			
	5040	751372	99,53			
	5090	758168	99,49			
	5020	751389	99,94			

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μm , 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20 μL

Tabel 4.6 Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi konsentrasi fruktosa

Sampel	Konsentrasi fruktosa (%)	fruktosa			Sorbitol			Manitol		
		Area (mV/s)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase penggunaan (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase hasil (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase hasil (%)
IA	10	1308750	92019,58	7,98	-	-	-	100394	4714,46	4,71
IB	15	4202619	147720,35	1,52	14033	1489,08	0,99	59445	927,64	0,62
IC	20	5609554	197168,78	1,41	-	-	-	41585	304,13	0,15

Kondisi sintesis

Konsentrasi katalis : 3%
Temperatur sintesis : 80°C
Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μm , 300 x 3,9 mm
Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
Laju alir : 1,0 mL/menit
Detektor : indeks bias
Volume penyuntikan : 20 μL

Tabel 4.7 Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi konsentrasi katalis

Sampel	Konsentrasi katalis (%)	fruktosa			Sorbitol			Manitol		
		Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase penggunaan (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)
IIA	3	1308750	92019,58	7,98	-	-	-	100394	4714,46	4,71
IIB	5	1225731	86183,86	13,82	52717	7142,66	7,14	109709	5364,85	5,36
IIC	7	1323322	93043,90	6,95	31439	4851,94	4,85	37903	351,17	0,35

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%
 Temperatur sintesis : 80°C
 Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL

Tabel 4.8 Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi temperatur sintesis

Sampel	Temperatur sintesis (°C)	fruktosa			Sorbitol			Manitol		
		Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase penggunaan (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)
IIIA	60	1368307	96206,14	3,79	-	-	-	94199	4281,97	4,28
IIIB	80	1308750	92019,58	7,98	-	-	-	100394	4714,46	4,71
IIIC	100	1135758	79859,31	20,14	-	-	-	320716	20097,92	20,09
IIID	120	1315469	92491,88	7,50	-	-	-	140605	7522,09	7,52

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%
 Konsentrasi katalis : 3%
 Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL

Tabel 4.9 Data hasil pengukuran kadar senyawa hasil sintesis manitol dengan optimasi waktu sintesis

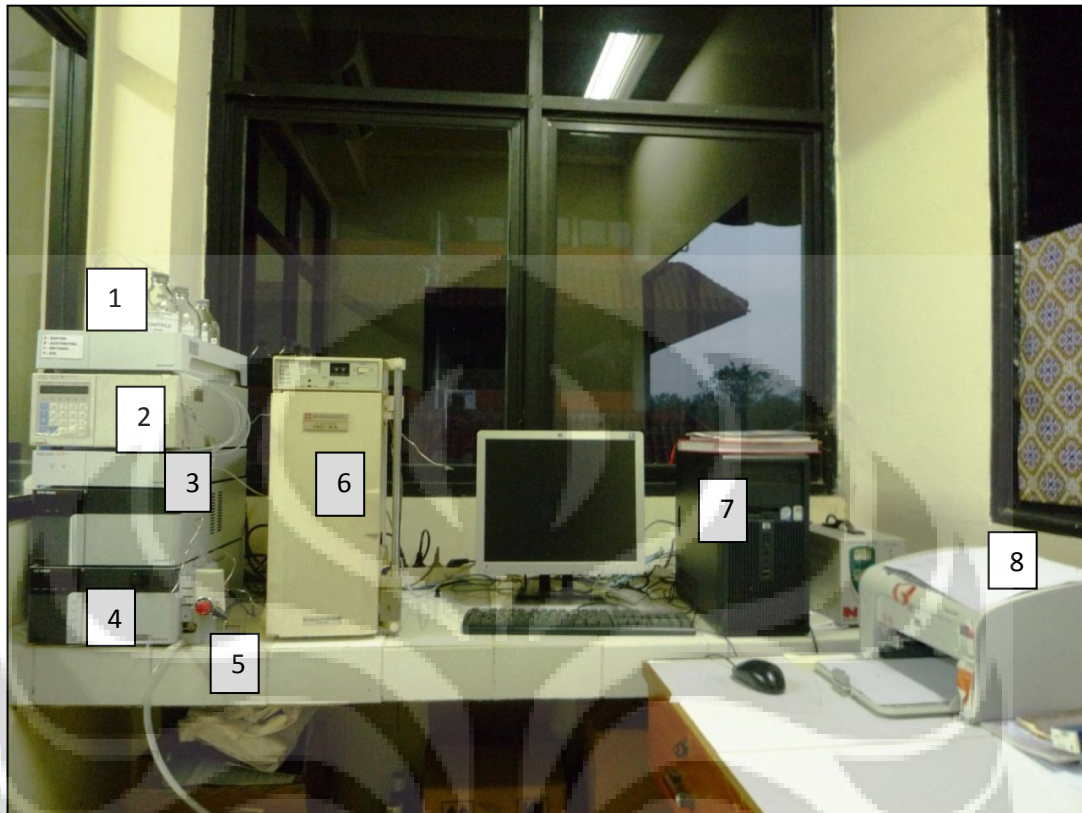
Sampel	Waktu sintesis (menit)	fruktosa			Sorbitol			Manitol		
		Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase penggunaan (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)	Area (mV/s)	Konsentrasi (µg/mL)	Persentase hasil (%)
IVA	40	1348811	94835,62	5,16	-	-	-	99652	4662,65	4,66
IVB	60	1308750	92019,58	7,98	-	-	-	100394	4714,46	4,71
IVC	80	1133449	79697,31	20,30	-	-	-	325381	20423,65	20,42
IVD	100	866635	60941,62	39,05	-	-	-	586520	38657,06	38,66

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%
 Konsentrasi katalis : 3%
 Temperatur sintesis : 80°C

Kondisi analisis

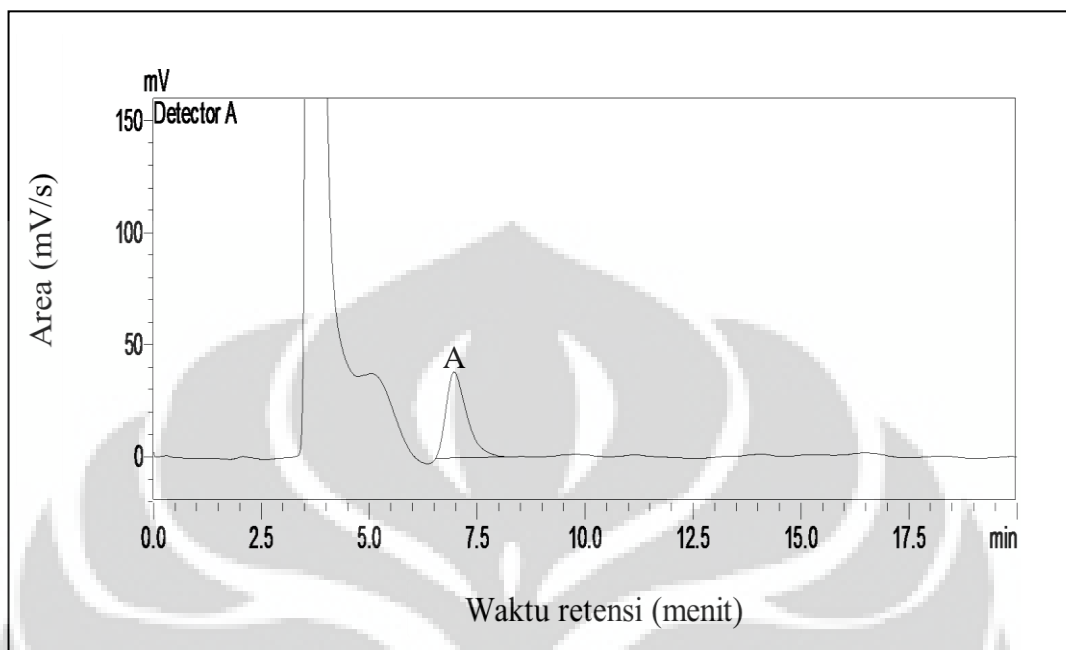
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL



Keterangan:

1. Wadah penampung fase gerak
2. Detektor indeks bias (shimadzu RID-10A)
3. Degasser (Shimadzu DGU-20A5)
4. Pompa (Shimadzu LC-20AD)
5. Injektor
6. Oven kolom (Shimadzu CTO-6AS)
7. Komputer untuk memproses data
8. Printer

Gambar 3.1 Alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa: 6,963 menit

Kondisi analisis

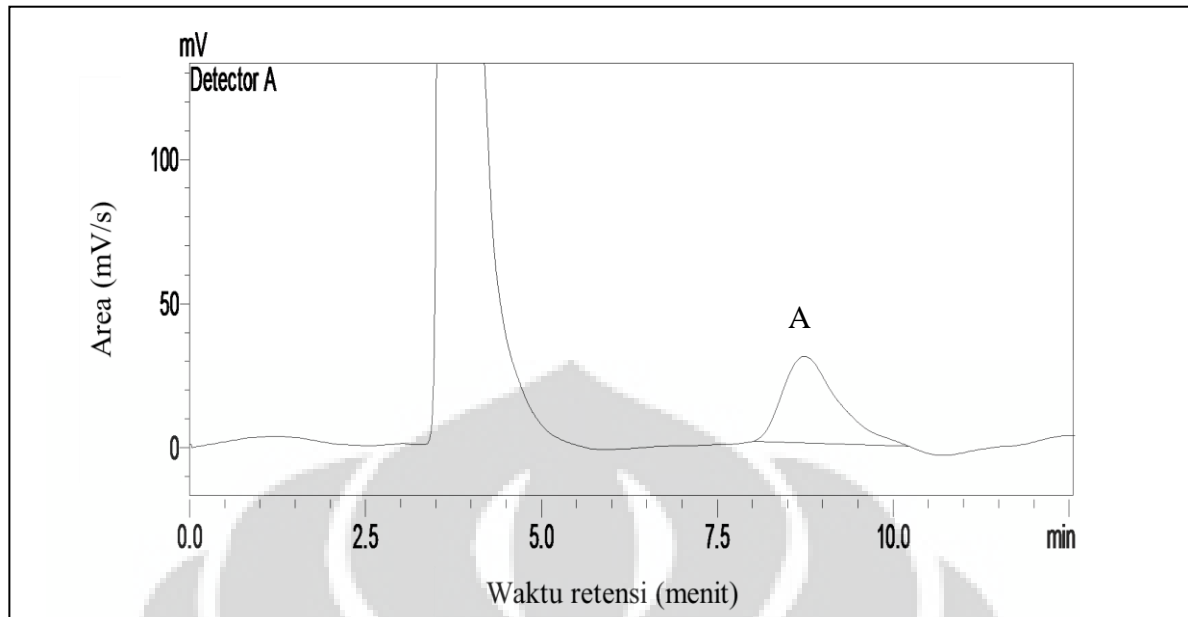
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.1 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)



Keterangan:

