



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS MINYAK LEMAK YANG TERDAPAT PADA
PRODUK OBAT GOSOK**

SKRIPSI

**CYNTIANI
0806398045**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS MINYAK LEMAK YANG TERDAPAT PADA
PRODUK OBAT GOSOK**

SKRIPSI

**CYNTIANI
0806398045**

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JUNI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS MINYAK LEMAK YANG TERDAPAT PADA
PRODUK OBAT GOSOK**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**CYNTIANI
0806398045**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**

ii

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.

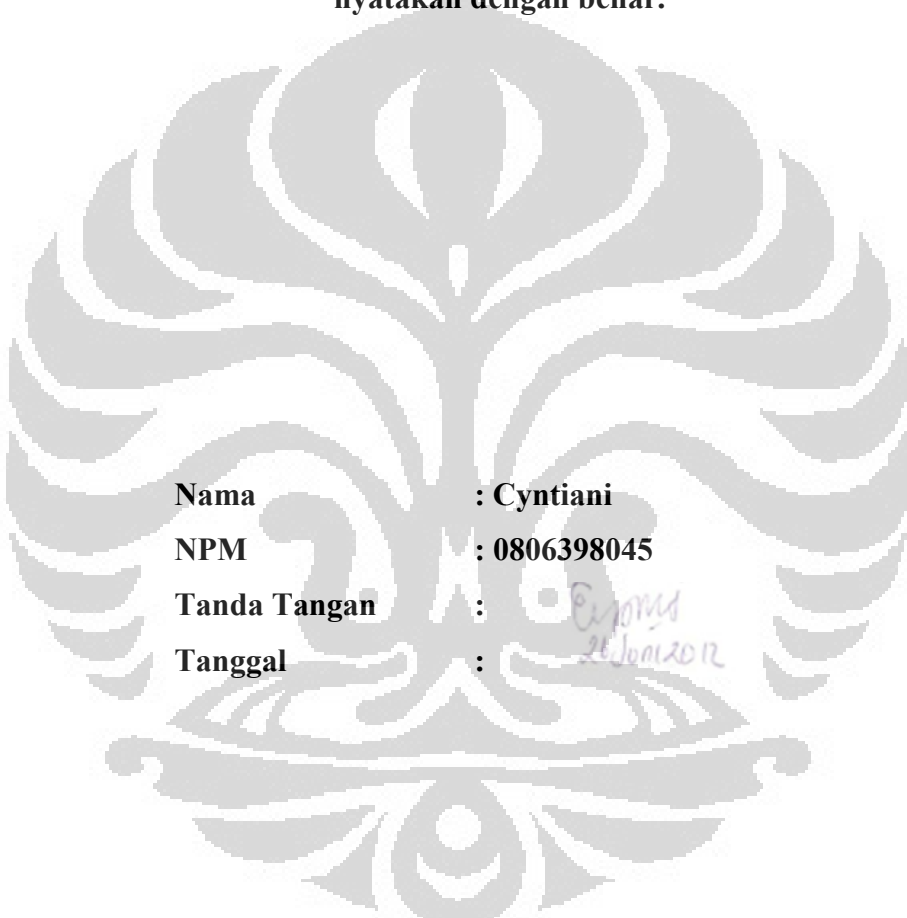
Depok, 26 Juni 2012




Cyntiani

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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



Nama : Cyntiani
NPM : 0806398045
Tanda Tangan : 
Tanggal : 26 Juni 2012

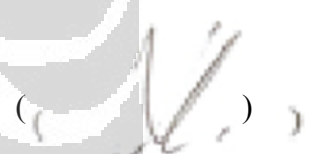



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Cyntiani
NPM : 0806398045
Program Studi : Farmasi Paralel
Judul Skripsi : Analisis Minyak Lemak yang Terdapat pada Produk
Obat Gosok

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Harmita., Apt., ()
Pembimbing II : Dr. Herman Suryadi, MS., Apt., ()
Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., ()
Penguji II : DR. Nelly Dhevita Leswara, M.Sc., Apt., ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6-7-2012

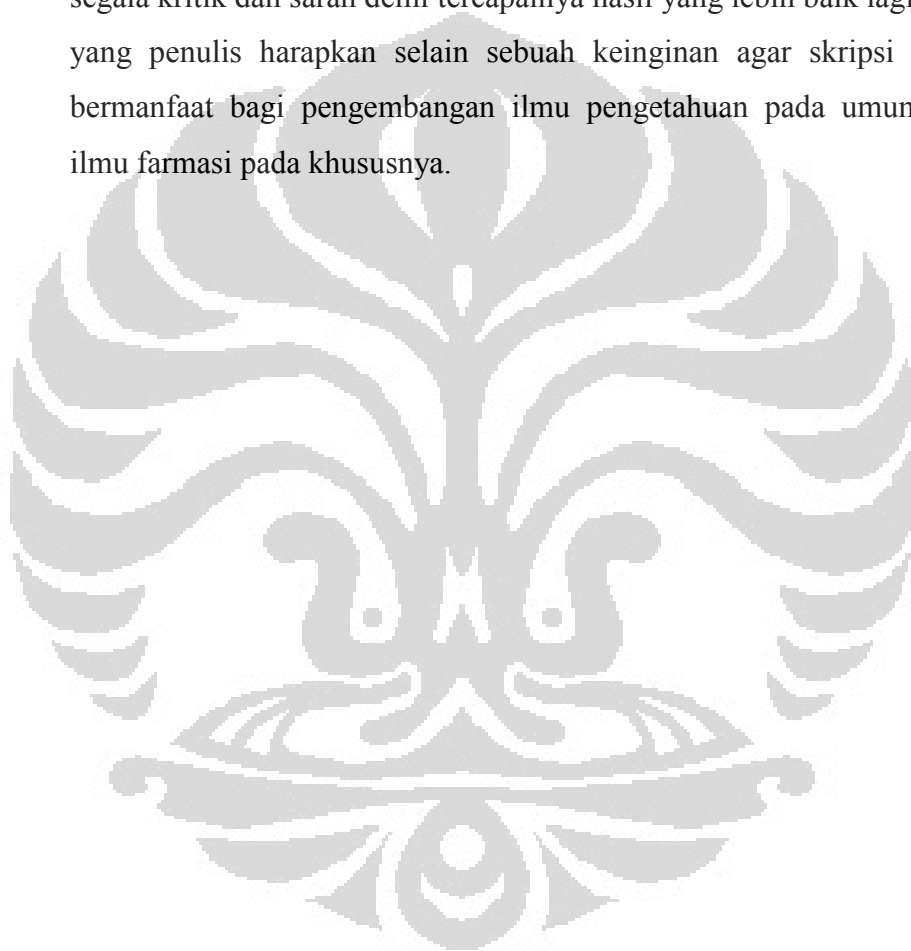
KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan nikmat, rahmat dan karunia-Nya yang mustahil dapat terhitung sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini tepat waktu. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., sebagai Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini..
2. Dr. Harmita, Apt., selaku pembimbing I atas kesabarannya dalam membimbing penulis, memberikan petunjuk dan memberikan saran selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
3. Dr. Herman Suryadi, MS., Apt., selaku pembimbing II atas berbagai saran yang membuat penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Dr. Berna Elya, M.Si., Apt., selaku pembimbing akademik atas berbagai masukan dan saran selama menempuh pendidikan di departemen Farmasi UI.
5. Drs. Hayun, M.Si., Apt., selaku Ketua Laboratorium Analisis Kimia Kuantitatif, serta Mbak Lia selaku Laboran Laboratorium Analisis Kimia Kuantitatif atas segala kesempatan dan bantuan yang telah diberikan selama penulis melakukan penelitian.
6. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini.
7. Keluarga yang telah membesarkan penulis
8. Kak Liane Cynthia Carolina Lie dan Kak Lista Rina atas segala saran dan bantuannya selama penelitian
9. Citra, Nurul, Wenny, Evelina, Editha, Samira, Endang, Rahman, Rionaldo, Yogo yang telah memberikan dukungan.
10. Keluarga kecil di farmasi yang selalu menyemangati penulis
11. Rekan-rekan mahasiswa farmasi paralel UI 2008 atas kerjasama yang terbina indah selama ini.

12. Seluruh laboran dan karyawan Dept. Farmasi FMIPA UI atas waktu dan bantuannya, terutama selama proses penelitian.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis akan senang hati menerima segala kritik dan saran demi tercapainya hasil yang lebih baik lagi. Tak ada yang penulis harapkan selain sebuah keinginan agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.



Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Cyntiani
NPM : 0806398045
Program Studi : Farmasi Paralel
Fakultas : Farmasi
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 :

Analisis Minyak Lemak yang Terdapat pada Produk Obat Gosok

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, 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 : 26 Juni 2012

Yang menyatakan



(Cyntiani)

ABSTRAK

Nama : Cyntiani
Program Studi : Farmasi
Judul : Analisis Minyak Lemak yang Terdapat pada Produk Obat Gosok

Asam lemak adalah salah satu komponen penyusun minyak lemak. Komposisi asam lemak dalam minyak lemak berbeda satu dengan yang lain. Analisis dengan kromatografi gas secara langsung akan membutuhkan waktu analisis yang lama karena titik didih asam lemak yang sangat tinggi sehingga perlu dilakukan derivatisasi sebelum dianalisis. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kondisi analisis optimum asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat agar diperoleh metode yang valid yang selanjutnya digunakan untuk menetapkan kadar minyak lemak dalam produk obat gosok. Derivatisasi dilakukan dengan metode esterifikasi Lepage menggunakan reagen metanol-toluen 4:1 (v/v) dan katalis asetil klorida. Analisis dilakukan menggunakan kromatografi gas dengan kolom VB-wax (60 m x 0,32 mm), suhu kolom terprogram 170-190⁰C, kenaikan 2⁰C/menit dan dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor dan suhu detektor masing-masing 230 dan 250⁰ C; laju alir gas helium 1,2 ml/menit, volume penyuntikan 1,0 µl, dan dideteksi dengan detektor ionisasi nyala. Pada kondisi optimum waktu retensi laurat termetilasi adalah 4,32 menit dengan faktor ikutan 1,36. Waktu retensi palmitat termetilasi adalah 6,723 menit, faktor ikutan 1,32. Waktu retensi oleat termetilasi adalah 9,789 menit, faktor ikutan 1,44. Metode yang diperoleh valid dengan presisi (KV) antara 0,11-0,36%, dan uji perolehan kembali 98,22-102,00%. Sampel A mengandung minyak kelapa dengan kadar rata-rata 49,95% , sampel B mengandung minyak zaitun dengan kadar rata-rata 18,99% , sampel C tidak mengandung minyak lemak.

Kata kunci: Asam Laurat, Asam Oleat, Asam Palmitat, Kromatografi Gas, Optimasi, Esterifikasi Lepage,

xv+96 halaman : 19 tabel; 22 gambar; 14 lampiran
Daftar acuan : 18 (1975-2009)

ABSTRACT

Name : Cyntiani

Program study : Pharmacy

Title : Analysis of Fatty Oils in Liniments

Fatty acid is one of the components that builds up the structure of lipid such as fat and oils. Each fatty acid composition present in lipid is different with one and another. Direct analysis performed by means of gas chromatography will require longer analysis time due to relatively high melting point of fatty acids hence derivatization is to be conducted in advance. This research was performed to achieve optimum analytical condition in order to obtain valid method which is required for subsequent determination of fatty acid contents present in liniment products. Derivatization was conducted by Lepage esterification using reagent such as methanol-toluene 4:1 (v/v) and acetyl chloride which was served as catalyst. On the other hand, the analysis process was done by gas chromatography using VB-wax column (60m x 0.32mm), the temperature of the column was set at 170⁰-190⁰C with the increase of 2⁰/C and was kept for 3 minutes. The temperature of injector and detector were 230⁰ and 250⁰C, respectively; the flow rate of helium was 1.2 ml/minute with 1.0 μ l injection volume and detected by flame ionization detector. At the optimum condition, the retention time of methylated lauric and palmitic were 4.32 minutes with tailing factor of 1.36 and 6.723 minutes with tailing factor of 1.36, respectively. Meanwhile, the retention time required for methylated oleic was 9.789 minutes tailing factor of 1.44. The acquired method was valid within precision (CV) of 0.11-0.36%, and the approximate result of recovery test was 98.22-102.00%. The average content of coconut oil in sample A was 49.95%, the average content of olive oil in sample B was 18.99 %, meanwhile sample C had no fatty oil.

Keywords: Lauric Acid, Oleic Acid, Palmitic Acid, Gas Chromatography, Optimization, Lepage Esterification
xv+96pages: 19 figures; 22 tables; 14 appendices
Bibliography: 18 (1975-2009)

DAFTAR ISI

HALAMANJUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERNTAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Oleum Cocos	3
2.2 Oleum Olivarum.....	4
2.3 Oleum Sesami.....	5
2.4 Asam Laurat.....	6
2.5 Asam Oleat.....	6
2.6 Asam Palmitat.....	7
2.7 Kromatografi Gas.....	8
2.8. Metode Esterifikasi Lepage.....	11
2.9 Validasi Metode Analisis.....	12
2.10 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Kelapa.....	15
2.11 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Zaitun.....	19
2.12 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Wijen.....	21
BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	24
3.2 Alat	24
3.3 Bahan	24
3.4 Cara Kerja.....	25

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Optimasi Kondisi Analisis.....	35
4.2 Uji Kesesuaian Sistem.....	40
4.3 Validasi Metode Analisis	40
4.4 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak dalam Minyak Lemak.....	42
4.5 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Minyak Lemak dalam Sampel	44
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	
2.1. Rumus struktur asam laurat.....	6
2.2 . Rumus struktur asam oleat.....	6
2.3. Rumus struktur asam palmitat.....	7
1. Kromatogram metil pamiat dengan konsentrasi 101,3 µg/ml.....	49
2. Kromatogram metil laurat dengan konsentrasi 100,6 µg/ml.....	50
3. Kromatogram metil oleat dengan konsentrasi 103,4 µg/ml.....	51
4. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 170 ⁰ C laju alir gas 1,2 ml/menit.....	52
5. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 160 ⁰ C laju alir gas 1,0 ml/menit	53
6. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 170 ⁰ C laju alir gas 1,0 ml/menit	54
7. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 180 ⁰ C laju alir gas 1,0 ml/menit.....	55
8. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 170 ⁰ C laju alir gas 1,2 ml/menit.....	56
9. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C) Suhu awal kolom 170 ⁰ C laju alir gas 1,4 ml/menit	57
10. Kromatogram metil laurat dan metil palmitat dalam oleum cocos.....	58
11. Kromatogram metil oleat dan metil palmitat dalam oleum olivarum.....	59
12. Kromatogram metil oleat dan metil palmitat dalam oleum sesame.....	60
13. Kromatogram metil laurat dan metil palmitat dalam sampel A.....	61
14. Kromatogram metil palmitat dan metil oleat dalam sampel B.....	62
15. Kromatogram sampel C.....	63
16.Kromatogram plasebo minyak gosok.....	64
17. Kurva kalibrasi asam laurat pada kondisi analisis.....	65
18. Kurva kalibrasi asam palmitat pada kondisi analisis.....	66
19. Kurva kalibrasi asam oleat pada kondisi analisis.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel

1. Hubungan antara waktu retensi, jumlah lempeng teoritis, efisiensi kolom, faktor ikutan, dan resolusi kromatogram laurat, palmitat, dan oleat termetilasi terhadap perubahan suhu awal kolom.....	68
2. Hubungan antara waktu retensi, jumlah lempeng teoritis, efisiensi kolom, faktor ikutan, dan resolusi kromatogram laurat, palmitat, dan oleat termetilasi terhadap perubahan laju alir gas.....	69
3. Data uji akurasi dan presisi asam laurat dalam plasebo minyak goso.....	70
4. Data uji akurasi dan presisi asam palmitat dalam plasebo minyak gosok.....	71
5. Data uji akurasi dan presisi asam oleat dalam plasebo minyak gosok.....	72
6. Data hasil perhitungan berat jenis oleum cocos.....	73
7. Data hasil perhitungan berat jenis oleum olivarum.....	73
8. Data hasil perhitungan berat jenis oleum sesame.....	73
9. Data hasil perhitungan berat jenis sampel A.....	73
10. Data hasil perhitungan berat jenis sampel B.....	74
11. Data hasil perhitungan berat jenis sampel C.....	74
12. Data uji kesesuaian sistem laurat termetilasi.....	75
13. Data uji kesesuaian sistem palmitat termetilasi.....	76
14. Data uji kesesuaian sistem oleat termetilasi.....	77
15. Data hasil penetapan kadar asam laurat dan asam palmitat dalam oleum cocos.....	78
16. Data hasil penetapan kadar asam oleat dan asam palmitat dalam oleum olivarum.....	79
17. Data hasil penetapan kadar asam oleat dan asam palmitat dalam oleum sesami.....	80
18. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Sampel Obat Gosok A.....	81
19. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Sampel Obat Gosok B.....	82

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Cara perhitungan jumlah plat teoritis, tinggi setara plat teoritis, faktor ikutan, dan resolusi.....	83
2. Cara memperoleh regresi linear.....	84
3. Cara perhitungan uji perolehan kembali.....	85
4. Cara Perhitungan Presisi.....	86
5. Cara perhitungan kadar asam lemak dalam sampel.....	87
6. Cara perhitungan kadar minyak lemak dalam sampel.....	88
7. Persyaratan obat gosok menurut BPOM.....	89
8. Komposisi sampel obat gosok.....	90
9. Reaksi esterifikasi asam laurat (a), asam palmitat (b), dan asam oleat (c).....	91
10. Sertifikat Analisis Minyak Kelapa.....	92
11. Sertifikat Analisis Asam Laurat.....	93
12. Sertifikat Analisis Asam Palmitat.....	94
13. Sertifikat Analisis Minyak Zaitun.....	95
14. Sertifikat Analisis Asam Oleat.....	96

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat gosok (linimentum) umumnya adalah sediaan cair atau kental, mengandung analgetikum dan zat yang mempunyai sifat rubefasien, melemaskan otot atau menghangatkan; digunakan sebagai obat luar. Linimentum analgetik dan linimentum yang melemaskan otot digunakan dengan cara mengoleskan pada kulit menggunakan kain flannel panas atau bahan lain yang cocok. Linimentum yang menghangatkan digunakan pada kulit dengan cara mengoleskan sambil memijat dan mengurut. Linimentum tidak digunakan untuk kulit yang luka atau lecet (Departemen Kesehatan Republik Indonesia)

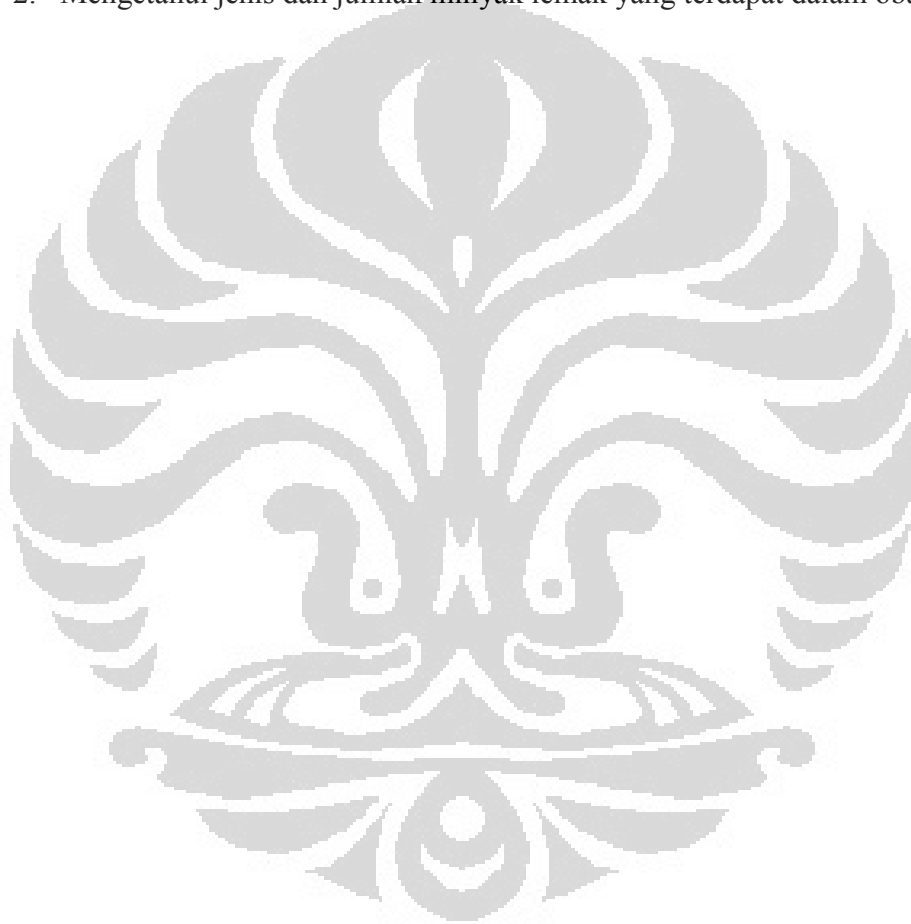
Minyak gosok merupakan salah satu obat tradisional Indonesia yang sampai saat ini masih banyak digunakan. Komposisi minyak gosok adalah minyak lemak, mentol, kamfer. Minyak lemak yang dapat digunakan antara lain minyak kelapa (oleum cocos), minyak zaitun (oleum olivae), dan minyak wijen (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian). Karena banyaknya peredaran minyak gosok yang seringkali tidak mencantumkan nama dan jumlah minyak lemak yang digunakan , maka perlu dilakukan penelitian terhadap komposisi yang terdapat di dalamnya. Pada penelitian ini dilakukan analisa terhadap asam lemak yang terdapat dalam minyak lemak. Asam lemak yang dipilih adalah asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat karena ketiga asam lemak tersebut mempunyai konsentrasi besar dibandingkan dengan asam lemak lainnya.

Komposisi asam lemak yang terdapat dalam minyak lemak berbeda satu dengan yang lain. Asam lemak dapat ditentukan kadarnya dengan menggunakan metode kromatografi gas atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Kedua metode tersebut menggunakan derivatisasi asam lemak menjadi bentuk esternya (Vera Watty, 2006). Kadar minyak lemak selama ini ditentukan berdasarkan cara titrasi dengan menentukan angka asam, angka ester, dan angka penyabunan. Cara ini sulit dilakukan jika minyak lemak berada dalam sediaan obat gosok sehingga perlu dilakukan penelitian secara kromatografi gas untuk mengetahui jenis dan jumlah minyak lemak dalam sampel obat gosok. Analisis dengan kromatografi gas memiliki banyak keuntungan, yaitu jauh lebih unggul dalam hal kecepatan, sensitivitas, selektivitas, dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap mikrosampel berupa gas, zat

padat, atau zat cair, dan dalam hal tertentu resolusi atau pemisahan yang dihasilkan lebih sempurna (McNair & Miller, 1998; Gandjar & Rohman, 2007).

1.2 Tujuan Penelitian

1. Memperoleh kondisi optimum untuk analisis asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat secara kromatografi gas dengan metode esterifikasi Lepage
2. Mengetahui jenis dan jumlah minyak lemak yang terdapat dalam obat gosok



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Oleum Cocos

Oleum cocos adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan endosperm kering *Cocos nucifera L.*

Pemerian : berupa cairan jernih tidak berwarna atau kuning pucat; bau khas; tidak tengik.

Kelarutan : larut dalam 2 bagian etanol (95%) P pada suhu 60° C, sangat mudah larut dalam kloroform P dan dalam eter P

Suhu lebur : 23° C – 26° C

Massa jenis : 0,903 gr/ml

Indeks bias : 1,448 sampai 1,450 ; penetapan dilakukan pada suhu 40°C

Khasiat dan penggunaan : zat tambahan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia)

Komposisi asam lemak (Richard D. O'Brien, 2009)

Jumlah atom C : jumlah ikatan rangkap	Jenis asam lemak	Standar (%)
C-6 : 0	Asam kaproat	0,4 – 0,6
C-8 : 0	Asam kaprilat	6,9 – 9,4
C-10 : 0	Asam kaprik	6,2 – 7,8
C-12 : 0	Asam laurat	45,9 – 65
C-14 : 0	Asam miristat	16,8 – 19,2
C-16 : 0	Asam palmitat	7,7 – 9,7
C-18 : 0	Asam stearat	2,3 – 3,2
C-18 : 1	Asam oleat	5,4 – 7,4
C-18 : 2	Asam linoleat	1,3 – 2,1
C-20 : 0	Asam arakidik	<0,2
C-20 : 1	Asam gadoleat	<0,2

2.2 Oleum Olivarum

Oleum olivarum adalah minyak lemak yang diperoleh dari buah masak *Olea europaea L.*

Pemerian : minyak, bewarna kuning pucat atau kuning kehijauan terang ; bau dan rasa khas lemah dengan rasa ikutan agak pedas

Kelarutan : sukar larut dalam etanol, mudah larut dalam kloroform, eter, dan karbon disulfida

Massa jenis : 0,910 – 0,915 gr/ml

Bilangan iodium : 79 sampai 88

Bilangan penyabunan : 190 sampai 195

Wadah dan penyimpanan : dalam wadah tertutup rapat dan hindarkan dari panas berlebih

Khasiat dan penggunaan : zat tambahan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia)

Komposisi asam lemak (Richard D. O'Brien, 2009)

Jumlah atom C : jumlah ikatan rangkap	Jenis asam lemak	Standar (%)
C-14 : 0	Asam miristat	<0,1
C-16 : 0	Asam palmitat	7,5 – 20,0
C-16 : 1	Asam palmitoleat	0,3 – 3,5
C-17 : 0	Asam margarik	<0,3
C-18 : 0	Asam stearat	0,5 – 5,0
C-18 : 1	Asam oleat	40,0 – 83,0
C-18 : 2	Asam linoleat	3,5 – 21,0
C-18 : 3	Asam linolenat	<0,9
C-20 : 0	Asam arakidik	<0,6
C-20 : 1	Asam gadoleat	0,1 – 0,4
C-22 : 0	Asam behenat	<0,2
C-24 : 0	Asam lignoserat	<0,3

2.3 Oleum Sesami

Oleum sesami (minyak wijen) adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan biji *Sesamum indicum L.*

Pemerian : cairan ; kuning pucat ; bau lemah ; rasa tawar ; tidak membeku pada suhu 0° C.

Kelarutan : sukar larut dalam etanol (95%) P, mudah larut dalam kloroform P dan dalam eter P

Massa jenis : 0,916 sampai 0,921 gr/ml

Indeks bias : 1,472 sampai 1,476

Bilangan iodium : 103 sampai 116

Bilangan penyabunan : 188 sampai 195

Zat yang tak tersabunkan : tidak lebih dari 1,5%

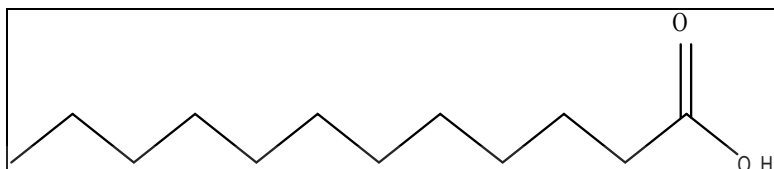
(Departemen Kesehatan Republik Indonesia)

Komposisi asam lemak (Richard D. O'Brien, 2009)

Jumlah atom C : jumlah ikatan rangkap	Jenis asam lemak	Standar (%)
C-12 : 0	Asam laurat	0,4
C-14 : 0	Asam miristat	0,2
C-16 : 0	Asam palmitat	11,7
C-16 : 1	Asam palmitoleat	0,2
C-18 : 0	Asam stearat	5,2
C-18 : 1	Asam oleat	41,4
C-18 : 2	Asam linoleat	39,4
C-18 : 3	Asam linolenat	0,4
C-20 : 0	Asam arakidik	0,4
C-22 : 0	Asam behenat	0,6

2.4 Asam Laurat

Rumus bangun :



[Sumber: U.S. National Library of Medicine, 2010]

Gambar 2.1 Rumus struktur asam laurat

Rumus molekul : $C_{12}H_{24}O_2$

Berat molekul : 200,31

Sinonim : asam dodekanoat, asam laurostearat, asam dodekoat

Pemerian : serbuk kristal jarum bewarna putih

Kelarutan : tidak larut dalam air ; 1 gr larut dalam 1 ml alkohol, 2.5 ml propilenglikol ; sangat larut dalam benzene dan eter

Titik lebur : $44^{\circ}C$

Titik didih : $225^{\circ}C$ (100 mmHg)

$160-165^{\circ}C$ (20 mmHg)

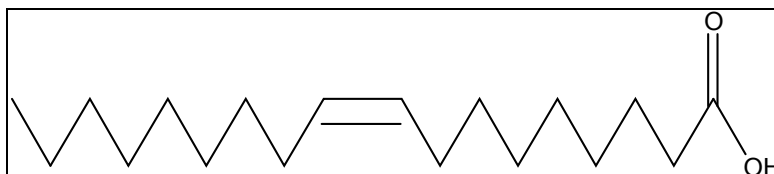
Titik didih metil laurat : $148^{\circ}C$ (18 mmHg)

Massa jenis : 0.87 kg/ L pada suhu $50^{\circ}C$

Khasiat dan penggunaan : zat tambahan (Martha Windolz, 1976)

2.5 Asam Oleat

Rumus bangun :



[Sumber: U.S. National Library of Medicine, 2010]

Gambar 2.2 Rumus struktur asam oleat

Rumus molekul : $C_{18}H_{34}O_2$

Berat molekul : 282,5

Pemerian : cairan kental ; kekuningan sampai coklat muda ; bau dan rasa khas

Kelarutan : praktis tidak larut dalam air ; mudah larut dalam etanol (95%) P, dalam kloroform P, dalam eter P, dalam eter minyak tanah P

Titik didih : 194 – 195 °C (1.2 mmHg)

286 °C (100 mmHg)

Titik didih metil oleat : 168-170 °C

Massa jenis : 0,889 - 0,895 gr/ml

Penyimpanan : dalam wadah tertutup baik dan terlindung dari cahaya

Khasiat dan penggunaan : zat tambahan (Martha Windolz, 1976)

2.6 Asam Palmitat

Rumus bangun :



[Sumber: U.S. National Library of Medicine, 2010]

Gambar 2.3 Rumus struktur asam palmitat

Rumus molekul : $C_{16}H_{32}O_2$

Bobot molekul : 256,43

Sinonim : n-Hexadecanoic acid; 1-Pentadecanecarboxylic acid; Cetylic acid; Hexadecylic acid

Pemerian : padatan berwarna putih

Kelarutan : tidak larut dalam air

Titik leleh : 61-62,5°C

Titik didih : 271,5°C (100mmHg)

Titik didih metil palmitat : 185 °C

Massa jenis : 0,852 g/ml pada suhu 25° C

Penyimpanan : simpan dalam wadah tertutup rapat, pada tempat yang sejuk dan kering. (Martha Windolz, 1976)

2.7 Kromatografi Gas

Kromatografi adalah metode pemisahan suatu campuran menjadi komponen-komponennya yang didasarkan pada distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak yang berada pada sistem keseimbangan yang dinamis. Kromatografi gas adalah jenis kromatografi yang menggunakan gas sebagai fase gerak dan fase diamnya berupa cairan atau padatan. Dalam kromatografi gas, zat terlarut terpisah sebagai uap. (Gandjar & Rohman, 2007).

Ada dua jenis kromatografi gas, yaitu:

a. Kromatografi gas padat (KGP)

Digunakan fase diam berupa padatan (kadang-kadang polimerik). Pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya terjadi karena perbedaan adsorpsi permukaan relative masing-masing komponen pada fase diam.

b. Kromatografi gas cair (KGC)

Digunakan fase diam berupa cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut dalam fase diam. Maka, pemisahan terjadi karena perbedaan kelarutan (partisi) relatif sampel antara fase gerak dan fase diam.

Kromatografi gas digunakan untuk memisahkan campuran yang komponen-komponennya dapat menguap pada suhu percobaan (sampai 400°C) dengan menggunakan gas sebagai fase gerak. Meskipun harga instrumen bila dibandingkan dengan teknik kromatografi yang lain relatif mahal, tetapi teknik ini jauh lebih unggul dalam hal kecepatan, sensitif, spesifik, dapat digunakan untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif terhadap mikrosampel berupa gas, zat padat atau zat cair, dan resolusi atau pemisahan yang dihasilkan lebih sempurna.

Resolusi pada kromatografi gas ditentukan oleh dua faktor, yaitu efisiensi kolom dan efisiensi pelarut. Efisiensi kolom menentukan pelebaran puncak kromatogram (*peak broadening*), sedangkan efisiensi pelarut menentukan posisi puncak kromatogram (*relative retention*). Efisiensi kolom dapat diukur dari jumlah “*theoretical plate*” atau harga HETP, dimana harga HETP adalah panjang kolom yang diperlukan untuk tercapainya keseimbangan dari komponen sampel antara fase gerak dan fase diam. Untuk mempertinggi efisiensi kolom, digunakan cairan dengan kekentalan rendah sebagai fase diam berupa lapisan film homogen yang tipis pada support. *Flow rate* harus cukup rendah dan koefisien distribusi harus cukup tinggi untuk mempercepat terjadinya keseimbangan dari sampel antara zat cair (fase diam) dan gas (fase gerak) (Harmita, 2006)

2.7.1. Analisis Kualitatif

Kromatografi dapat digunakan untuk tujuan analisis, baik analisis kualitatif maupun kuantitatif. Terdapat tiga pendekatan untuk analisis kualitatif, yaitu:

- a. Perbandingan antara data waktu retensi senyawa yang tidak diketahui dengan data waktu retensi baku yang sesuai (senyawa yang diketahui) pada kondisi yang sama.
- b. Dengan cara spiking, yakni dengan menambah sampel yang mengandung senyawa tertentu yang akan diselidiki dengan baku pada kondisi kromatografi yang sama.
- c. Menggabungkan alat kromatografi dengan spektrofotometer massa (Gandjar & Rohman, 2007).

2.7.2. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif dilakukan dengan perhitungan relatif dari tinggi atau luas puncak kromatogram sampel zat terhadap baku pembanding (standar). Metode yang biasa dipakai adalah dengan metode baku luar (*external standard*) atau baku dalam (*internal standard*) (Gandjar & Rohman, 2007).

2.7.3. Derivatisasi pada Kromatografi Gas (Gandjar & Rohman, 2007)

Derivatisasi merupakan proses kimiawi untuk mengubah suatu senyawa menjadi

senyawa lain yang mempunyai sifat-sifat yang sesuai untuk dilakukan analisis menggunakan kromatografi gas. Alasan dilakukannya derivatisasi:

- a) Senyawa-senyawa tersebut tidak memungkinkan dilakukan analisis dengan kromatografi gas terkait dengan volatilitas dan stabilitasnya.
- b) Untuk meningkatkan batas deteksi dan bentuk kromatogram. Beberapa senyawa tidak menghasilkan bentuk kromatogram yang bagus (misal puncak kromatogram saling tumpang tindih) atau sampel yang dituju tidak terdeteksi, karenanya diperlukan derivatisasi sebelum dilakukan analisis dengan kromatografi gas.
- c) Meningkatkan volatilitas senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap (non-volatil). Adanya gaya tarik-menarik intermolekuler antara gugus-gugus polar menyebabkan senyawa tidak mudah menguap. Jika gugus-gugus polar ini ditutup dengan cara derivatisasi, maka akan mampu meningkatkan volatilitas senyawa tersebut secara dramatis.
- d) Meningkatkan stabilitas. Beberapa senyawa volatil mengalami dekomposisi parsial karena panas sehingga diperlukan derivatisasi untuk meningkatkan stabilitasnya.

Derivatisasi pada kromatografi gas dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

2.7.3.1 Esterifikasi

Ester adalah senyawa kimia yang dihasilkan dengan mereaksikan suatu asam karboksilat dengan komponen hidroksil seperti alkohol atau fenol. Reaksi esterifikasi digunakan untuk membuat derivat gugus karboksil menjadi esternya. Gugus ester ini akan meningkatkan volatilitas karena akan menurunkan jumlah ikatan hidrogen.

Metil ester merupakan derivat yang paling populer untuk analisis asam-asam lemak secara kromatografi gas. Pembuatan metil ester dilakukan dengan menggunakan boron trifluorida, asam klorida/metanol, asam sulfat/metanol, dan asam perklorat/metanol (Fourie & Basson, 1990; Gandjar & Rohman, 2007).

2.7.3.2 Asilasi

Asilasi adalah proses adisi gugus asil ke sebuah senyawa. Asilasi dilakukan untuk sampel yang mengandung fenol, alkohol, atau amin primer dan amin sekunder. Derivatisasi dengan cara ini dilakukan dengan menggunakan asam asetat anhidrat dan katalis (seperti asam asetat, asam p-toluen sulfonat, piridin, N-metil amidazol).

2.7.3.3 Alkilasi

Alkilasi digunakan untuk menderivatisasi alkohol, fenol, amina (primer dan sekunder), imida, dan sulfhidril. Derivat dapat dibuat dengan sintesis Wiliamson, yakni alkohol atau fenol ditambah alkil atau benzil halida dengan adanya basa.

2.7.3.4 Kondensasi

Kondensasi dilakukan jika sampel yang dianalisis mengandung gugus aldehid atau keton. Tujuannya adalah untuk mencegah terjadinya enolisasi karena terjadinya ikatan hidrogen, meningkatkan resolusi karena adanya zat pengganggu, dan meningkatkan sensitifitas deteksi.

2.7.3.5 Siklisasi

Penutupan gugus polar melalui siklisasi dilakukan pada senyawa yang mengandung 2 gugus fungsi yang kira-kira sangat mudah dibuat heterosiklis beratom 5 atau 6.

2.7.3.6 Sililasi

Sililasi adalah proses substitusi gugus silil ke dalam molekul. Derivat yang paling sering dibuat adalah trimetilsilil.

2.8 Metode Esterifikasi Lepage (Lepage & Roy, 1986)

2.8.1 Preparasi Sampel

Ditimbang sejumlah sampel, dilarutkan dalam metanol-benzen 4:1 (v/v). Dipipet 2 ml larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon.

Esterifikasi dilakukan dengan menambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan ke dalam tabung reaksi sambil divortex. Tabung reaksi ditutup rapat lalu dipanaskan di oven (100°C) selama 1 jam. Tabung lalu didinginkan dalam air, kemudian 5 ml larutan 6% K_2CO_3 ditambahkan perlahan-lahan untuk menghentikan reaksi dan menetralkan campuran dan divortex. Selanjutnya tabung reaksi ditutup rapat dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Disuntikkan sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) benzen ke dalam alat kromatografi gas.

2.8.2 Kondisi Analisis

Kromatografi gas yang digunakan adalah kromatografi Hewlett-Packard 5880 yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom silika 30 m x 0,32 mm dilapisi dengan 0,20 mm SP-2330. Gas pembawa yang digunakan adalah Helium, split ratio 17:1. Suhu injektor 200°C dan detektor 250°C . Suhu kolom dipertahankan pada 80°C selama 5 menit kemudian dinaikan perlahan hingga 220°C .

2.9 Validasi Metode Analisis (Harmita, 2006; Gandjar & Rohman, 2007)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan 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).

2.9.1 Kecermatan (accuracy)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan. Kecermatan ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (spiked-placebo recovery) atau metode penambahan baku (standard addition method). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi

(placebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan).

Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel placebo (ekspien obat, cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan) kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi.

2.9.2 Keseksamaan (precision)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara 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. Percobaan keseksamaan dilakukan terhadap paling sedikit enam replika sampel yang diambil dari campuran sampel dengan matriks yang homogen.

2.9.3 Selektivitas (spesifisitas)

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 hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

2.9.4 Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan metoda 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. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung yaitu simpangan baku residual (S_y), sehingga nantinya akan diperoleh standar deviasi fungsi regresi (S_{Xo}) dan koefisien variasi fungsi regresi (V_{Xo}).

Syarat-syarat dari kelinearan garis yaitu :

- a. Koefisien korelasi (r) $> 0,9990$
- b. Jumlah kuadrat sisa masing-masing titik temu (r_i) mendekati nol (0), (r_i)² sekecil mungkin ≈ 0 . Nilai r_i diperoleh dari $y_i - (bx_i + a)$
- c. Koefisien fungsi regresi (V_{Xo}) $< 2,0\%$ untuk sediaan farmasi dan $> 5,0\%$ untuk sediaan biologi.
- d. Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$)

2.9.5 Batas deteksi dan batas kuantitasi

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 diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada

persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x).

2.9.6 Ketangguhan metode (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 lain-lain. 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.

2.9.7 Kekuatan (robustness)

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

2.10 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Kelapa (*Oleum Cocos*)

Berikut adalah beberapa studi yang berkaitan dengan metode analisis asam lemak dalam minyak kelapa (*oleum cocos*) yang telah dilakukan sebelumnya:

2.10.1. Komposisi Nutrien dalam Kelapa Kopyor (*Cocos nucifera* L.)

(Umar Santoso, Kazuhiro Kubo, Toru Ota, Tadahiyo Tadokoro & Akio Maekawa, 1995)

2.10.1.1 Preparasi sampel

Asam lemak dalam minyak kelapa sebelum dianalisis dengan alat kromatografi gas terlebih dahulu dilakukan reaksi metilasi dengan menggunakan reagen BF_3 dalam metanol (Metcalf & Schmidz, 1961)

2.10.1.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas (model Shimadzu GC-9A) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah Ulbon capillary column HR-SS-10, dengan diameter dalam 0.25 mm dan panjang kolom 50 m (Shinwa Chemical Industry Ltd.). Suhu kolom diprogram 150°C (dipertahankan selama 5 menit) kemudian suhu dinaikan perlahan-lahan menjadi 180°C dengan kenaikan 4°C /menit. Kemudian dari 180°C suhu kembali dinaikan menjadi 210°C (dipertahankan selama 10 menit) dengan kenaikan 2,4°C /menit. Suhu injektor 250°C.

2.10.2 Karakterisasi dari Komposisi Asam Lemak dalam Minyak Sayur Secara Kromatografi Gas

(Dong-Sun Lee, Bong-Soo Noh, Sun-Young Bae, dan Kun Bim , 1997)

2.10.2.1 Preparasi sampel

Asam lemak dalam minyak kelapa sebelum dianalisis dengan alat kromatografi gas terlebih dahulu dilakukan reaksi metilasi dengan menggunakan reagen BF₃ dalam metanol (Metcalf & Schmidz, 1961)

2.10.2.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas model DS 6200 (Donam System, Korea) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika (25 m x 0,22 mm i.d). Suhu kolom diprogram 160°C (dipertahankan selama 5 menit) kemudian suhu dinaikan perlahan-lahan dengan kenaikan 4°C/menit menjadi 210°C (dipertahankan selama 6 menit). Suhu injektor dan detektor masing-masing 230°C. Gas pembawa adalah nitrogen dengan laju alir 1,0 ml/menit. Volume injeksi adalah 0,1µl dengan split ratio 1:60.

2.10.3. Studi Komposisi Asam Lemak dalam Beberapa Minyak Sayur

(K. Chowdhury, L. A. Banu, S. Khan, dan A. Latif , 2007)

2.10.3.1 Preparasi sampel

5-7 tetes (~50 μl) minyak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 ml larutan 0.5 M CH_3ONa . Campuran dihomogenkan dengan cara diaduk di atas penangas air selama 15 menit, kemudian didinginkan pada temperature ruangan. Kemudian ditambahkan 1 ml petroleum eter dan 10 ml deionized water, aduk homogen. Diamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Ambil lapisan petroleum eter (lapisan atas) secara hati-hati, masukan dalam vial lalu tutup rapat.

2.10.3.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas model-14 B Shimadzu, class GC-10 (version-2.00) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom stainless steel yang dikemas dengan 5% DEGS-PS. Suhu kolom diprogram 150°C (dipertahankan selama 5 menit) kemudian suhu dinaikan perlahan-lahan dengan kenaikan 8°C /menit menjadi 190°C. Suhu kembali dinaikan menjadi 200°C dengan kenaikan 2°C /menit kemudian dipertahankan 10 menit. Suhu injektor dan detektor masing-masing 250°C. Gas pembawa adalah nitrogen dengan laju alir 20 ml/menit. Volume injeksi adalah 1 μl .