Waktu retensi sorbitol: 8,735 menit

Kondisi analisis

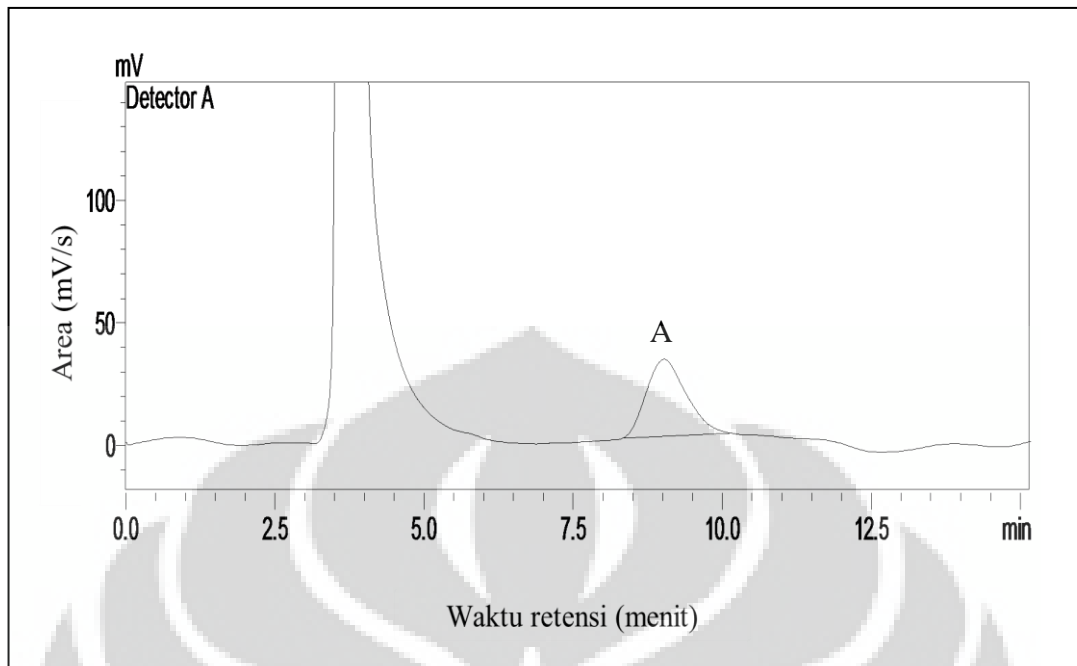
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.2 Kromatogram larutan standar sorbitol 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)



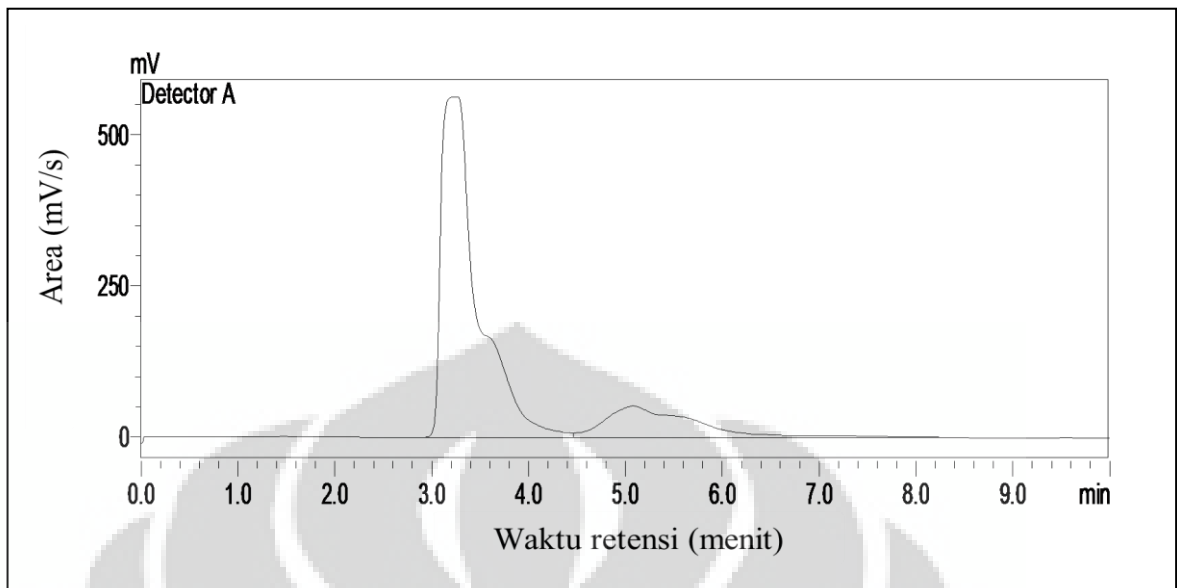
Keterangan:

Waktu retensi sorbitol: 9,023 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.3 Kromatogram larutan standar manitol 10000 μ g/mL (A) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)



Kondisi analisis

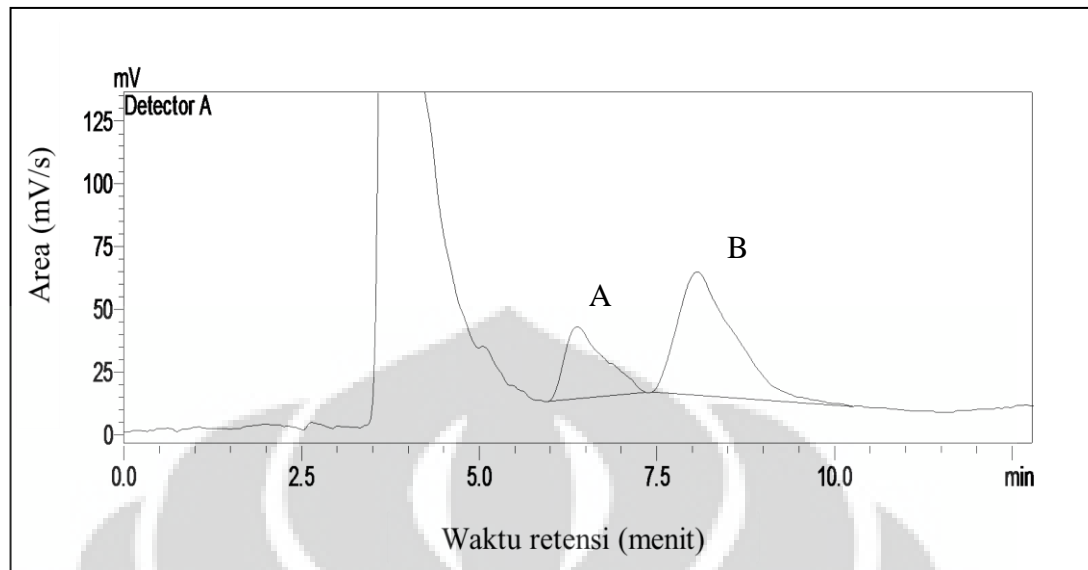
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.4 Kromatogram larutan blanko dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa : 6,375 menit

Waktu retensi sorbitol dan manitol : 8,063 menit

Kondisi analisis

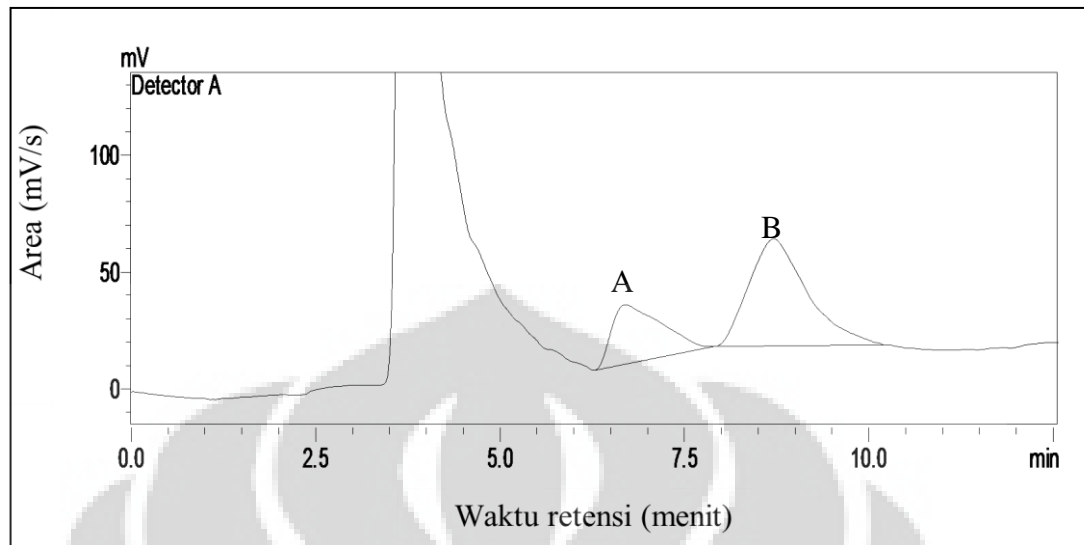
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.5 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (85:15)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa : 6,699 menit

Waktu retensi sorbitol dan manitol : 8,708 menit

Kondisi analisis

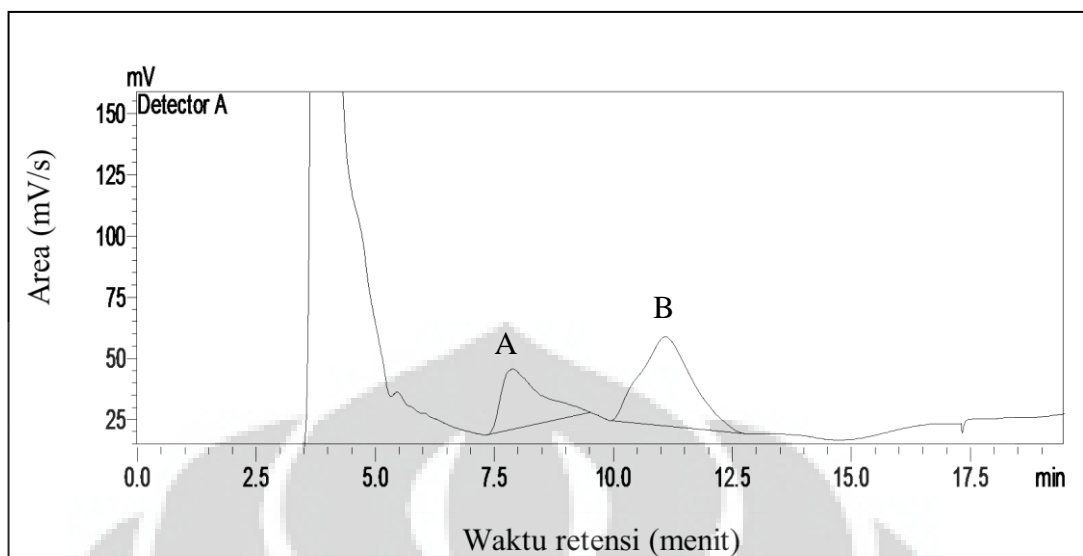
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.6 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (87:13)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa : 7,881 menit