2.10.4. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kualitas Minyak Kelapa

(Kapila N. Seneviratne dan DMS Dissanayake , 2005)

2.10.4.1 Preparasi sampel

0,1 gr sampel minyak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 4 ml campuran metanol anhidrat-toluene- $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$ (88 : 10 : 2 v/v). Kemudian campuran tersebut dipanaskan dalam oven pada suhu 80° C selama 1 jam, setelah itu dinginkan beberapa saat pada temperature ruang. Lakukan ekstraksi dalam corong pisah dengan menggunakan n-heksana. Tambahkan beberapa ml larutan NaCl jenuh untuk menjernihkan lapisan n-heksana. Ambil lapisan heksana (ekstrak), kemudian ekstrak disaring melalui kolom anhydours Na_2SO_4 , tampung hasil saringan tersebut ke dalam vial. Ekstrak tersebut lalu diuapkan pelarutnya sampai volume mencapai 1 ml dengan menggunakan gas N_2 . (Fernandez *et al* ,2000)

2.10.4.2 Kondisi analisis :

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas model Thermo Finnigan Trace GC (K01332734500000, Strada Rivoltana – 20090 Rodano (Milan) – Italy) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler Rtx^R – WAX (30 m x 0.32 mm i.d. 0.25 µm). Suhu kolom diprogram 130°C (dipertahankan selama 3 menit) kemudian suhu dinaikan perlahan-lahan dengan kenaikan 45°C /menit menjadi 210°C (dipertahankan selama 12 menit). Suhu injektor dan detektor masing-masing 230°C dan 250°C. Gas pembawa adalah helium dengan laju alir 0.5 ml/menit, split ratio 100 : 1. Volume injeksi adalah 0.4 µl.

2.10.5 Asam Lemak dan Senyawa Fitokimia pada Beberapa Varietas *Cocos nucifera* L. di Nigeria

(Odenigbo, U. M & Otisi, C. A. O., 2011)

2.10.5.1 Preparasi sampel

Asam lemak dalam minyak kelapa sebelum dianalisis dengan alat kromatografi gas terlebih dahulu dilakukan reaksi metilasi dengan menggunakan reagen BF₃ dalam metanol (Joseph and Ackman, 1992).

2.10.5.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas model Hewlett- Packard 6890 yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler (60 m x 0,20 mm i.d). Suhu kolom diprogram 150°C (dipertahankan selama 3 menit) kemudian suhu dinaikan perlahan-lahan dengan kenaikan 1°C/menit menjadi 160°C (dipertahankan selama 3 menit). Suhu dinaikan kembali menjadi 190°C dengan kenaikan 1,5°C/menit (dipertahankan 1 menit), akhirnya suhu ditingkatkan menjadi 220°C dengan kenaikan 1°C/menit. Suhu injektor 200°C dan detektor 250°C. Gas pembawa adalah helium.

2.11 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Zaitun (Oleum Olivae)

Berikut adalah beberapa studi yang berkaitan dengan metode analisis asam lemak dalam minyak zaitun (oleum olivae) yang telah dilakukan sebelumnya:

2.11.1. Hubungan Senyawa Menguap dalam Minyak Zaitun dengan Karakteristik Rasa (Shaker M. Arafat dan Azza A. Ahmed, 2011)

2.11.1.1 Preparasi sampel

Derivatisasi dari asam lemak dalam minyak zaitun dilakukan seperti yang ditetapkan oleh International Olive Oil Council.

2.11.1.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas (model Pye-Unicam 104) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan terbuat dari gelas (1,6 x 4 mm) dengan support Chromosorb W-AW 100-200 mesh. Elusi dilakukan secara isothermal dengan suhu kolom 170°C, suhu detektor 300 °C dan suhu injektor 250 °C. Laju alir gas hidrogen adalah 33 ml/min, nitrogen 30 ml/min dan udara 330 ml/min

2.11.2. Minyak Zaitun Italia dan Argentina : Studi NMR dan Kromatografi Gas

(Luisa Mannina, Giuseppe Fontanazza, Maurizio Patumi, Giuliana Ansanelli, Annalaura Segre, 2001)

2.11.2.1 Preparasi sampel

Derivatisasi dilakukan menggunakan larutan 20% KOH dalam metanol (European Community Regulation, 1977 ; Patumi, 1999 ; Odetokun S.M., 1998). Sampel minyak zaitun ditimbang sebanyak 0,2 g lalu ditambahkan 0,2 ml larutan 20% KOH dalam metanol dan 3 ml heksan. Setelah campuran dikocok kuat selama 1 menit, diambil lapisan heksan yang mengandung hasil derivatisasi asam lemak dan dianalisis menggunakan alat kromatografi gas.

2.11.2.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas (model Perkin Elmer Autosystem Gas Chromatograph, Norwalk, CT, U.S.A.) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan terbuat dari stainless steel (6' x 1/8"), fase diam GP 3% SP – 2310/ 2% SP-2300 dalam Chromosorb W-HW 100-200 mesh. Elusi dilakukan secara isothermal dengan suhu kolom 200°C, suhu detektor 250 °C dan suhu injektor 270 °C.

2.11.3. Penetapan Asam Lemak, Tokoferol, Sterol, 1,2- dan 1,3- diasilgliserol pada Empat Varietas Virgin Olive Oil)

(Bertrand Matthaus dan Mehmet Musa Ozcan, 2011)

Analisis dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas (model Varian 5890) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler CP-Sil 88 dengan panjang 100 m dan diameter dalam 0,25 mm Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 155°C yang dinaikan sampai 220°C dengan kenaikan 1,5°C/min yang dipertahankan selama 10 menit. Suhu detektor dan injektor adalah 250 °C. Gas pembawa adalah hidrogen dengan laju 36cm/s. Split ratio 1/50.

2.11.4. Pengaruh Berbagai Metode Esterifikasi terhadap Kuantitasi Asam Lemak dalam Minyak Zaitun

(Maria Cristina Milinsk, Makoto Matsushita, Jesui Vergilio Visentainer, Lucia Felicidade Dias, 2011)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 µl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model Varian CP-3380) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika CP 7420 (100 m x 0,25 mm) dengan diameter dalam 0,39µm. Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 197°C yang dipertahankan selama 23 menit dinaikan sampai 235°C dengan kenaikan 20°C /min dan dipertahankan selama 20

menit. Suhu detektor 245°C dan injektor adalah 220 °C. Laju alir gas hidrogen 1,4 ml/min. Split ratio 1/80

2.11.5. Perbandingan Jumlah Senyawa Menguap dalam *Virgin Olive Oil* yang Dibudidayakan di Perancis

(Benoit Berlioz, Christophe Cordella, Jean-Francois Cavalli, Louise Lizzani-Cuvelier, 2006)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 µl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model Hewlett-Packard 5890 Series II) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika HP-1 (50 m x 0.2 mm i.d). Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 60°C yang dinaikan sampai 250°C dengan kenaikan 2°C /min dan dipertahankan selama 20 menit. Suhu detektor 250°C. Gas pembawa adalah nitrogen.

2.11.6. Komposisi Trigliserida dan Asam Lemak Total dalam Virgin Olive Oil Jenis Cornicabra, dan Perbandingannya dengan Jenis Lain yang Dibudidayakan di Spanyol (F. Aranda, S., Gomez-Alonso, R.M. Rivera del Alamo, M.D. Salvador , dan G. Fregapane, 2003)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 µl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model HP 6890) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika (50 m x 0,25 mm i.d) dengan fase diam SGL-1000. Elusi dilakukan isothermal dengan suhu kolom 210°C. Suhu detektor dan injektor 250°C. Gas pembawa adalah helium dengan laju alir 1 ml/min.

2. 12 Metode Analisis Asam Lemak dalam Minyak Wijen (Oleum Sesami)

Berikut adalah beberapa studi yang berkaitan dengan metode analisis asam lemak dalam minyak wijen (oleum sesami) yang telah dilakukan sebelumnya:

2.12.1. Komposisi Minyak dan Asam Lemak pada Biji *Sesamum indicum L.* di Afrika Timur

(Beatrice A. Were, Augustino O. Onkware, Samuel Gudu, Margareta Welander, dan Anders S. Carlsson, 2005)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 2 μl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model Shimadzu 17A GC) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika dengan fase diam CP-Wax 58-CB. Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 160°C yang dipertahankan selama 3 menit dinaikan sampai 230°C dengan kenaikan 3°C /min dan dipertahankan selama 10 menit. Suhu detektor 270°C dan injektor adalah 230 °C.

2.12.2. Komposisi Kimia dan Karakteristik Minyak pada Biji *Sesamum indicum L.* di Sudan

(Murwan Khalid Sabah El Khier, Khogali Elnur Ahmed Ishag, dan Abu ElGasim Ahmed Yagoub, 2008)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 μl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model 5890 Hewlett packed) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dari silika (50 m X 0,25 m ID) dengan fase diam CP-SIL-88 Wcott. Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 170°C yang dinaikan sampai 205°C dengan kenaikan 10°C /min dengan *split ratio* 1/50. Suhu detektor dan injektor adalah 270 °C. Laju alir gas hidrogen 1,0 ml/min

2.12.3. Penetapan Komposisi Minyak dan Asam Lemak dari *Sesamum indicum L.* pada Kondisi Terprogram

(Cigdem Arslan, Bulent Uzun, Salih Ulger, dan M.Ilhan Cagiran, 2007)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 0,5 μl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model Fison GC) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler (25 m x 0,25 mm ID) dengan fase diam FFAP-DF. Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu

awal kolom 150°C yang dinaikan sampai 200°C dengan kenaikan 5°C /min. Suhu detektor adalah 260 °C dan suhu injektor 250 °C . Laju alir gas helium 1,0 ml/min

2.12.4. Komposisi Kimia Biji dan Minyak dari *Sesamum indicum L.* yang Dibudidayakan di Congo-Brazzaville

(J.M. Nzikou, L. Matos, G. Bouanga-Kalou, dan C.B. Ndangui, 2009)

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 µl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model GC-14A, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler (60 m x 0,32 mm ID). Elusi dilakukan secara suhu terprogram dengan suhu awal kolom 110°C yang dipertahankan 1 menit, dinaikan sampai 220°C dengan kenaikan 8°C /min (dipertahankan 1 menit). Suhu detektor dan suhu injektor 240 °C

2.12.5. Studi Karakterisasi, Komposisi Lipid dan Gliserida Biji *Sesamum indicum L.*

(M. S. Rahman M. A. Hossain, G. M. Ahmed, dan M. M. Uddin, 2007)

2.12.5.1 Preparasi sampel

Derivatisasi asam lemak menjadi bentuk esternya dilakukan dengan mereaksikan asam lemak dengan BF₃ dalam metanol (Morrison & Smith, 1964)

2.12.5.2 Kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menyuntikan 1 µl hasil derivatisasi asam lemak pada alat kromatografi gas (model GCD pye Unicam) yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Kolom yang digunakan terbuat dari gelas (1,8 m x 2 mm ID), dengan fase diam 6% BDS (Butanediol Succinate Polyesters) dan support Anakrom ABS 100/120 mesh. Elusi dilakukan secara isothermal dengan suhu kolom 190°C. Suhu detektor dan suhu injektor 230 °C. Gas pembawa adalah nitrogen dengan laju alir 30ml/min.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif dan laboratorium-laboratorium penunjang lainnya di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok selama 4 bulan mulai dari Februari 2012 sampai dengan Mei 2012

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Kromatografi gas Shimadzu model GC-17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler dengan panjang 60 meter, diameter dalam 0,32 mm, dengan fase diam VB-wax, gas pembawa helium ; pemroses data Class GC Solution; integrator CBM-102; microsyringe 5 μ l (Hamilton Co.Nevada); sentrifugator (Kubota); vortex (As One Tube Mixer Trio TM-1); tabung reaksi tahan panas bertutup teflon (Iwaki Pyrex); neraca analitik; oven; lemari asam; pipet mikro dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam analisa kuantitatif.

3.2.2 Bahan

Asam Laurat (Merck) ; Asam Oleat (Sigma-Aldrich) ; Asam Palmitat (Merck) ; Metanol p.a (Merck) ; Toluena p.a (Merck) ; Asetil Klorida p.a (Merck) ; Kalium Karbonat (Merck) ; Oleum Cocos (PT.Wahana Citra Nabati) ; Oleum Sesame; Oleum Olivarum (PT.Uniq) ; Sampel A (Minyak tawon) ; Sampel B (Fresh Care) ; Sampel C (GPU)

3.2.3 Penyiapan Larutan

3.2.3.1 Pembuatan Larutan Induk Asam Laurat

Ditimbang secara seksama lebih kurang 100 mg standar asam laurat ke dalam labu ukur 10,0 ml dan dilarutkan dengan metanol-toluen 4:1 (v/v) sampai tanda batas labu ukur. Diperoleh konsentrasi larutan asam laurat lebih kurang 10000 $\mu\text{g/ml}$ (10000 ppm). Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi tertentu.

3.2.3.2 Pembuatan Larutan Induk Asam Oleat

Ditimbang secara seksama lebih kurang 100 mg standar asam oleat ke dalam labu ukur 10,0 ml dan dilarutkan dengan metanol-toluen 4:1 (v/v) sampai tanda batas labu ukur. Diperoleh konsentrasi larutan asam oleat lebih kurang 10000 $\mu\text{g/ml}$ (10000 ppm). Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi tertentu.

3.2.3.3 Pembuatan Larutan Induk Asam Palmitat

Ditimbang secara seksama lebih kurang 100 mg standar asam palmitat ke dalam labu ukur 10,0 ml dan dilarutkan dengan metanol-toluen 4:1 (v/v) sampai tanda batas labu ukur. Diperoleh konsentrasi larutan asam palmitat lebih kurang 10000 $\mu\text{g/ml}$ (10000 ppm). Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi tertentu.

3.2.3.4 Pembuatan Larutan Kalium Karbonat 6%

Ditimbang secara seksama lebih kurang 6 gram kalium karbonat dan dimasukkan ke dalam labu takar 100,0 ml, kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai tanda batas labu takar. Diperoleh larutan kalium karbonat 6%.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Optimasi Kondisi Analisis Asam Laurat, Asam Palmitat, dan Asam Oleat

3.3.1.1 Penentuan Waktu Retensi Metil Laurat

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam laurat 10000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicukupkan volumenya sampai garis batas

menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh konsentrasi larutan asam laurat 1000 ppm.

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam laurat 1000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicumukkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh konsentrasi larutan asam laurat 100 ppm

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan asam laurat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Diambil lapisan atas (lapisan toluen) yang mengandung metil laurat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1 μ l. Catat waktu retensinya.

Analisis dilakukan menggunakan kromatografi gas Shimadzu model GC 17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB wax dengan panjang 60 m dan diameter dalam 0,32 mm. Suhu awal kolom 170°C dengan kenaikan suhu 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C. Laju alir gas helium diatur 1,2 ml/menit.

3.3.1.2 Penentuan Waktu Retensi Metil Palmitat

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam palmitat 10000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicumukkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh konsentrasi larutan asam palmitat 1000 ppm.

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam palmitat 1000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicumukkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh konsentrasi larutan asam palmitat 100 ppm

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan asam palmitat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 µl asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Tampung lapisan atas (lapisan toluen) yang mengandung metil palmitat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1µl. Catat waktu retensinya.

Analisis dilakukan menggunakan kromatografi gas Shimadzu model GC 17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB wax dengan panjang 60 m dan diameter dalam 0,32 mm. Suhu awal kolom 170°C dengan kenaikan suhu 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C. Laju alir gas helium diatur 1,2 ml/menit.

3.3.1.3 Penentuan Waktu Retensi Metil Oleat

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam oleat 10000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicumukkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh konsentrasi larutan asam oleat 1000 ppm.

Dipipet sejumlah 1,0 ml dari larutan asam oleat 1000 ppm, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Dicumukkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh konsentrasi larutan asam oleat 100 ppm

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan asam oleat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 µl asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Tampung lapisan atas (lapisan

toluen) yang mengandung metil oleat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1 μ l. Catat waktu retensinya.

Analisis dilakukan menggunakan kromatografi gas Shimadzu model GC 17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB wax dengan panjang 60 m dan diameter dalam 0,32 mm. Suhu awal kolom 170°C dengan kenaikan suhu 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C. Laju alir gas helium diatur 1,2 ml/menit.

3.3.1.4 Penentuan Waktu Retensi Campuran Metil Laurat, Metil Palmitat, dan Metil Oleat

Dipipet 1,0 ml masing-masing dari larutan asam laurat 10000 ppm, asam oleat 10000 ppm, dan asam palmitat 10000 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 1000 ppm.

Dipipet 1,0 ml dari campuran larutan yang mengandung asam laurat 1000 ppm, asam oleat 1000 ppm, dan asam palmitat 1000 ppm. Dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm.

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan campuran asam palmitat 100 ppm, asam laurat 100 ppm, dan asam oleat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Tampung lapisan atas (lapisan toluen) yang mengandung metil laurat 100 ppm, metil oleat 100 ppm, dan metil palmitat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1 μ l. Catat masing-masing waktu retensinya.

Analisis dilakukan menggunakan kromatografi gas Shimadzu model GC 17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB wax dengan panjang 60 m dan diameter dalam 0,32 mm. Suhu awal kolom 170°C dengan kenaikan suhu 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C. Laju alir gas helium diatur 1,2 ml/menit.

3.3.1.5 Pemilihan Suhu Awal Kolom untuk Analisis Campuran Metil Laurat, Metil Oleat, dan Metil Palmitat

Dipipet 1,0 ml masing-masing dari larutan asam laurat 10000 ppm, asam oleat 10000 ppm, dan asam palmitat 10000 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 1000 ppm.

Dipipet 1,0 ml dari campuran larutan yang mengandung asam laurat 1000 ppm, asam oleat 1000 ppm, dan asam palmitat 1000 ppm. Dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm.

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan campuran asam laurat 100 ppm, asam oleat 100 ppm, dan asam palmitat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 µl asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Tampung lapisan atas (lapisan toluen) yang mengandung metil laurat 100 ppm, metil oleat 100 ppm, dan metil palmitat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1µl.

Suhu awal kolom dibuat bervariasi yaitu 160°C ; 170°C ; 180°C. Suhu lalu dinaikan 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C.

Dari hasil percobaan dipilih hasil dengan jumlah lempeng teoritis (N) terbesar, HETP terkecil, waktu retensi (tR) yang relatif singkat, faktor ikutan (Tf) yang kecil dan pemisahan yang baik (resolusi 1,5 atau lebih).

3.3.1.6 Pemilihan Laju Alir Gas Pembawa untuk Analisis Campuran Metil Laurat, Metil Oleat, dan Metil Palmitat

Dipipet 1,0 ml masing-masing dari larutan asam laurat 10000 ppm, asam oleat 10000 ppm, dan asam palmitat 10000 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 1000 ppm.

Dipipet 1,0 ml dari campuran larutan yang mengandung asam laurat 1000 ppm, asam oleat 1000 ppm, dan asam palmitat 1000 ppm. Dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm.

Dipipet sebanyak 2,0 ml larutan campuran asam laurat 100 ppm, asam oleat 100 ppm, dan asam palmitat 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Kemudian ditambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100 °C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Kemudian tabung ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Tampung lapisan atas (lapisan toluen) yang mengandung metil laurat 100 ppm, metil oleat 100 ppm, dan metil palmitat 100 ppm. Volume injeksi adalah 1 μ l.

Suhu awal kolom diatur pada suhu awal kolom terpilih. Suhu lalu dinaikan 2°C /menit hingga 190°C (dipertahankan 3 menit). Suhu injektor dan detektor diatur masing-masing 230°C dan 250°C. Laju alir gas helium dibuat bervariasi yaitu 1,0 ; 1,2 ; 1,4 ml/menit.

Dari hasil percobaan dipilih hasil dengan jumlah lempeng teoritis (N) terbesar, HETP terkecil, waktu retensi (tR) yang relatif singkat, faktor ikutan (Tf) yang kecil dan pemisahan yang baik (resolusi 1,5 atau lebih).

3.3.2 Uji Kesesuaian Sistem

Dipipet 1,0 ml masing-masing dari larutan asam laurat 10000 ppm, asam oleat 10000 ppm, dan asam palmitat 10000 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v) maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 1000 ppm.

Dipipet 1,0 ml dari campuran larutan yang mengandung asam laurat 1000 ppm, asam oleat 1000 ppm, dan asam palmitat 1000 ppm. Dimasukan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Lalu dicukupkan volumenya sampai garis batas menggunakan larutan metanol-toluen 4:1 (v/v), maka diperoleh larutan campuran asam laurat, asam oleat, dan asam palmitat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm.

Uji kesesuaian sistem dilaksanakan dengan melakukan penyuntikan 1,0 μ l pada kondisi analisis terpilih sebanyak 6 kali berturut-turut, kemudian dicatat waktu retensi (tR), dihitung faktor ikutan (Tf), jumlah lempeng teoritis (N), HETP, dan presisi (KV).

3.3.3 Perhitungan Berat Jenis Sampel

Piknometer kosong yang bersih dan kering dengan volume 10,0 ml ditimbang seksama sampai stabil sebanyak tiga kali. Piknometer lalu diisi dengan aquadest hingga memenuhi rongga yang ada pada tutup piknometer kemudian ditimbang. Selisih berat antara piknometer kosong dan piknometer yang berisi aquadest dihitung. Piknometer kemudian dikosongkan dan dikeringkan kembali. Lalu sejumlah sampel diisikan ke dalamnya hingga memenuhi rongga yang ada pada tutup piknometer, kemudian ditimbang. Selisih berat antara piknometer kosong dan piknometer yang berisi sampel dihitung dan dibagi dengan selisih berat antara

piknometer kosong dan piknometer berisi aquadest sehingga diperoleh berat jenis dari sampel.

3.3.4 Validasi Metode Analisis

3.3.4.1 Uji Linearitas dan Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat campuran larutan standar asam laurat 10.000 ppm, asam oleat 3669 ppm, dan asam palmitat 1739 ppm kemudian diencerkan hingga konsentrasi tertentu. Masing-masing hasil pengenceran tersebut kemudian diesterifikasi dengan metode Lepage. Diinjeksikan sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen ke dalam alat dengan kondisi analisis terpilih. Dibuat kurva kalibrasi dan persamaan regresi linear, kemudian dihitung koefisien korelasinya.

3.3.4.2 Uji Selektivitas

Sejumlah plasebo minyak gosok yang tidak mengandung zat aktif (asam laurat, asam palmitat, dan asam oleat) ditimbang dan diencerkan dengan metanol-toluen 4:1 (v/v) hingga konsentrasi tertentu. Kemudian dipipet sebanyak 2,0 ml ke dalam tabung reaksi bertutup teflon dan ditambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan sambil divortex. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan dalam oven (100°C) selama 1 jam. Selanjutnya tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan 5,0 ml kalium karbonat 6% perlahan-lahan dan divortex. Tabung lalu ditutup rapat dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Diinjeksikan sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen ke dalam alat dengan kondisi analisis terpilih. Kromatogram yang diperoleh diamati apakah pada waktu retensi laurat, palmitat, dan oleat termetilasi terdapat gangguan (interferensi) dari komponen penyusun plasebo.

3.3.4.3 Uji Perolehan Kembali (Akurasi)

Dilakukan uji perolehan kembali dengan metode simulasi. Pada metode ini dibuat plasebo sampel yang mengandung sejumlah standar asam laurat, asam palmitat, dan asam oleat yang telah diketahui kadarnya (80, 100, dan 120%). Kemudian dibuat pengenceran hingga konsentrasi tertentu. Pada masing-masing

campuran tersebut dilakukan esterifikasi Lepage. Diinjeksikan sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen pada alat kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih. Dihitung nilai perolehan kembali (% recovery) dengan cara membandingkan konsentrasi senyawa dalam sampel yang diperoleh dari hasil esterifikasi dengan konsentrasi yang sebenarnya.

3.3.4.4 Uji Keterulangan (Presisi)

Presisi dilakukan pada plasebo sampel dengan konsentrasi 80, 100, dan 120% yang masing-masing diencerkan hingga konsentrasi tertentu. Pada masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2,0 ml larutan ke dalam tabung reaksi bertutup teflon dan dilakukan esterifikasi dengan metode Lepage. Lakukan pengulangan esterifikasi sebanyak 6 kali untuk masing-masing konsentrasi.

Diinjeksikan sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen ke dalam alat kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih. Nilai simpangan baku relatif atau koefisien variasinya (KV) dihitung. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) 2% atau kurang.

3.3.5 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Laurat, Asam Palmitat, dan Asam Oleat dalam Oleum Cocos, Oleum Olivarum, dan Oleum Sesami

Ditimbang sejumlah minyak lemak, dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dan dilakukan pengenceran hingga konsentrasi tertentu. Larutan kemudian dipipet sebanyak 2,0 ml ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Dilakukan esterifikasi dengan menambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan ke dalam tabung reaksi sambil divortex. Tabung reaksi ditutup rapat lalu dipanaskan di oven (100°C) selama 1 jam. Tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan perlahan-lahan 5,0 ml larutan kalium karbonat 6%. Tabung ditutup rapat, divortex dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen disuntikkan ke dalam alat kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih.

Kromatogram yang diperoleh dipakai untuk:

3.3.5.1 Analisis kualitatif

Waktu retensi yang diperoleh dicatat dan dibandingkan dengan waktu retensi standar. Dihitung perbandingan area asam laurat, asam palmitat, dan asam oleat. Data perbandingan yang diperoleh digunakan sebagai dasar identifikasi masing-masing minyak lemak.

3.3.5.2 Analisis kuantitatif

Luas puncak metil laurat, metil miristat, dan metil palmitat dicatat. Kemudian dihitung kadarnya dengan menggunakan persamaan garis dari kurva kalibrasi

3.3.6 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Minyak Lemak dalam Sampel

Ditimbang sejumlah sampel, dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dan dilakukan pengenceran hingga konsentrasi tertentu. Larutan kemudian dipipet sebanyak 2,0 ml ke dalam tabung reaksi bertutup teflon. Dilakukan esterifikasi dengan menambahkan 200 μ l asetil klorida perlahan-lahan ke dalam tabung reaksi sambil divortex. Tabung reaksi ditutup rapat lalu dipanaskan di oven (100°C) selama 1 jam. Tabung didinginkan dalam air, lalu ditambahkan perlahan-lahan 5,0 ml larutan kalium karbonat 6%. Tabung ditutup rapat, divortex dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen disuntikkan ke dalam alat kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih.

Kromatogram yang diperoleh dipakai untuk:

3.3.6.1 Analisis kualitatif

Waktu retensi yang diperoleh dicatat dan dibandingkan dengan waktu retensi standar. Dihitung perbandingan area asam laurat, asam palmitat, dan asam oleat. Data perbandingan yang diperoleh digunakan sebagai dasar identifikasi masing-masing minyak lemak yang digunakan.

3.3.6.2 Analisis kuantitatif

Luas puncak metil laurat, metil miristat, dan metil palmitat dicatat. Kemudian dihitung kadarnya dengan menggunakan persamaan garis dari kurva kalibrasi

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Optimasi Kondisi Analisis Asam Laurat, Asam Palmitat, dan Asam Oleat

4.1.1 Penentuan Waktu Retensi Metil Laurat

Pada penelitian ini derivatisasi asam laurat dilakukan dengan cara esterifikasi menggunakan metode yang dikembangkan oleh Guy Lepage dan Claude C. Roy pada tahun 1986, yang dikenal sebagai esterifikasi Lepage. Tujuan dari metode esterifikasi ini adalah untuk menurunkan titik didih dari asam laurat sehingga dapat menguap pada suhu analisis (Lepage & Roy, 1986)

Asam laurat memiliki gugus karboksilat sehingga dapat diesterifikasi dengan metode Lepage. Asam laurat yang termetilasi ini kemudian dianalisis dengan kromatografi gas yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB-wax dengan panjang 60 m dan diameter dalam 0,32 mm.

Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan asam laurat yang dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dengan 200 μ l asetil klorida sebagai katalisator, dan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100^o C selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dan ditambahkan dengan larutan kalium karbonat 6% yang bertujuan untuk menghentikan reaksi dan menetralkan campuran. Campuran kemudian disentrifus 3000 rpm selama 5 menit, lalu sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen diinjeksikan ke dalam alat kromatografi gas.

Pada percobaan ini digunakan larutan standar asam laurat 100,6 μ g/ml. Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190^oC, dengan kenaikan suhu 2^oC /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230^oC; suhu detektor 250^oC, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit. Dari hasil analisis ini tampak bahwa laurat termetilasi muncul pada waktu retensi 4,329 menit.

4.1.2 Penentuan Waktu Retensi Metil Palmitat

Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan asam palmitat yang dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dengan 200 μl asetil klorida sebagai katalisator, dan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100° C selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dan ditambahkan dengan larutan kalium karbonat 6% yang bertujuan untuk menghentikan reaksi dan menetralkan campuran. Campuran kemudian disentrifus 3000 rpm selama 5 menit, lalu sebanyak 1,0 μl lapisan (atas) toluen diinjeksikan ke dalam alat kromatografi gas.

Pada percobaan ini digunakan larutan standar asam palmitat 101,3 $\mu\text{g/ml}$. Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190°C, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit. Dari hasil analisis ini tampak bahwa palmitat termetilasi muncul pada waktu retensi 6,723 menit.