Waktu retensi sorbitol dan manitol : 11,095 menit

Kondisi analisis

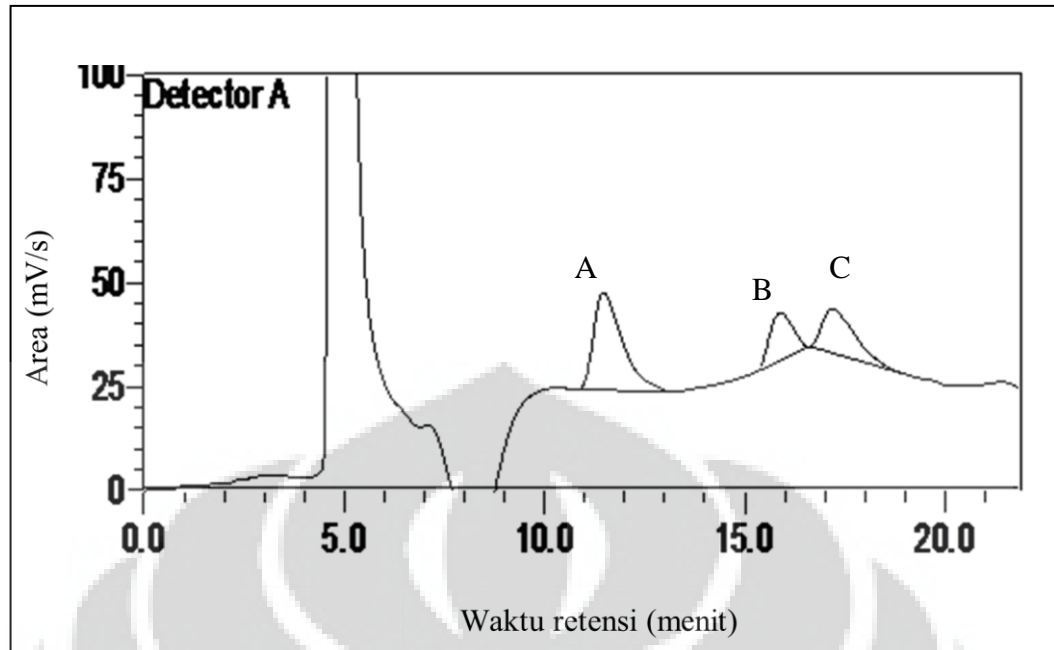
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.7 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A) dan sorbitol-manitol 10000 μ g/mL (B) dengan fase gerak asetonitril-air (90:10)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa : 10,838 menit

Waktu retensi sorbitol : 16,253 menit

Waktu retensi manitol : 17,946 menit

Kondisi analisis

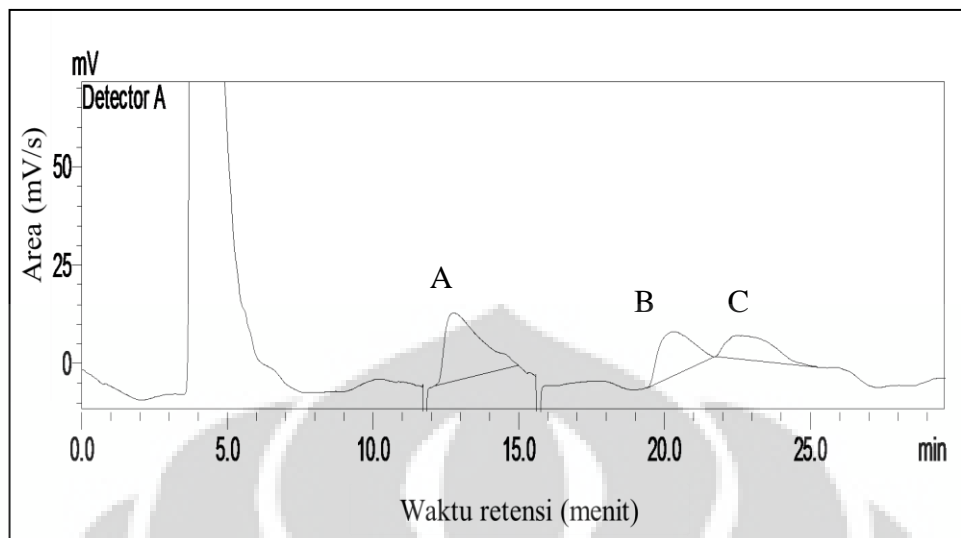
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.8 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A), sorbitol 10000 μ g/mL (B), dan manitol 10000 μ g/mL (C) dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

Waktu retensi fruktosa : 12,757 menit

Waktu retensi sorbitol : 20,308 menit

Waktu retensi manitol : 22,483 menit

Kondisi analisis

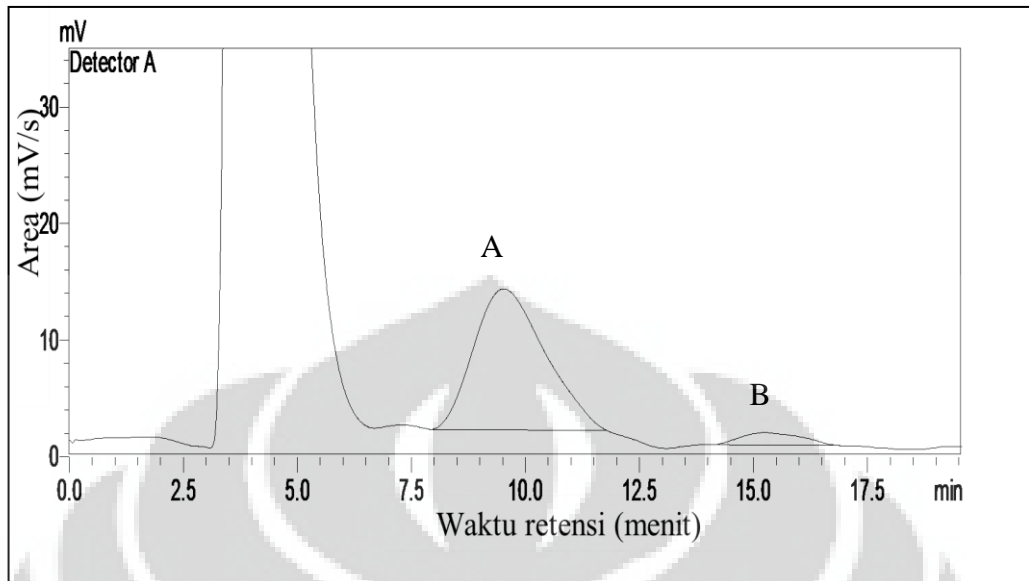
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10 μ m, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20 μ L

Gambar 4.9 Kromatogram larutan standar fruktosa 10000 μ g/mL (A), sorbitol 10000 μ g/mL (B), dan manitol 10000 μ g/mL (C) dengan fase gerak asetonitril-air (95:5)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

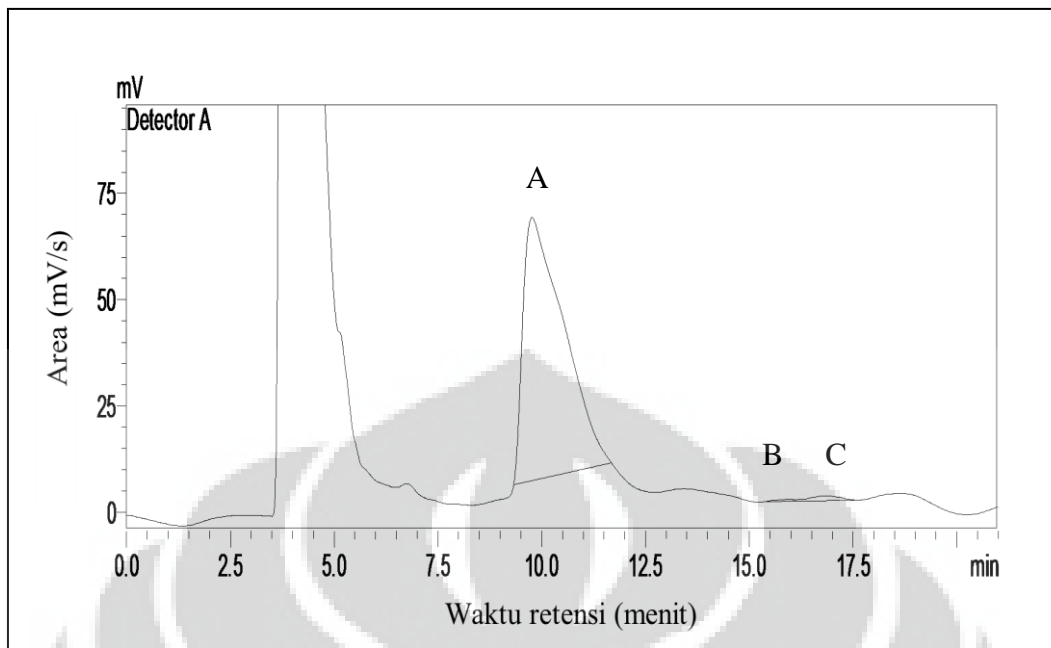
Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%
 Konsentrasi katalis : 3%
 Suhu sintesis : 80°C
 Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.10 Kromatogram larutan sampel IA dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Sorbitol

C : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 15%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

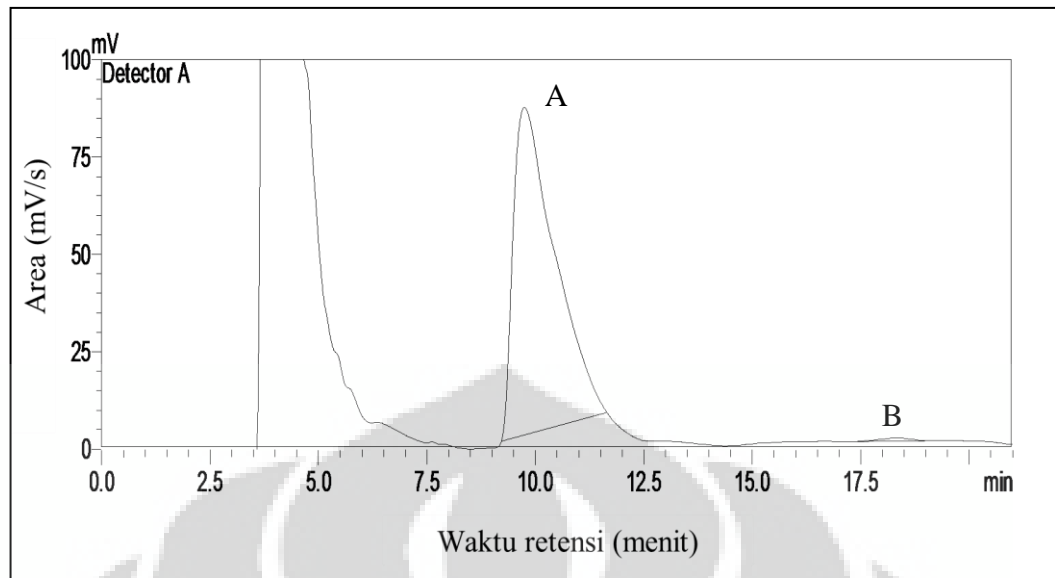
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.11 Kromatogram larutan sampel IB dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 20%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

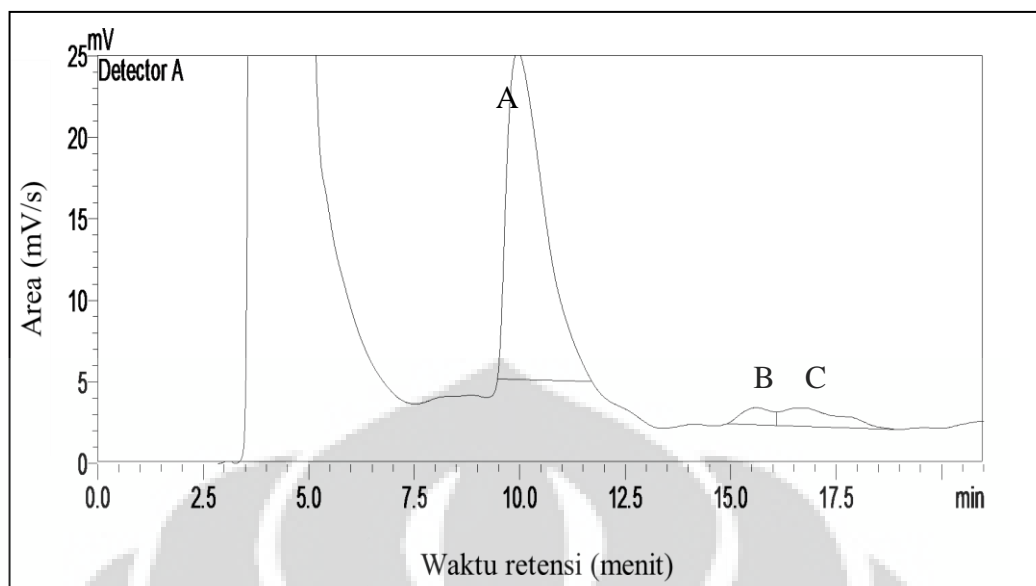
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.12 Kromatogram larutan sampel IC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : sorbitol

C : manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 5%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

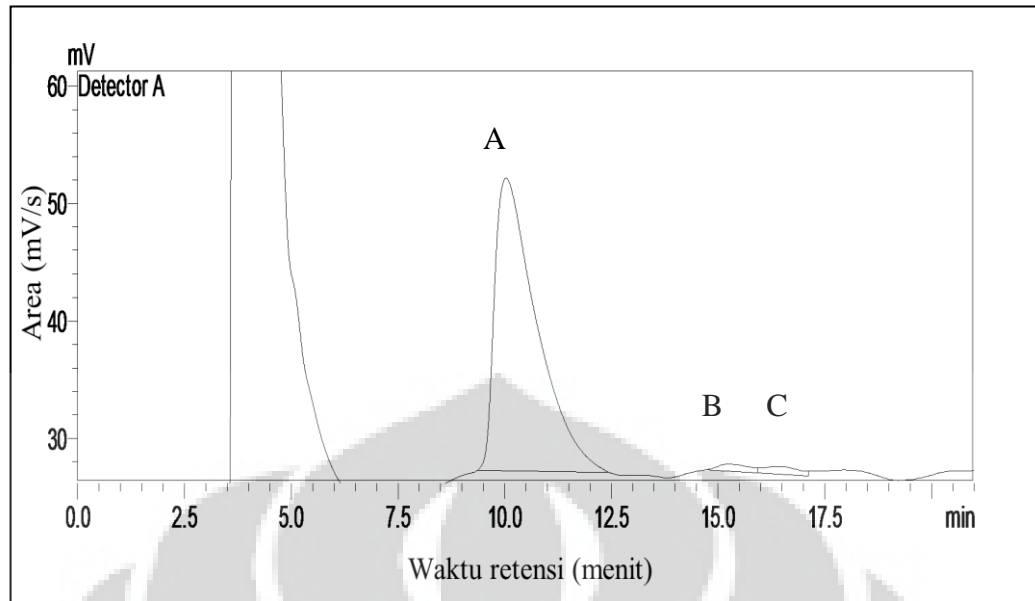
Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.13 Kromatogram larutan sampel IIB dengan fase gerak asetonitril-air

(93:7)



Keterangan:

- A : Fruktosa
 B : sorbitol
 C : manitol

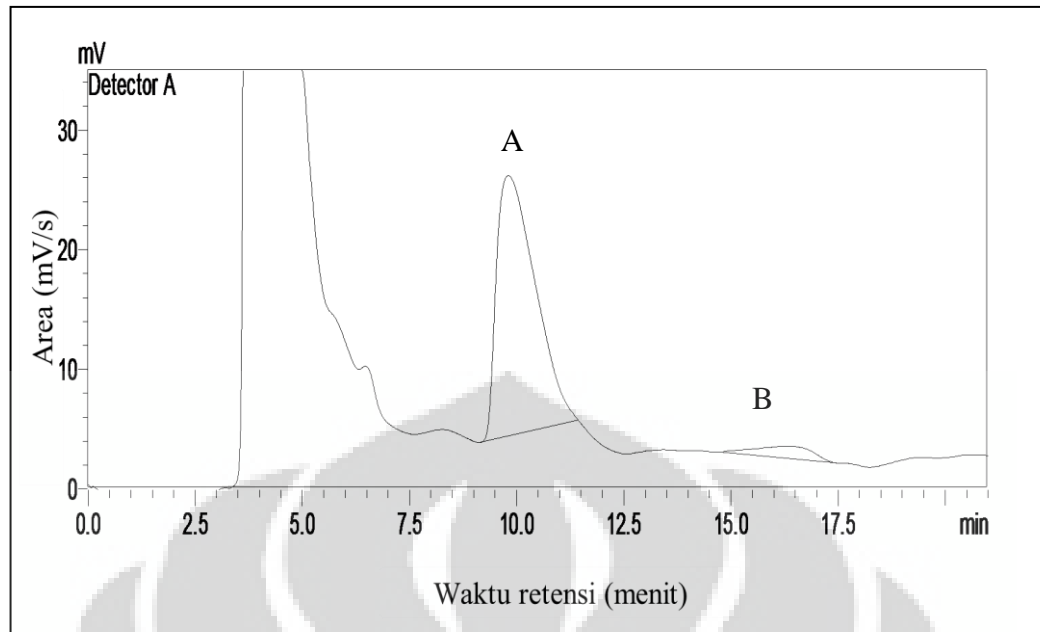
Kondisi sintesis

- Konsentrasi fruktosa : 10%
 Konsentrasi katalis : 7%
 Suhu sintesis : 80°C
 Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

- Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm
 Laju alir : 1,0 mL/menit
 Detektor : indeks bias
 Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.14 Kromatogram larutan sampel IIC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 60°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

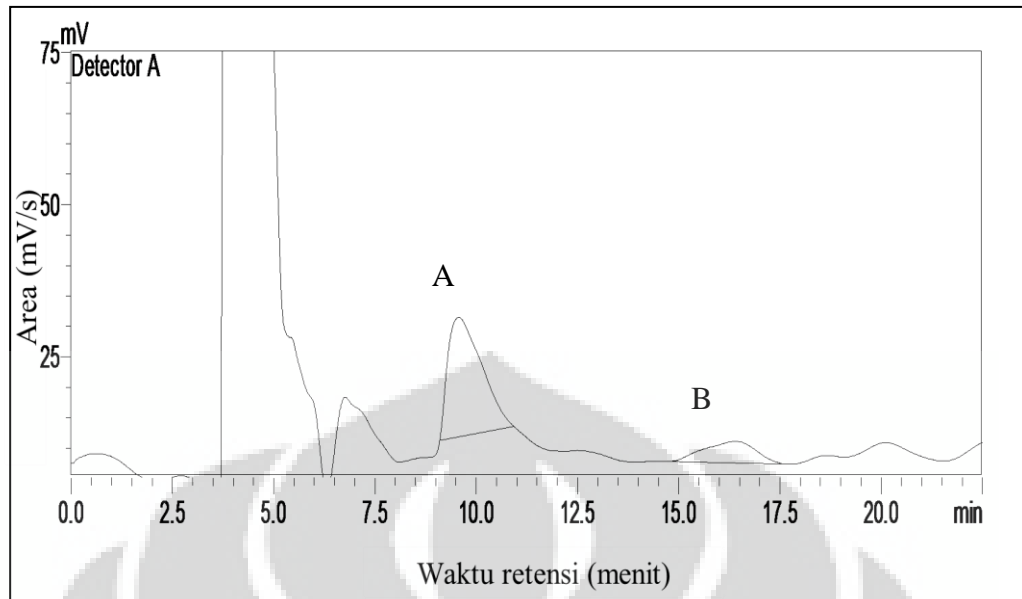
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.15 Kromatogram larutan sampel IIIA dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 100°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

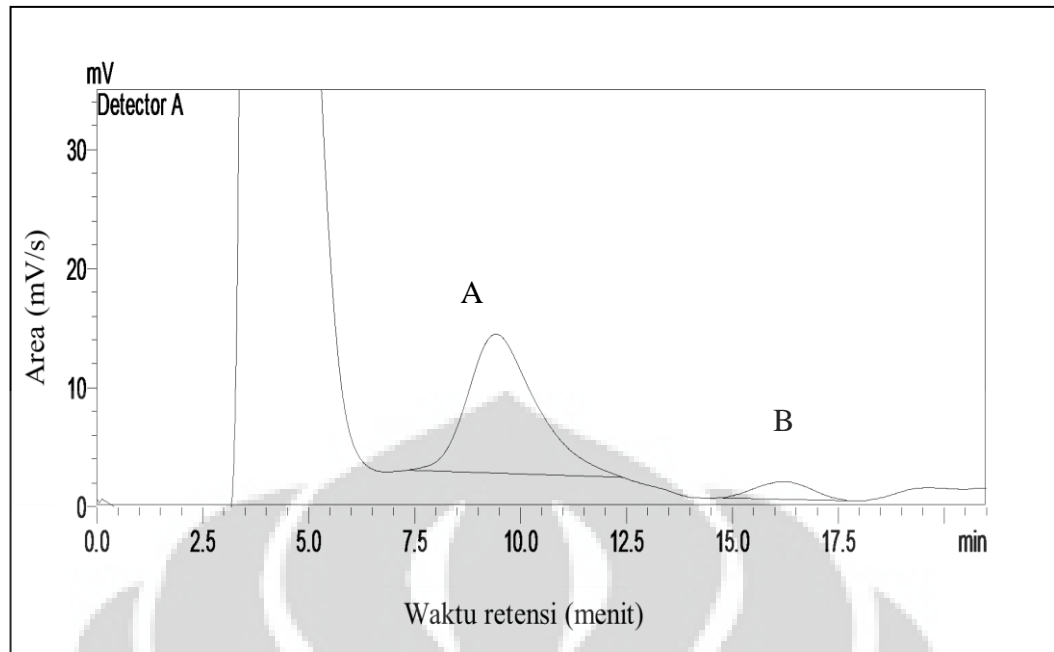
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.16 Kromatogram larutan sampel IIIC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 120°C

Waktu sintesis : 60 menit

Kondisi analisis

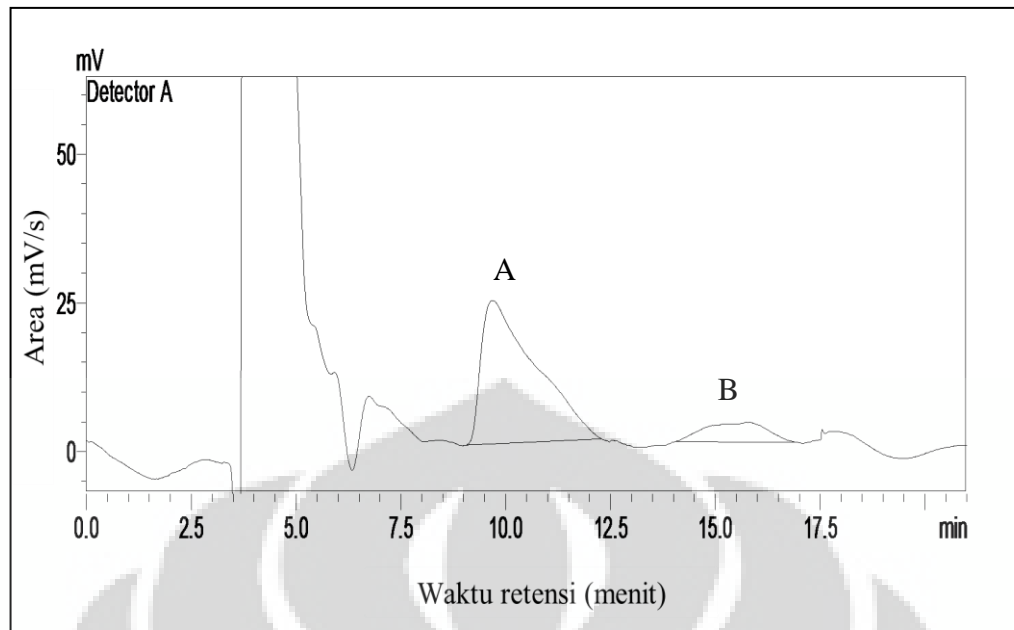
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.17 Kromatogram larutan sampel IIID dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 40 menit