4.1.3 Penentuan Waktu Retensi Metil Oleat

Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan asam oleat yang dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dengan 200 μl asetil klorida sebagai katalisator, dan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100° C selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dan ditambahkan dengan larutan kalium karbonat 6% yang bertujuan untuk menghentikan reaksi dan menetralkan campuran. Campuran kemudian disentrifus 3000 rpm selama 5 menit, lalu sebanyak 1,0 μl lapisan (atas) toluen diinjeksikan ke dalam alat kromatografi gas.

Pada percobaan ini digunakan larutan standar asam oleat 103,4 $\mu\text{g/ml}$. Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190°C, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C, laju

alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit. Dari hasil analisis ini tampak bahwa oleat termetilasi muncul pada waktu retensi 9,767 menit

4.1.4 Penentuan Waktu Retensi Campuran Metil Laurat, Metil Palmitat, dan Metil Oleat

Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan larutan campuran asam laurat, asam palmitat, dan asam oleat yang dilarutkan dalam metanol-toluen 4:1 (v/v) dengan 200 μ l asetil klorida sebagai katalisator, dan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dan ditambahkan dengan larutan kalium karbonat 6% yang bertujuan untuk menghentikan reaksi dan menetralkan campuran. Campuran kemudian disentrifus 3000 rpm selama 5 menit, lalu sebanyak 1,0 μ l lapisan (atas) toluen diinjeksikan ke dalam alat kromatografi gas.

Pada percobaan ini digunakan larutan standar asam laurat 100,6 μ g/ml, asam palmitat 101,3 μ g/ml, asam oleat 103,4 μ g/ml. Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190°C, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit. Dari hasil analisis ini tampak bahwa laurat termetilasi muncul pada waktu retensi 4,309 menit, palmitat termetilasi muncul pada waktu retensi 6,723 menit, oleat termetilasi muncul pada waktu retensi 9,789 menit

4.1.5 Pemilihan Suhu Awal Kolom untuk Analisis Campuran Metil Laurat, Metil Oleat, dan Metil Palmitat

Optimasi kondisi analisis perlu dilakukan untuk mendapatkan kondisi analisis yang memiliki ketepatan dan ketelitian yang baik. Kondisi analisis yang diharapkan adalah kondisi analisis yang dapat menghasilkan waktu retensi yang singkat serta

pemisahan yang baik. Parameter yang digunakan untuk memilih kondisi analisis optimum adalah jumlah pelat teoritis (N), HETP, waktu retensi (tR), pemisahan (resolusi), dan faktor ikutan (Tf). Jumlah pelat teoritis dan HETP merupakan parameter untuk mengukur efisiensi kolom, dimana bila suatu metode memiliki nilai efisiensi kolom yang tinggi maka pemisahan yang terjadi juga akan baik. Suatu metode memiliki efisiensi kolom yang baik bila nilai N tinggi atau HETP kecil. Parameter yang divariasikan pada proses optimasi ini adalah suhu kolom dan laju alir gas pembawa. Pertimbangan untuk variasi suhu awal kolom disesuaikan dengan titik didih senyawa yang akan dianalisis dan fase diam yang digunakan yaitu VB-Wax yang memiliki suhu minimum 10-30°C dan suhu maksimum 225°C. Jika suhu kolom di bawah suhu minimum maka fase diam yang digunakan akan memadat, sedangkan jika suhu terlalu tinggi maka fase diam akan terurai perlahan-lahan.

Suhu injektor dan suhu detektor pada metode analisis ditetapkan 230°C dan 250°C. Penetapan suhu injektor harus diatur lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum sehingga seluruh sampel dapat menguap segera setelah sampel disuntikkan. Suhu detektor biasanya 15-30°C lebih tinggi dari titik didih senyawa yang dianalisis dan disesuaikan dengan detektor yang digunakan. Untuk detektor ionisasi nyala, suhu detektor harus diatas 100°C bertujuan untuk mencegah terjadinya kondensasi uap air sehingga mengakibatkan pengkaratan pada detektor ionisasi nyala atau penghilangan (penurunan) sensitivitasnya (Gandjar & Rohman, 2007).

Pada proses optimasi ini suhu awal kolom divariasikan 160, 170, dan 180 °C. Ketiga macam suhu ini dipilih karena berdasarkan hasil percobaan, puncak kromatogram laurat, palmitat, dan oleat termetilasi muncul pada range suhu 150-200°C.

Dari ketiga macam suhu ini kemudian ditetapkan suhu optimum untuk analisis, yaitu suhu awal kolom yang menghasilkan kromatogram dengan jumlah pelat teoritis (N) terbanyak, HETP terkecil, faktor ikutan (Tf) yang kecil, resolusi yang baik, dan

waktu retensi yang singkat. Dari hasil percobaan, diperoleh kondisi analisis optimum untuk penetapan kadar laurat, palmitat, dan oleat termetilasi adalah pada suhu awal kolom 170°C.

Berdasarkan percobaan memvariasikan suhu kolom terlihat bahwa semakin tinggi suhu kolom, maka waktu retensi asam lemak termetilasi semakin cepat. Hal ini disebabkan semakin tinggi suhu kolom, maka komponen sampel akan lebih cepat menguap dan terbawa oleh gas pembawa sehingga waktu kontak dengan sampel dengan fase diam menjadi lebih singkat.

4.1.6 Pemilihan Laju Alir Gas Pembawa untuk Analisis Campuran Metil Laurat, Metil Oleat, dan Metil Palmitat

Setelah didapatkan suhu optimum, hal yang selanjutnya dilakukan adalah memvariasikan laju alir gas pembawa. Laju alir gas pembawa (He) dibuat bervariasi yaitu 1,0 ; 1,2 ; dan 1,4 ml/menit. Pertimbangan variasi laju alir gas pembawa adalah diameter kolom yang digunakan. Pada penelitian ini kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dengan diameter kecil sehingga laju alir yang digunakan memiliki rentang antara 0,2-2 ml/menit.

Berdasarkan hasil percobaan ini kemudian ditetapkan laju alir optimum, yaitu laju alir dimana dihasilkan kromatogram dengan jumlah plat teoritis (N) terbanyak, HETP terkecil, faktor ikutan (Tf) yang kecil, resolusi yang baik, serta waktu retensi yang singkat.

Pada percobaan memvariasikan laju alir gas pembawa terlihat bahwa semakin cepat laju alir gas, maka waktu retensi asam lemak termetilasi semakin singkat. Berdasarkan hasil percobaan laju alir gas yang digunakan untuk menghasilkan kondisi analisis optimum adalah 1,2 ml/menit. Dengan demikian, kondisi analisis optimum untuk analisis laurat, palmitat, dan oleat termetilasi ditetapkan pada suhu awal kolom 170-190°C, dengan kenaikan suhu 2°C /menit;

dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit. Waktu retensi metil laurat, metil palmitat, dan metil oleat masing-masing adalah 4,309 menit ; 6,727 menit ; 9,702 menit.

4.2 Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem perlu dilakukan sebelum metode analisis terpilih dilaksanakan. Secara normal terdapat variasi dalam peralatan dan teknik analisis sehingga uji kesesuaian sistem perlu dilakukan untuk memastikan sistem operasional akhir adalah efektif dan memberikan hasil yang sesuai dengan tujuan analisis. Uji kesesuaian sistem dilaksanakan dengan melakukan penyuntikan 1,0 μl lapisan (atas) toluen yang mengandung hasil esterifikasi campuran asam lemak pada kondisi analisis terpilih sebanyak 6 kali berturut-turut.

4.3 Validasi Metode Analisis

4.3.1 Uji Linearitas dan Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan pada konsentrasi asam laurat 829 ; 2073 ; 2304 ; 2880 ; 3600 ; 4000 $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi asam palmitat 144 ; 360 ; 400 ; 500 ; 626 ; 695 $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi asam oleat 304 ; 760 ; 845 ; 1056 ; 1320 ; 1467 $\mu\text{g/ml}$. Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 17, Gambar 18, dan Gambar 19.

4.3.2. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi untuk metil laurat yang diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi adalah 1189 $\mu\text{g/ml}$ dan batas kuantitasi adalah 3963 $\mu\text{g/ml}$, untuk metil palmitat batas deteksinya adalah 679,8 $\mu\text{g/ml}$ dan batas kuantitasnya adalah 54,06 $\mu\text{g/ml}$, untuk metil oleat batas deteksinya adalah 43,00 $\mu\text{g/ml}$ dan batas kuantitasnya adalah 144,79 $\mu\text{g/ml}$.

4.3.3 Uji Selektivitas

Uji selektivitas digunakan untuk melihat kemungkinan adanya gangguan di sekitar waktu retensi asam lemak termetilasi. Uji selektivitas dilakukan dengan menyuntikkan hasil esterifikasi dari plasebo yang tidak mengandung asam lemak (hasil esterifikasi blanko). Hasil uji menunjukkan bahwa metode ini selektif karena tidak terdapat gangguan pada waktu retensi zat aktif.

4.3.4 Uji Perolehan Kembali (Akurasi)

Uji perolehan kembali dilakukan dengan metode simulasi, yaitu dengan membuat plasebo sampel yang mengandung sejumlah standar asam laurat, palmitat, oleat yang telah diketahui kadarnya, lalu dianalisis dengan kondisi analisis terpilih. Persen perolehan kembali ditentukan dengan membandingkan hasil dari perhitungan dan hasil yang sebenarnya. Pada percobaan ini digunakan konsentrasi asam laurat 1840 $\mu\text{g/ml}$; 2300 $\mu\text{g/ml}$; 2760 $\mu\text{g/ml}$. Konsentrasi asam palmitat 320 $\mu\text{g/ml}$; 400 $\mu\text{g/ml}$; 480 $\mu\text{g/ml}$ Konsentrasi asam oleat 676 $\mu\text{g/ml}$; 845 $\mu\text{g/ml}$; 1014 $\mu\text{g/ml}$. Pada masing-masing konsentrasi dilakukan esterifikasi dengan metode Lepage sebanyak 6 kali. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 3, tabel 4, dan tabel 5.

4.3.5 Uji Keterulangan (Presisi)

Uji keterulangan dilakukan pada metode esterifikasi. Uji keterulangan diperlukan untuk memastikan bahwa hasil analisis yang diperoleh tepat, berdasarkan kemiripan hasil yang diperoleh bila analisis dilakukan berkali-kali. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai koefisien variasi (KV) 2% atau kurang. Presisi metode esterifikasi dilakukan dengan melakukan esterifikasi asam Laurat, palmitat, dan oleat yang ditambahkan ke dalam plasebo minyak gosok sebanyak 6 kali secara terpisah. Asam Laurat, palmitat, dan oleat dalam plasebo dengan 3 konsentrasi berbeda (rendah, sedang dan tinggi) seperti yang dilakukan pada uji

akurasi diesterifikasi dengan metode Lepage hingga didapatkan bentuk asam lemak termetilasi.

Pada penelitian ini, hasil uji presisi memperlihatkan bahwa semua nilai koefisien variasi di bawah 2%. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil pengukuran yang satu dengan yang lain memiliki selisih yang kecil sehingga metode ini memenuhi kriteria seksama. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 3, tabel 4, dan tabel 5.

4.4 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Laurat, Asam Palmitat, dan Asam Oleat dalam Oleum Cocos, Oleum Olivarum, dan Oleum Sesami

4.4.1 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak dalam Oleum Cocos

4.4.1.1 Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif bertujuan untuk memeriksa ada atau tidaknya asam lemak di dalam sampel. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi dari sampel dengan standar. Oleum cocos yang mengandung asam lemak, terutama asam laurat dan asam palmitat diesterifikasi menggunakan metode Lepage. Hasil esterifikasi kemudian dianalisis pada kondisi analisis optimum. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam oleum cocos terdapat asam laurat dan asam palmitat dengan waktu retensi masing-masing 4,311 menit dan 6,783 menit.

4.4.1.2 Analisis Kuantitatif

Penetapan kadar asam lemak dalam oleum cocos dilakukan dengan cara yang sama dengan uji perolehan kembali. Oleum cocos ditimbang dan dilarutkan dalam metanol-toluen (4:1), kemudian diesterifikasi dengan metode Lepage. Lapisan toluen

hasil esterifikasi sebanyak 1,0 μ l kemudian disuntikan ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi analisis optimum dan kemudian dihitung kadarnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar rata-rata asam laurat dalam oleum cocos yang dianalisa adalah 46,07 % ; kadar rata-rata asam palmitat 8,03 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar asam lemak dalam oleum cocos memenuhi standar yang telah ditetapkan.

4.4.2 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak dalam Oleum Olivarum

4.4.2.1 Analisis Kualitatif

Oleum olivarum yang mengandung asam lemak, terutama asam oleat dan asam palmitat diesterifikasi menggunakan metode Lepage. Hasil esterifikasi kemudian dianalisis pada kondisi analisis optimum. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam oleum olivarum terdapat asam oleat dan asam palmitat dengan waktu retensi masing-masing 9,716 menit dan 6,783 menit.

4.4.2.2 Analisis Kuantitatif

Penetapan kadar asam lemak dalam oleum olivarum dilakukan dengan cara yang sama dengan uji perolehan kembali. Oleum olivarum ditimbang dan dilarutkan dalam metanol-toluen (4:1), kemudian diesterifikasi dengan metode Lepage. Lapisan toluen hasil esterifikasi sebanyak 1,0 μ l kemudian disuntikan ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi analisis optimum dan kemudian dihitung kadarnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar rata-rata asam oleat adalah 54,98 % ; kadar rata-rata asam palmitat 8,00 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar asam lemak dalam oleum olivarum memenuhi standar yang telah ditetapkan.

4.4.3 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak dalam Oleum Sesami

4.4.3.1 Analisis Kualitatif

Oleum sesami yang mengandung asam lemak, terutama asam oleat dan asam palmitat diesterifikasi menggunakan metode Lepage. Hasil esterifikasi kemudian dianalisis pada kondisi analisis optimum. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam oleum sesami terdapat asam oleat dan asam palmitat dengan waktu retensi masing-masing 9,745 menit dan 6,764 menit.

4.4.3.2 Analisis Kuantitatif

Penetapan kadar asam lemak dalam oleum sesami dilakukan dengan cara yang sama dengan uji perolehan kembali. Oleum sesami ditimbang dan dilarutkan dalam metanol-toluen (4:1), kemudian diesterifikasi dengan metode Lepage. Lapisan toluen hasil esterifikasi sebanyak 1,0 μ l kemudian disuntikan ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi analisis optimum dan kemudian dihitung kadarnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar rata-rata asam oleat adalah 41,39 % ; kadar rata-rata asam palmitat 11,69 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar asam lemak dalam oleum sesami memenuhi standar yang telah ditetapkan.

4.5 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Minyak Lemak dalam Sampel Obat Gosok

4.5.1 Analisis Kualitatif

Sampel obat gosok diesterifikasi menggunakan metode Lepage. Hasil esterifikasi kemudian dianalisis pada kondisi analisis optimum. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam sampel A terdapat asam laurat dan asam palmitat dengan

waktu retensi masing-masing 4,322 menit dan 6,789 menit, sampel B terdapat asam oleat dan asam palmitat dengan waktu retensi masing-masing 9,711 menit dan 6,765 menit, sampel C tidak mengandung asam lemak.