Kondisi analisis

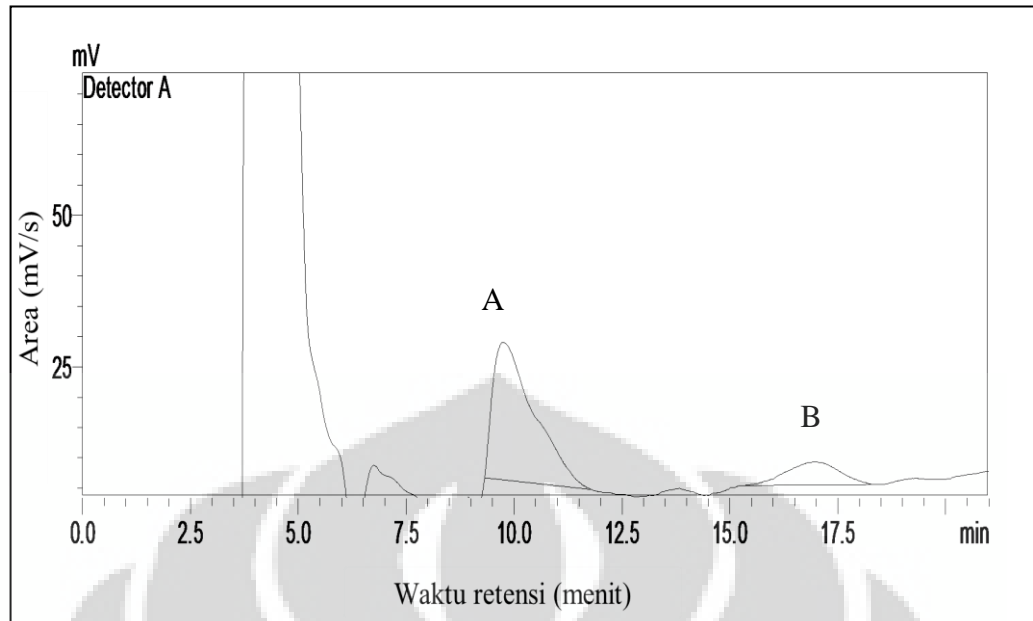
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.18 Kromatogram larutan sampel IVA dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 80 menit

Kondisi analisis

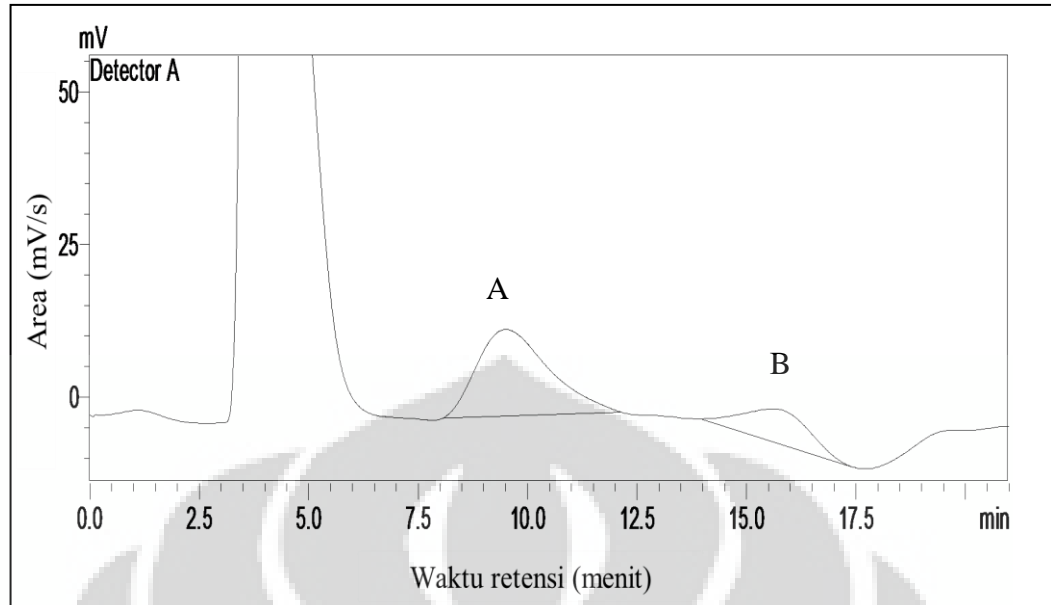
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.19 Kromatogram larutan sampel IVC dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 3%

Suhu sintesis : 80°C

Waktu sintesis : 100 menit

Kondisi analisis

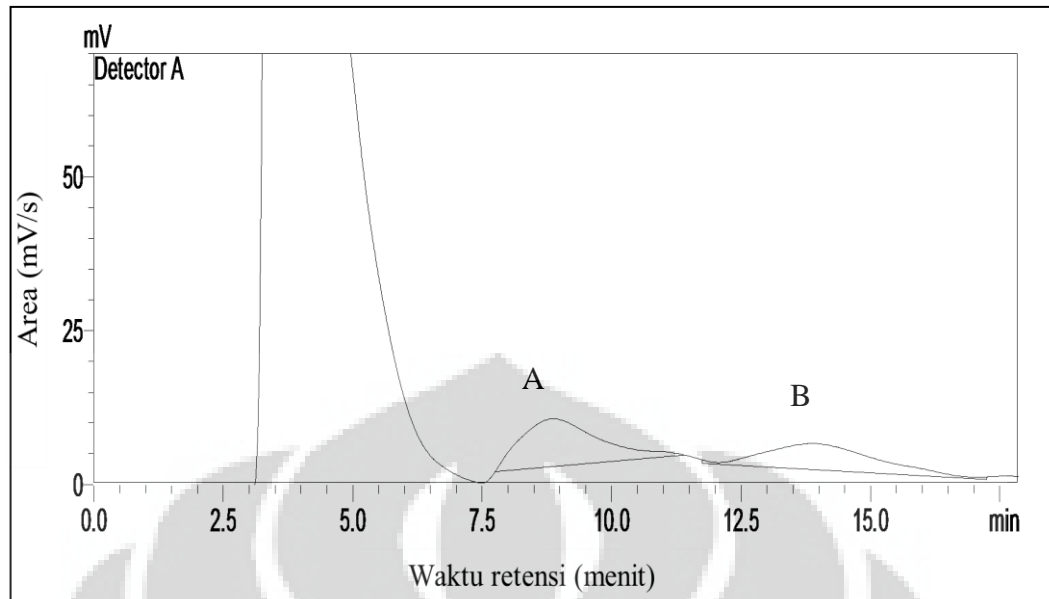
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.20 Kromatogram larutan sampel IVD dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

A : Fruktosa

B : Manitol

Kondisi sintesis

Konsentrasi fruktosa : 10%

Konsentrasi katalis : 5%

Suhu sintesis : 100°C

Waktu sintesis : 100 menit

Kondisi analisis

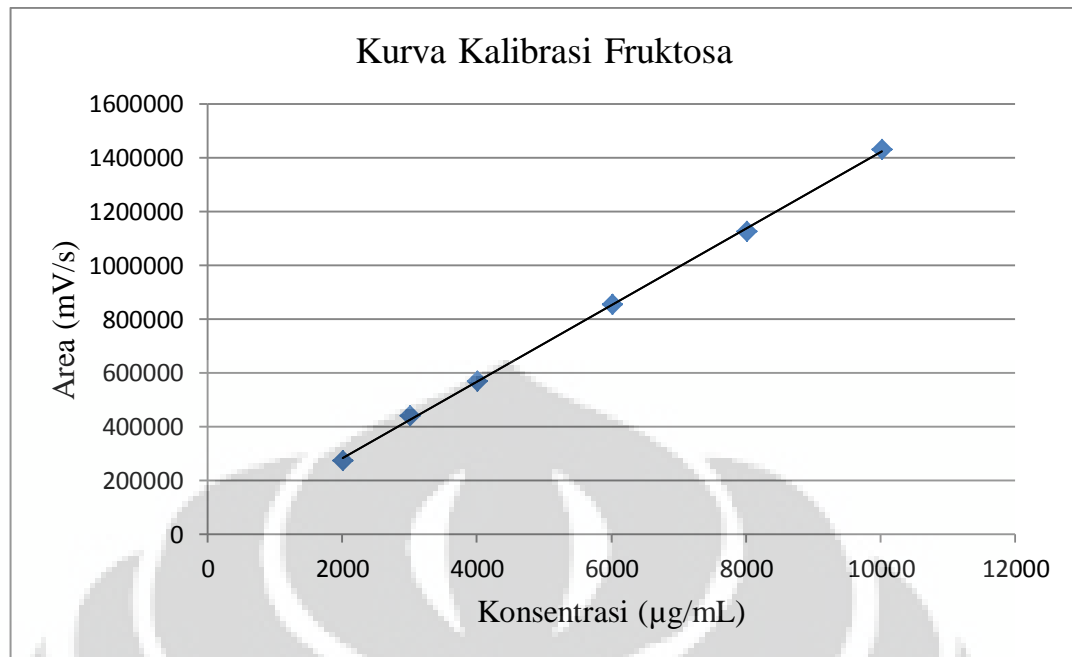
Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.21 Kromatogram larutan sampel pada kondisi optimum dengan fase gerak asetonitril-air (93:7)



Keterangan:

Persamaan kurva kalibrasi: $y = 142,26x - 320,60$

Koefisien korelasi: $r = 0,9997$

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

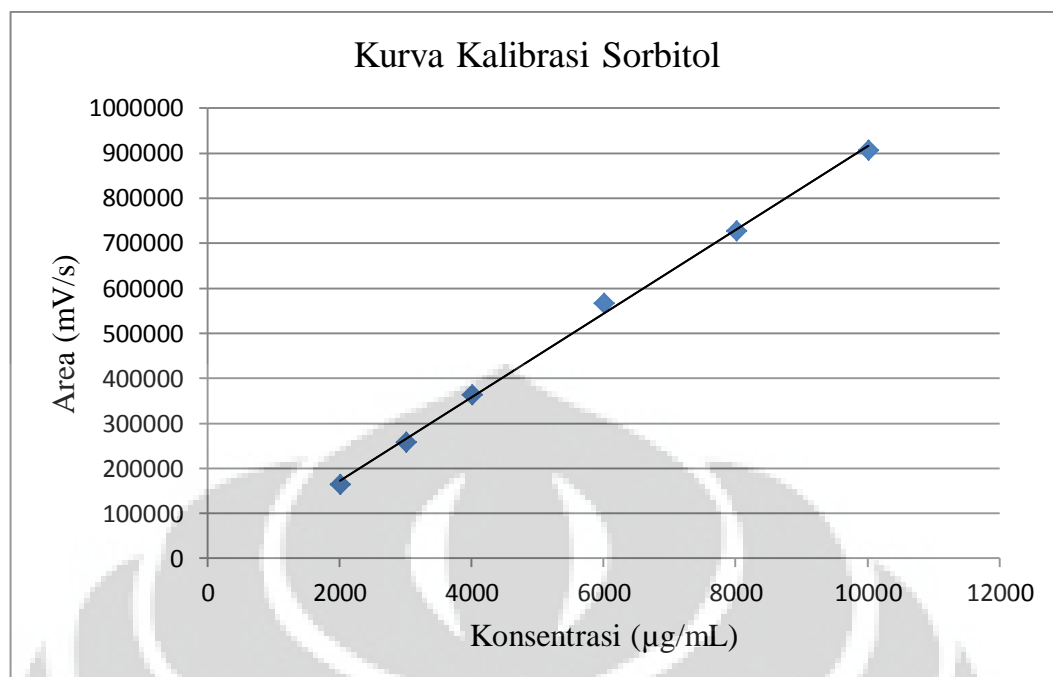
Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.22 Kurva kalibrasi fruktosa