4.5.2 Analisis Kuantitatif

Penetapan kadar minyak lemak dalam sampel obat gosok dilakukan dengan cara yang sama dengan uji perolehan kembali. Sampel ditimbang dan dilarutkan dalam metanol-toluen (4:1), kemudian diesterifikasi dengan metode Lepage. Lapisan toluen hasil esterifikasi sebanyak 1,0 μ l kemudian disuntikan ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi analisis optimum dan kemudian dihitung kadarnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, sampel A mengandung minyak kelapa dengan kadar rata-rata 49,95% , sampel B mengandung minyak zaitun dengan kadar rata-rata 18,99% , sampel C tidak mengandung minyak lemak.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

5.1.1 Kondisi Optimum

Kondisi optimum untuk analisis laurat, palmitat, dan oleat termetilasi secara kromatografi gas adalah:

5.1.1.1 Suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C dan suhu detektor 250⁰C

5.1.1.2 Laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

5.1.1.3 Waktu retensi laurat termetilasi adalah 4,311 menit, waktu retensi palmitat termetilasi adalah 6,723 menit, waktu retensi oleat termetilasi adalah 9,746 menit.

5.1.2 Analisa Minyak Lemak dan Sampel Obat Gosok

Dari hasil analisis, kadar rata-rata asam laurat dan asam palmitat dalam oleum cocos berturut-turut adalah 46,07 % dan 8,03 %. Kadar rata-rata asam oleat dan asam palmitat dalam oleum olivarum berturut-turut adalah 54,98 % dan 8,00 %. Kadar rata-rata asam oleat dan asam palmitat dalam oleum sesami berturut-turut adalah 41,39 % ; % dan 11,69 %. Sampel A mengandung minyak kelapa dengan kadar rata-rata 49,95% , sampel B mengandung minyak zaitun dengan kadar rata-rata 18,99% , sampel C tidak mengandung minyak lemak.

5.2. Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi pada metode esterifikasi Lepage yaitu waktu pemanasan dalam oven dan waktu vortex.

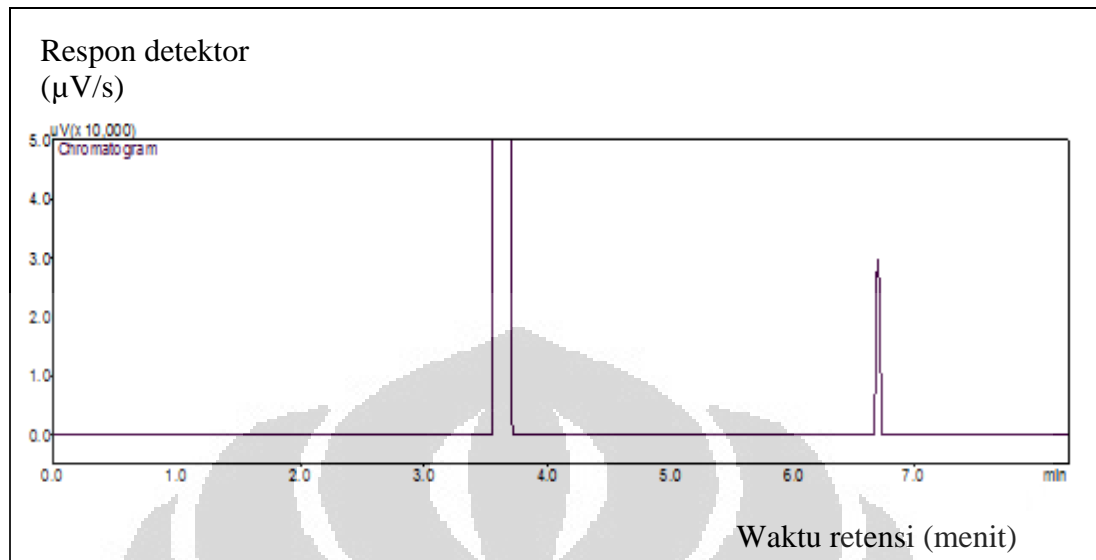
DAFTAR ACUAN

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1978). *Formularium Nasional Edisi Kedua*. Jakarta
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta
- Windolz,Martha.et.al.(1976).*The Merck Index : An Encyclopedia of Chemical and Drugs, 9th edition*. USA : Merck and co.inc.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta
- Anonim.2007. *British Pharmacopeia 5th edition*. London : Crown Copyright. p.915
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Lepage, G., & Roy, C. C. (1986). *Direct Transesterification of All Classes of Lipids in A-One-Step Reaction*. Journal of Lipid Research, 27, 114-120.
- Umar Santoso, Kazuhiro Kubo, Toru Ota, Tadahiro Tadokoro & Akio Maekawa.(1996). *Nutrient Composition of Kopyor Coconuts (Cocos nucifera L.)*. Food Chemistry, 57 (2), 299-304
- Dong-Sun Lee, Bong-Soo Noh, Sun-Young Bae, dan Kun Bim.(1997). *Characterization of fatty acids composition in vegetableoils by gas chromatography and chemometrics*. Analytica Chimica Acta 358, 163-175
- K. Chowdhury, L. A. Banu, S. Khan, dan A. Latif.(2007). *Studies on the Fatty Acid Composition of Edible Oil*. Bangladesh J. Sci. Ind. Res. 42(3), 311-316
- Kapila N. Seneviratne dan DMS Dissanayake (2005). *Effect of Method of Extraction on the Quality of Coconut Oil*. J.Sci.Univ.Kelaniya 2 , 299-304
- McNair, H. M. & Miller, J. M. (1998). *Basic Gas Chromatography*. New York: John Willey & Sons.

- O'Brien, Richard D.(2009).*Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications, 3th edition*. London: CRC Press
- Harmita. (2006). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Galichet, L. Y. (Ed.). (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical Press.
- Watty,V.2006.*Analisis Asam Laurat dan Asam Miristat dalam Virgin Coconut Oil secara Kromatografi Gas*. Depok : Skripsi Departemen Farmasi FMIPA UI
- Guenther , Ernest, PH.D. *The Essential Oil*. New York : Robert E. Krieger Publishing Company , 1975. Vol.2 : 577-579



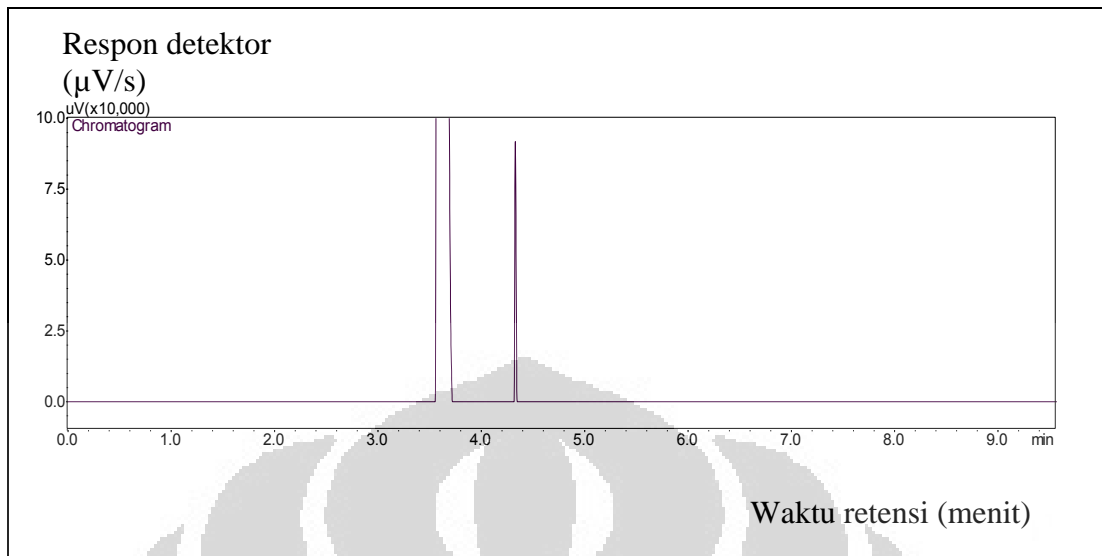




Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

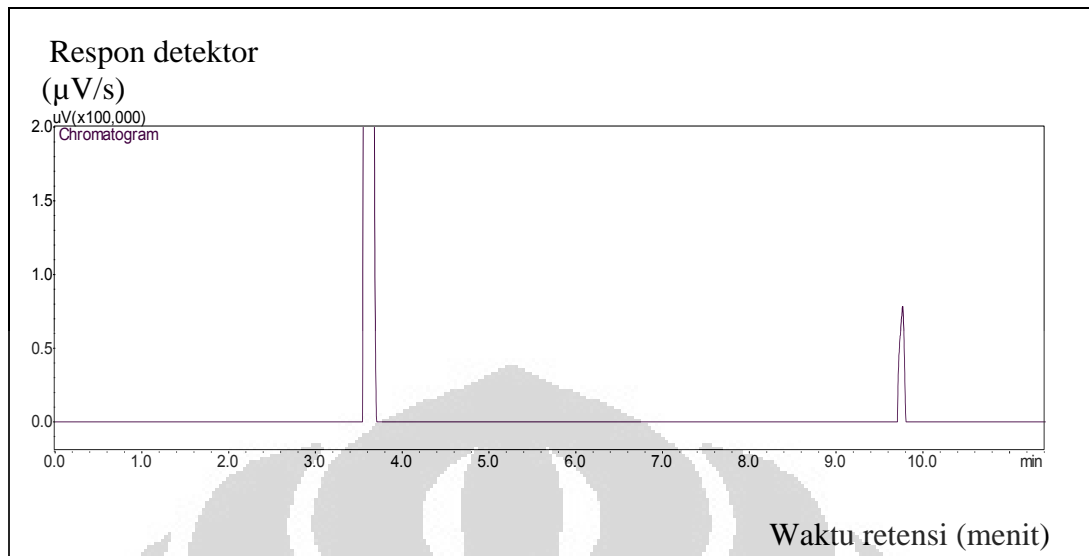
Gambar 1. Kromatogram metil pamiat dengan konsentrasi 101,3 $\mu\text{g/ml}$.



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2$ ml/menit

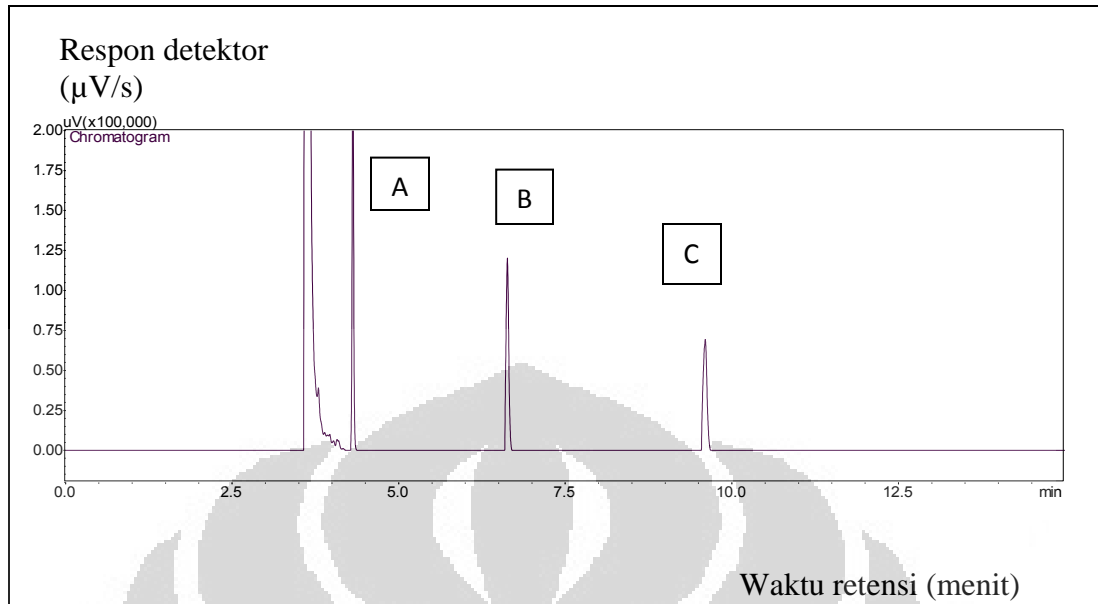
Gambar 2. Kromatogram metil laurat dengan konsentrasi $100,6$ $\mu\text{g/ml}$.



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2 \text{ ml}/\text{menit}$

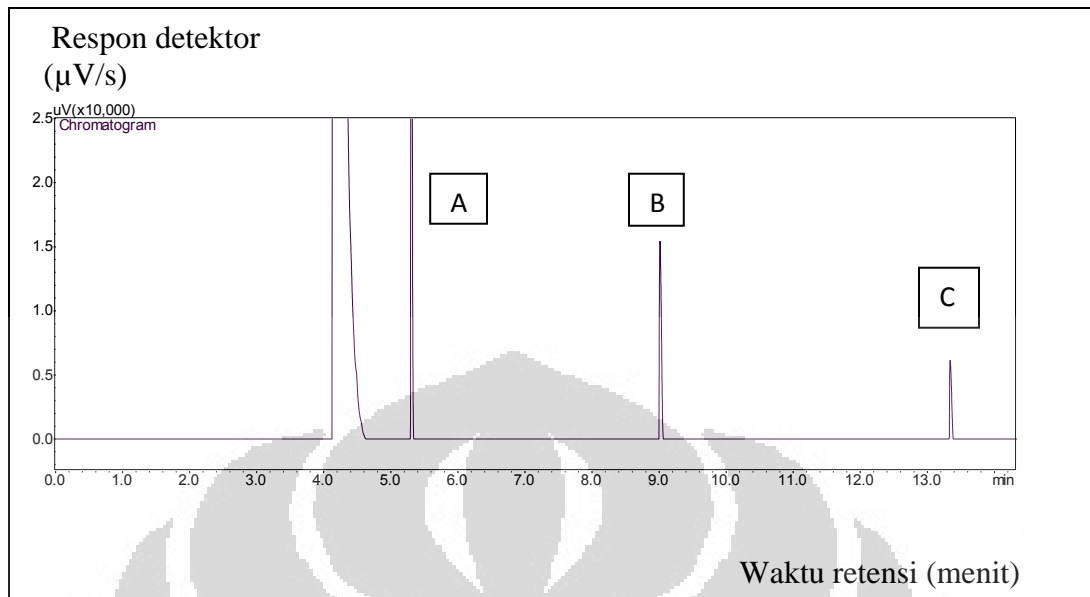
Gambar 3. Kromatogram metil oleat dengan konsentrasi $103,4 \mu\text{g}/\text{ml}$.