Keterangan:

Persamaan kurva kalibrasi: $y = 92,89x - 13631,23$

Koefisien korelasi: $r = 0,9990$

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

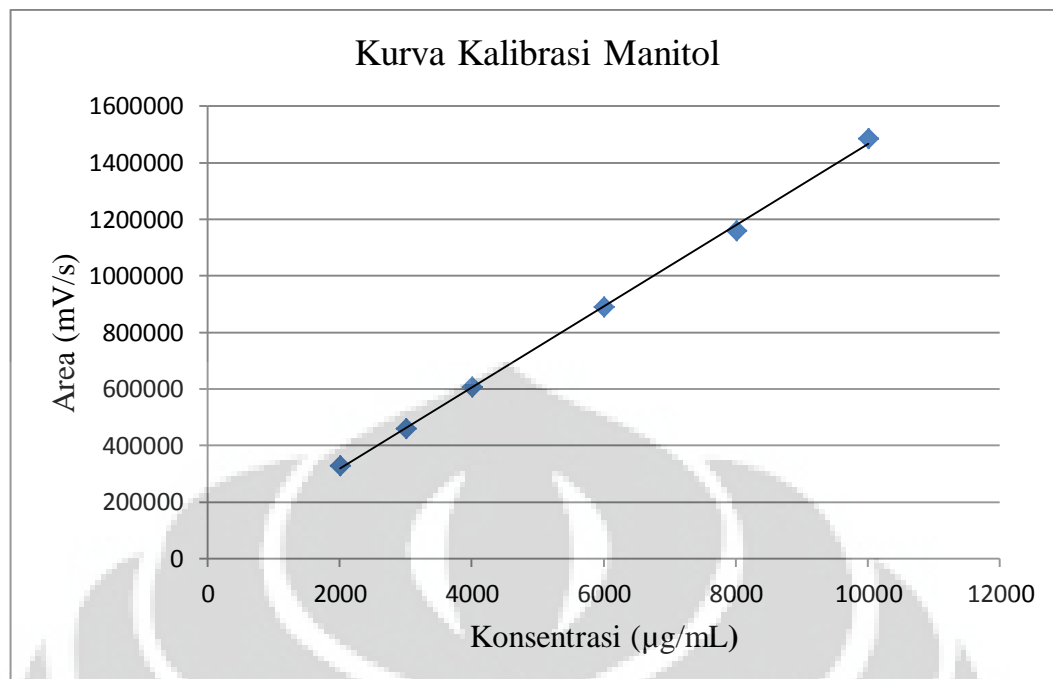
Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)

Laju alir : 1,0 mL/menit

Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

Gambar 4.23 Kurva kalibrasi sorbitol



Keterangan:

Persamaan kurva kalibrasi: $y = 143,22x + 32873,50$

Koefisien korelasi: $r = 0,9995$

Kondisi analisis

Kolom : Waters® carbohydrate analysis 10µm, 300 x 3,9 mm

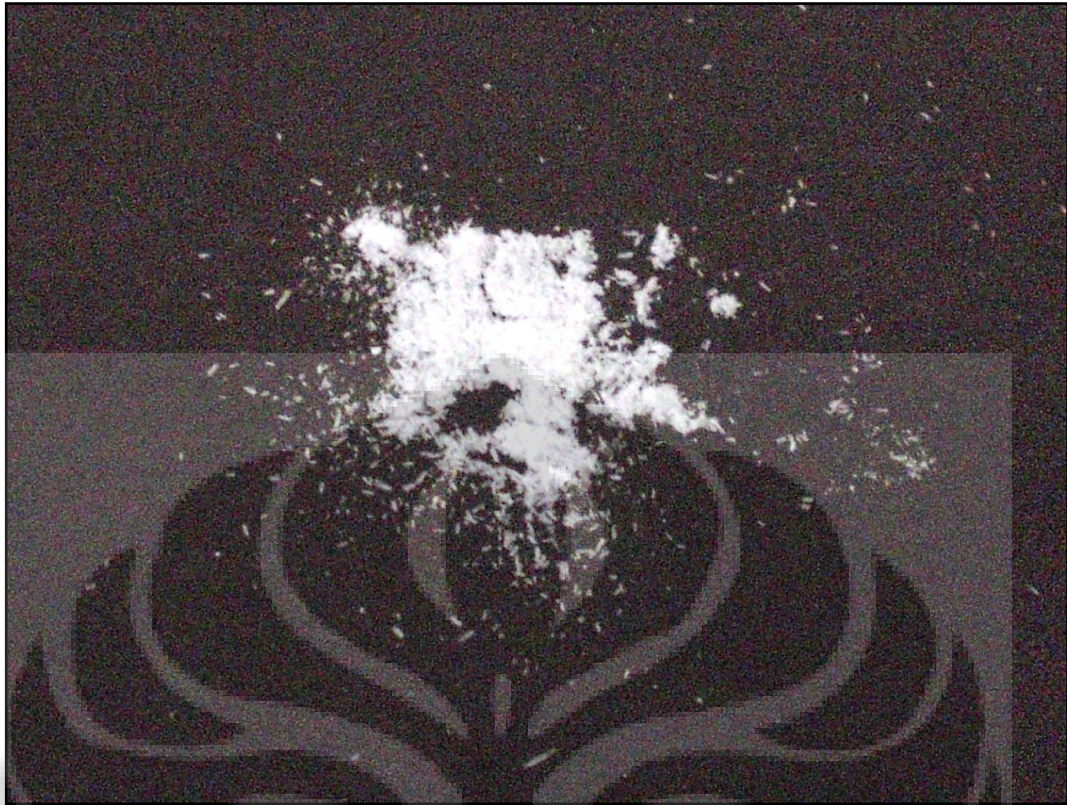
Fase gerak : Asetonitril-air (93:7)

Laju alir : 1,0 mL/menit

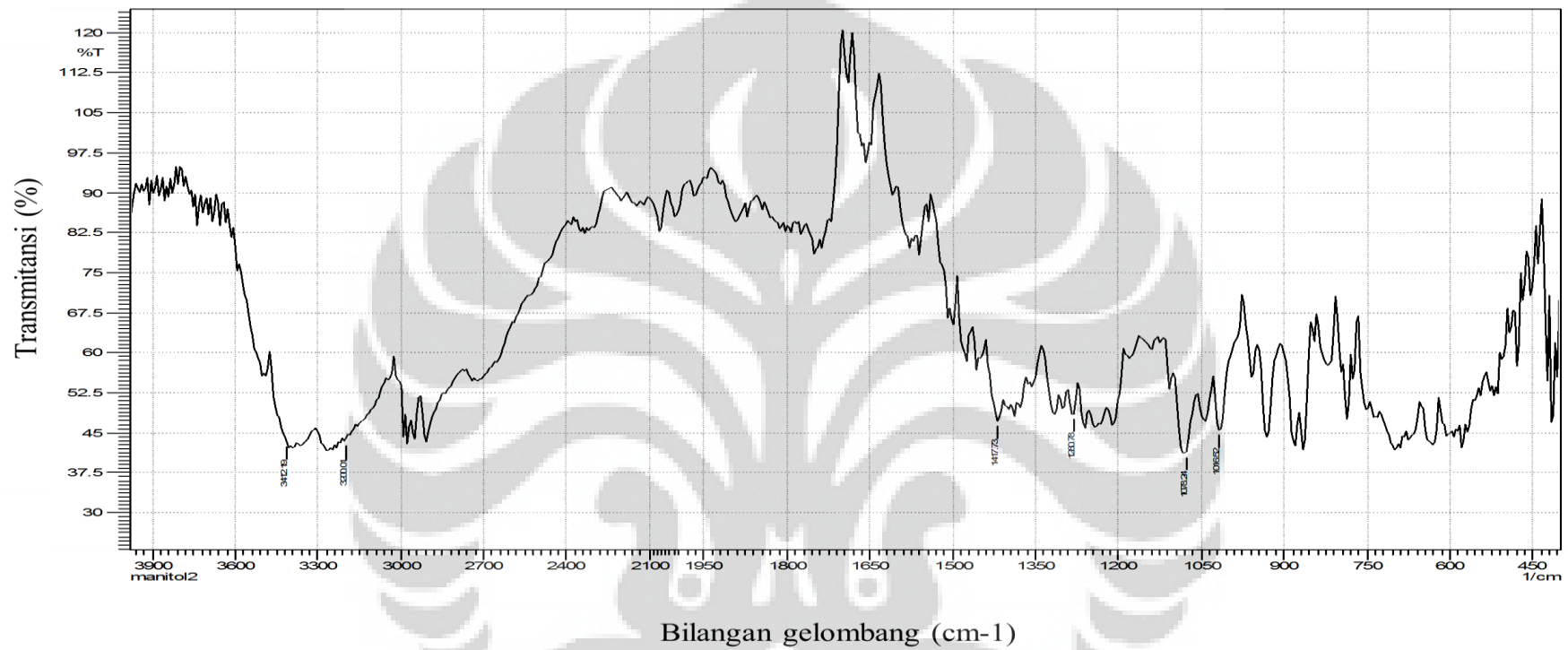
Detektor : indeks bias

Volume penyuntikan : 20µL

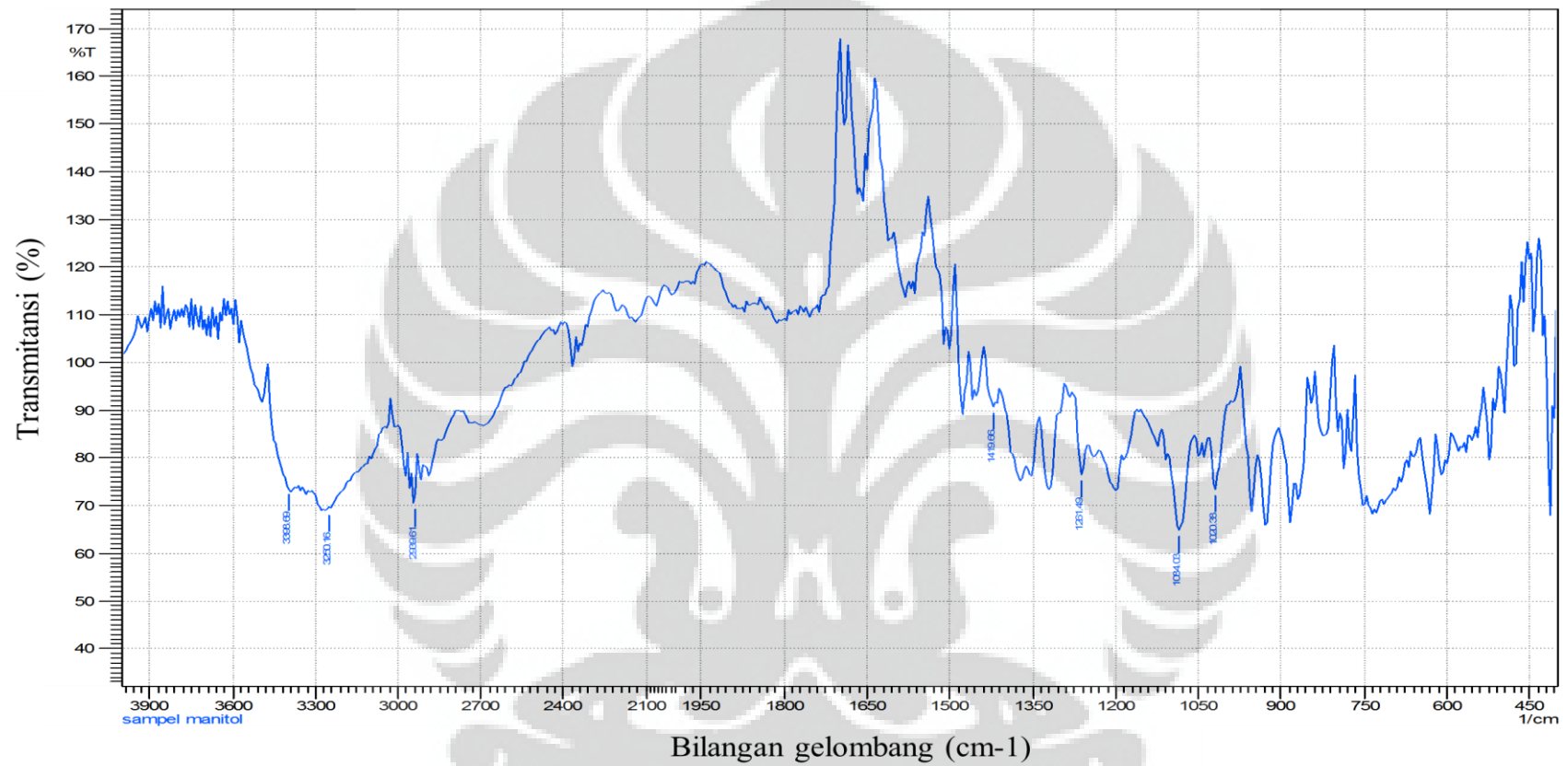
Gambar 4.24 Kurva kalibrasi manitol



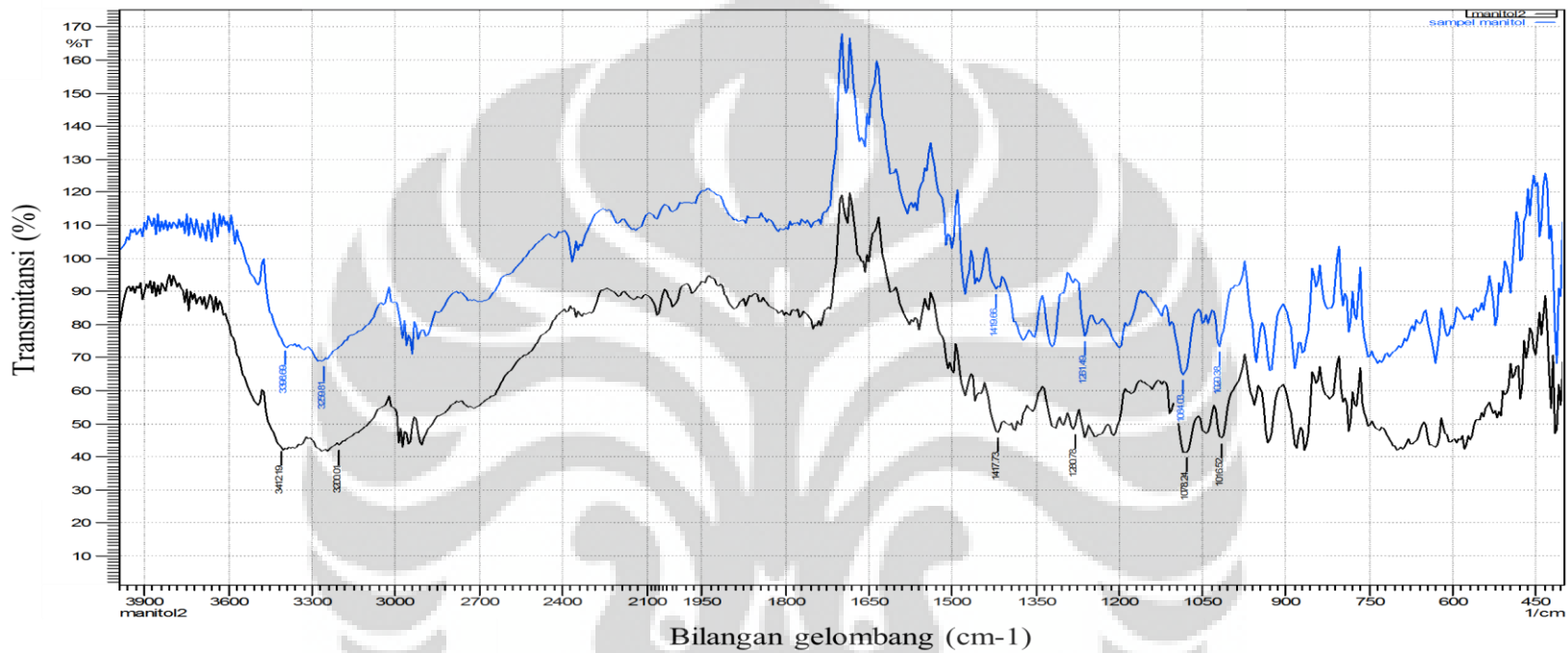
Gambar 4.25 Kristal manitol hasil sintesis



Gambar 4.26 Spektrum serapan infra merah standar manitol dalam kalium bromida



Gambar 4.27 Spektrum serapan infra merah senyawa hasil sintesis dalam kalium bromida



Keterangan:

█: Senyawa hasil sintesis

█: standar manitol

Gambar 4.28 Tumpang tindih (*overlay*) spektrum serapan inframerah senyawa hasil sintesis dan standar manitol

Lampiran I
Cara memperoleh efisiensi kolom

Jumlah plat teoritis:

$$N = 16 \left(\frac{tR}{w} \right)^2 \quad (4.1)$$

Height Equivalent to A Theoretical Plate;

$$\text{HETP} = \frac{L}{N} \quad (4.2)$$

Faktor ikutan:

$$Tf = \frac{W_{0,05}}{2f} \quad (4.3)$$

Keterangan

N : jumlah plat teoritis

HETP : panjang lempeng teoritik

tR : waktu retensi

W : lebar puncak

L : panjang kolom

$W_{0,05}$: perbandingan antara jarak tepi muka sampai tepi belakang puncak diukur pada titik yang ketinggiannya 5% dari tinggi puncak di atas garis dasar

f : jarak dari maksimum puncak sampai tepi muka puncak diukur pada titik yang ketinggiannya 5% dari tinggi puncak di atas garis dasar

Lampiran 2
Cara memperoleh resolusi

Resolusi atau daya pisah;

$$R = 2 \frac{(tR2-tR1)}{W1+W2} \quad (4.4)$$

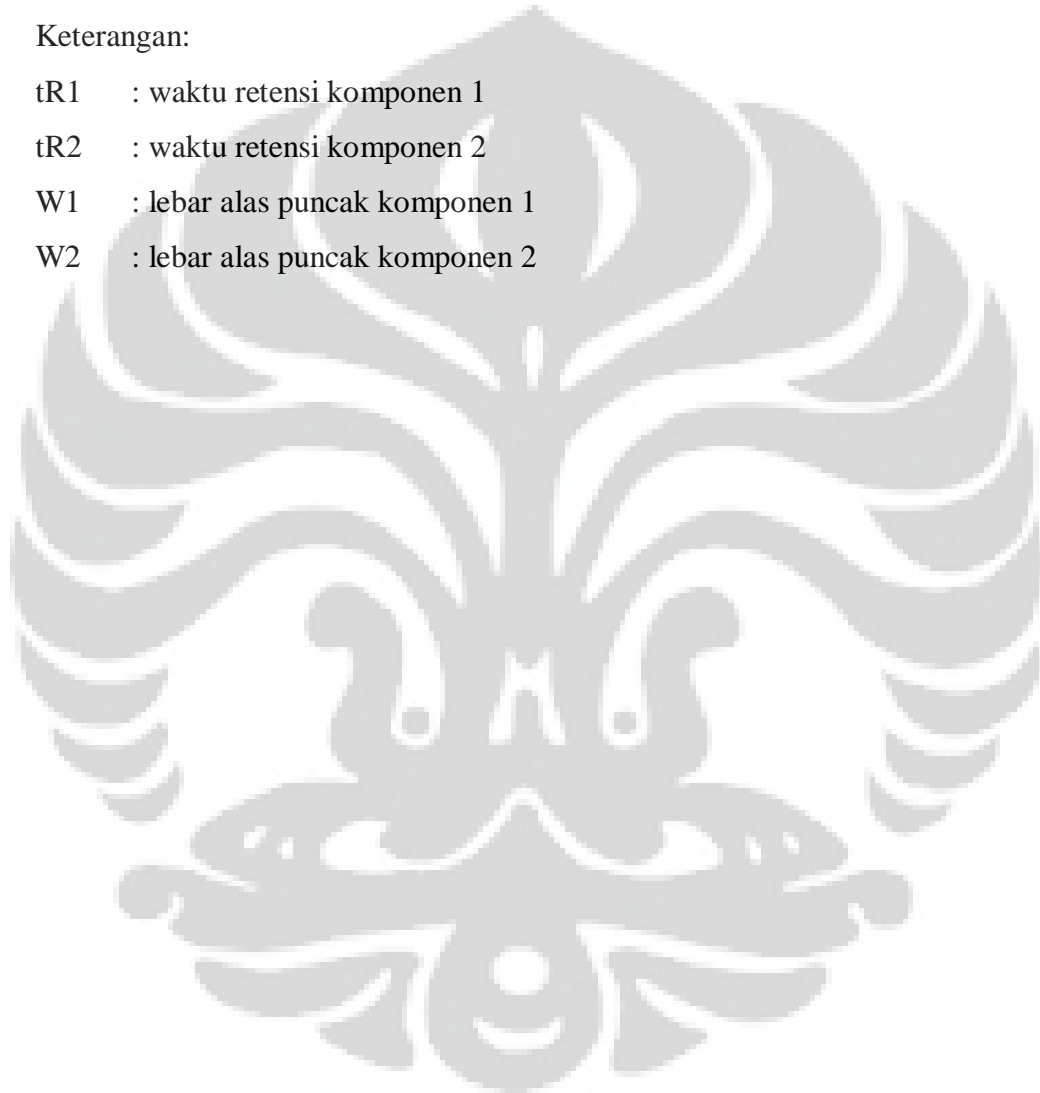
Keterangan:

tR1 : waktu retensi komponen 1

tR2 : waktu retensi komponen 2

W1 : lebar alas puncak komponen 1

W2 : lebar alas puncak komponen 2



Lampiran 3

Cara memperoleh regresi linier untuk mendapatkan persamaan kurva kalibrasi

Persamaan garis $y = a + bx$

Untuk memperoleh nilai a dan b digunakan metode kuadrat terkecil (*least square*)

$$a = \frac{(\sum yi)(\sum xi^2) - (\sum xi)(\sum xi.yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2} \quad (4.5)$$

$$b = \frac{N(\sum xi.yi) - (\sum xi)(\sum yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2} \quad (4.6)$$

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{[N(\sum x^2) - (\sum x)^2 \times N(\sum y^2) - (\sum y)^2]^{1/2}} \quad (4.7)$$

Lampiran 4
Cara perhitungan uji akurasi

Persen perolehan kembali:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{B}{A} \times 100\% \quad (4.8)$$

Keterangan:

A = Konsentrasi sampel yang ditimbang

B = Konsentrasi hasil penyuntikan



Lampiran 5
Cara perhitungan koefisien variasi

Rata – rata

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n} \quad (4.9)$$

Simpangan Deviasi

$$SD = \left(\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right)^{1/2} \quad (4.10)$$

Koefisien variasi

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (4.11)$$

Lampiran 6

Cara perhitungan kadar senyawa hasil sintesis

$$\text{Manitol yang dihasilkan} = \frac{C_m}{C_{fo}} \times 100\% \quad (4.12)$$

$$\text{Sorbitol yang dihasilkan} = \frac{C_s}{C_{fo}} \times 100\% \quad (4.13)$$

$$\text{Fruktosa yang bereaksi} = \frac{C_{fi} - C_{fo}}{C_{fi}} \times 100\% \quad (4.14)$$

Keterangan:


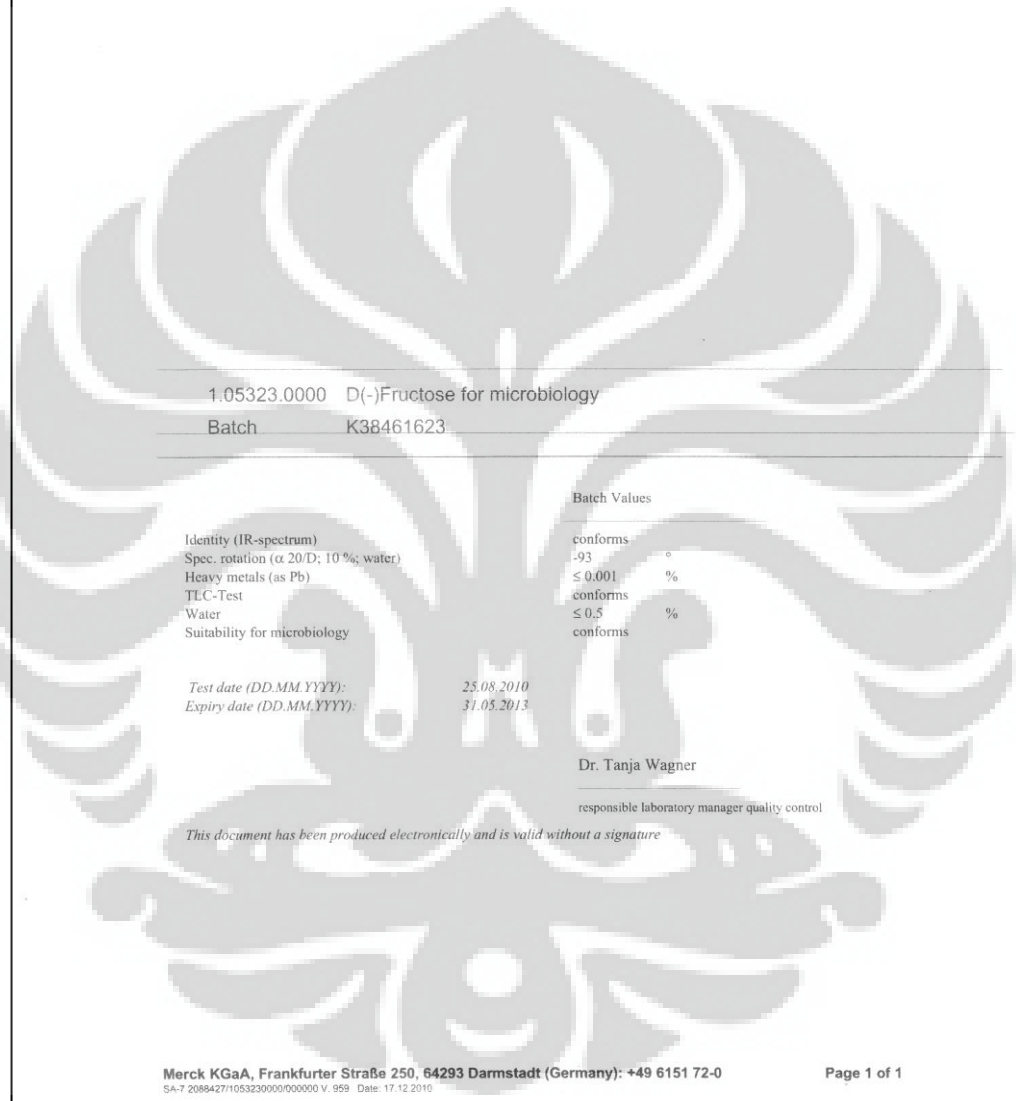
C_{fi} : konsentrasi fruktosa yang digunakan

C_{fo} : konsentrasi fruktosa dalam produk

C_m : konsentrasi mainitol dalam produk

C_s : konsentrasi sorbitol dalam produk

Lampiran 7
Sertifikat analisis fruktosa

Certificate of Analysis			
			
1.05323.0000	D(-)Fructose for microbiology		
Batch	K38461623		
Identity (IR-spectrum) Spec. rotation (α 20/D: 10%; water) Heavy metals (as Pb) TLC-Test Water Suitability for microbiology		Batch Values conforms -93 ° ≤ 0.001 % conforms $\leq 0,5$ % conforms	
Test date (DD.MM.YYYY):	25.08.2010		
Expiry date (DD.MM.YYYY):	31.05.2013		
		Dr. Tanja Wagner	
		responsible laboratory manager quality control	
<i>This document has been produced electronically and is valid without a signature</i>			
Merck KGaA, Frankfurter StraÙe 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0			Page 1 of 1
<small>SA-7 2088427/105323000/000000 V. 959 Date: 17.12.2010</small>			

Lampiran 8
Sertifikat analisis manitol

QUALITY CONTROL PT. DANKOS FARMA		CATATAN PENGUJIAN BAHAN BAKU <input checked="" type="checkbox"/> DANKOS <input type="checkbox"/> :									
NAMA BAHAN BAKU : MANNITOL NO. GIA : K2618 BN / ED : H361110050 / 10'2014		NO. QC : 00952T11 TGL. ANALISA : 27-12-11 NO. MA : TB - M2c INSPEKTOR : Amir									
HASIL ANALISA		SPESIFIKASI									
Pemerian : Serbuk hablur mengalir bebas, putih, tidak berbau, berasa manis		Serkbuk hablur atau granul mengalir bebas ; putih ; tidak berbau ; rasa manis									
Kelarutan : Memenuhi		dalam air : mudah larut dalam larutan basa : larut dalam piridina : sukar larut dalam etanol : sangat sukar larut dalam eter : praktis tidak larut									
Identifikasi : Memenuhi		A. Serapan Inframerah : grafik (C) ~ (P) B. Ditambah FeCl ₃ dan NaOH terbentuk endapan kuning, kocok → larutan jernih. Ditambah NaOH → tidak terbentuk endapan.									
Jarak Lebur : 164,2 - 164,9° C		164° C - 169° C									
Rotasi Jenis : +140,96°		(+) 137° - (+) 145°									
Keasaman : 0,18 ml NaOH 0,02 N		Diperlukan tidak lebih dari 0,3 ml larutan NaOH 0,02 N									
Susut Pengeringan : 0,16%		Tidak lebih dari 0,3 %									
Gula Mereduksi : Memenuhi		Hanya terbentuk sedikit sekali endapan									
Kejernihan dan Warna Larutan : Memenuhi		Jernih dan tidak berwarna (Larutan 10 % dalam air)									
Sisa Pemijaran :		Tidak lebih dari 0,1 %									
Penetapan Kadar Metoda : 10dampiri Syarat : 96,0 % - 101,5 %		Perhitungan : $\frac{(81 - c) \times 0,1051}{0,1 \times 4} = 1,822 \times 100\%$									
No.	Bobot (mg)	Pengukuran	%	No.	Bobot (mg)	Pengukuran	%	No.	Bobot (mg)	Pengukuran	%
1	80,0	7,50 mL	100,53	2	80,0	7,50	100,53	3	80,0	7,50	100,53
2	80,0	7,50 mL	100,53	4	80,0	7,50	100,53	5	80,0	7,50	100,53
Kesimpulan : Memenuhi syarat / Tidak memenuhi syarat											
Disetujui: <i>Ram 29/12/11</i>			Diperiksa: <i>W. T. 29/12/11</i>			Analisis: <i>27/12/11</i>					

F/4501A.04

Lampiran 9
Sertifikat analisis sorbitol

14AS00500
B/03/12/0053

PT. SAMATOR INTIPEROKSIDA
DIVISI SORBITOL & GLUCOSE

Certificate of Analysis

SUBJECT : SORBITOL SOLUTION 70 / 7
NO. BATCH : 7L121008 ✓
MANUF. DATE : FEBRUARY , 14, 2012 -
EXPIRY DATE : FEBRUARY , 14, 2014 ✓
CUSTOMER : PT KALBE FARMA Tbk.

NO	ANALYSES	YIELD VALUE	SPECIFICATION
1	pH (50 % aqueous solution)	6.60	5.00 - 7.00 ✓
2	Water content %	29.50	30 ± 1 ✓
3	Specific gravity at 25 °C	1.304	1.300 - 1.325 ✓
4	Refractive index at 25 °C	1.460	1.458 - 1.468 ✓
5	Conductivity μ S	0.3	5μ S max ✓
6	Residue on ignition %	0.005	0.1% max -
7	Specific rotation	17.5	16 - 22 -
8	Brix %	67.5	67 ± 0.3 -
9	Reducing sugar %	0.09	0.15% max ✓
10	Total sugar %	7.038	6.0 to 8.0 % -
11	Total solid %	70.50	70 ± 1 -
12	Sorbitol content %	82.19	80 to 85% -
13	Mannitol content %	2.51	8 % max -
14	Chloride ppm	19.762	50 ppm max -
15	Arsenic ppm	0	1 ppm max -
16	Heavy metals as Pb ppm	<0.5	0.5 ppm max ✓
17	Nickel ppm	<1	1 ppm max -
18	Iron ppm	0	1 ppm max -
19	Sulphate ppm	0	10 ppm max -
20	Odour	negatif	negatif -
21	Total Plate Count col / ml	<10	100 col / ml max -
22	Moulds col / ml	<10	10 col / ml max -

Gresik, March, 06, 2012
LAB & QC DEPARTMENT

HEAD OFFICE : 8th Floor, Graha Pangeran Building, Jl. Jend. A Yani No. 286, Surabaya 60234, Indonesia
Phone : (031) 8262727, Fax : (031) 8292709
FACTORY : Kawasan Industri Gresik, Jl. KIG Raya Utara Blok K Kav. 12, 20, Gresik, Indonesia
Phone : (031) 3950911, 12, Fax : (031) 3960910