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

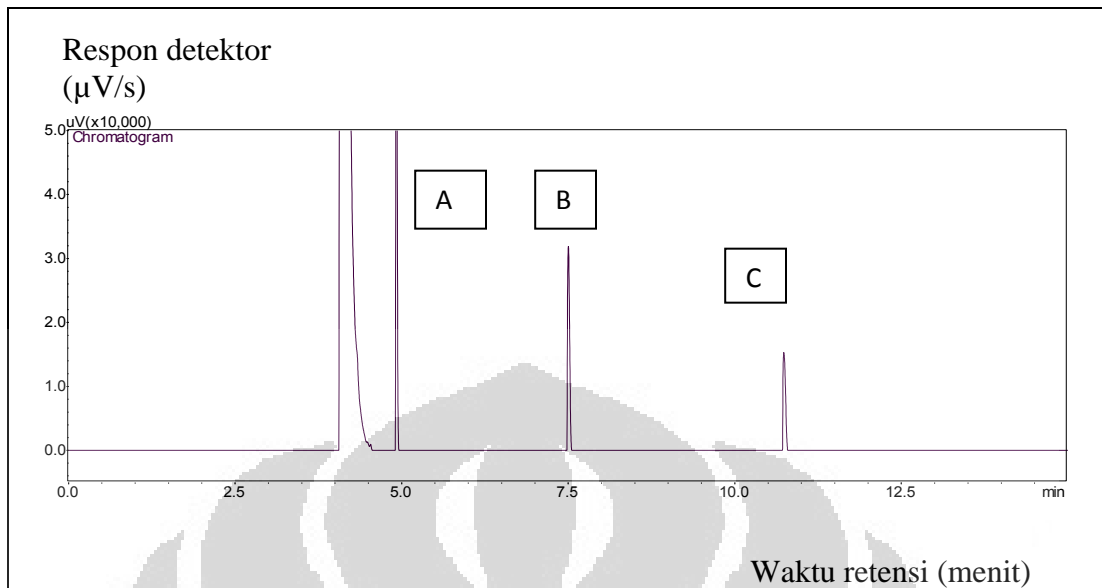
Gambar 4. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $160\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,0\text{ ml/menit}$

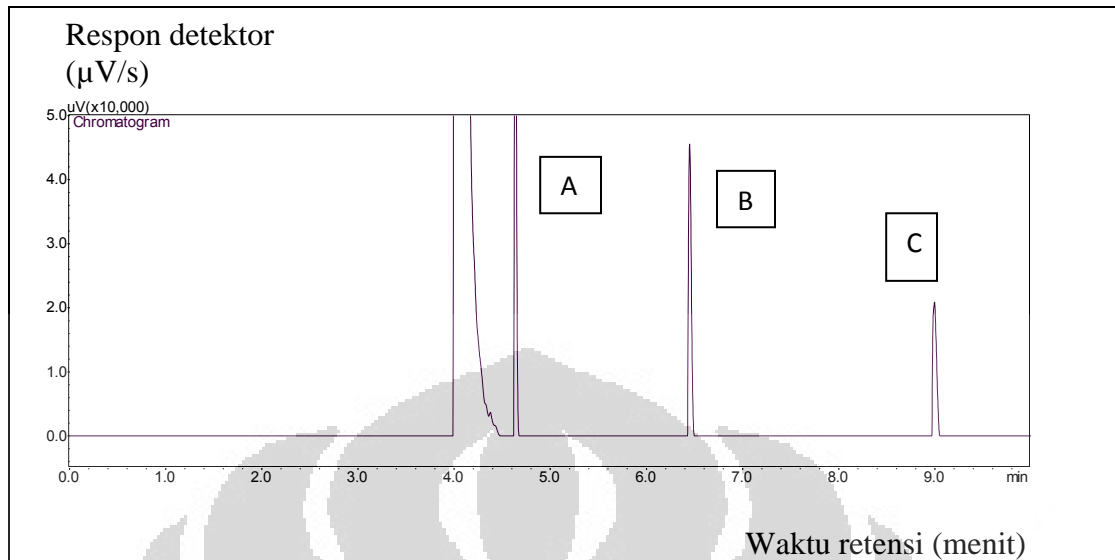
Gambar 5. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,0\text{ ml/menit}$

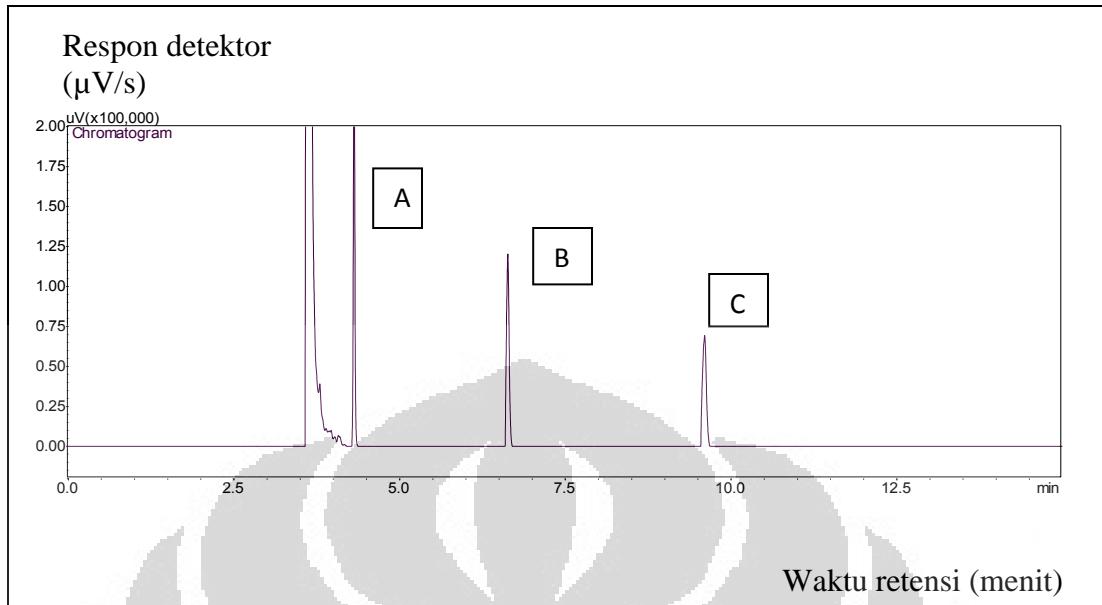
Gambar 6. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $180-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,0 \text{ ml}/\text{menit}$

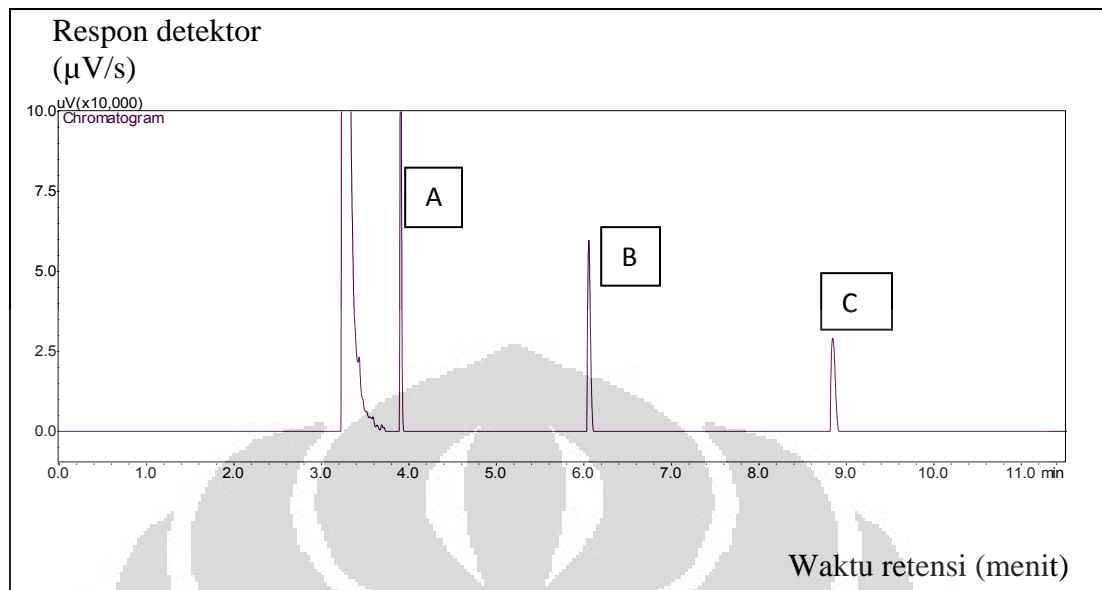
Gambar 7. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2 \text{ ml}/\text{menit}$

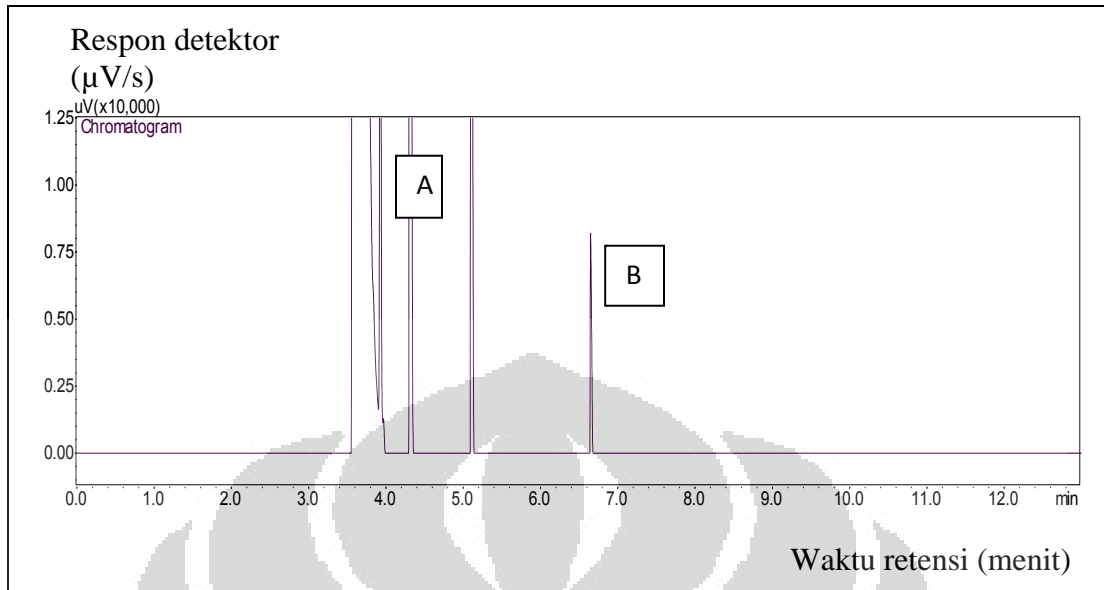
Gambar 8. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,4 \text{ ml}/\text{menit}$

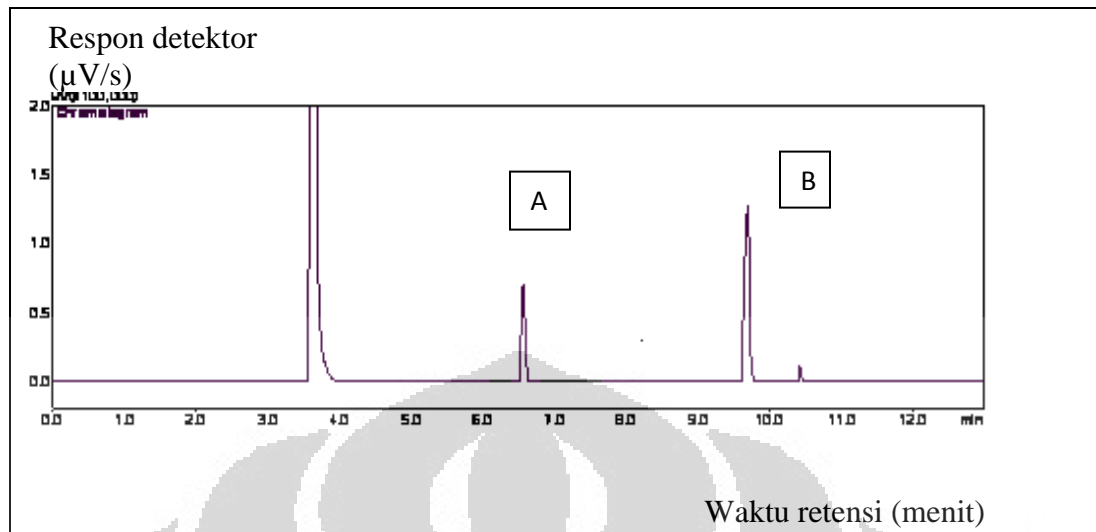
Gambar 9. Kromatogram campuran metil laurat (A), metil palmitat (B), dan metil oleat (C)



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170-190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2$ ml/menit

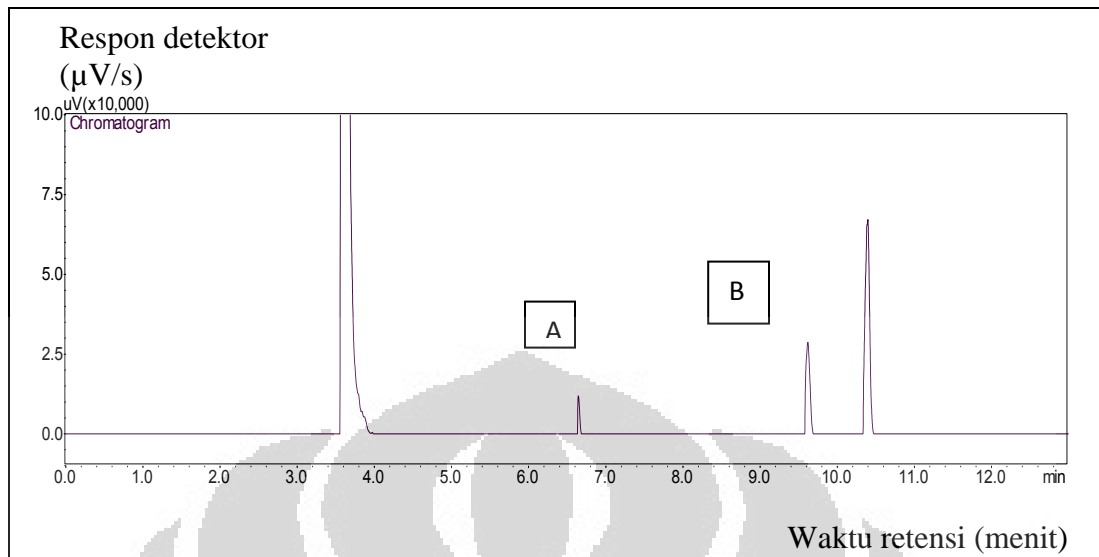
Gambar 10. Kromatogram metil laurat (A) dan metil palmitat (B) dalam oleum cocos, jumlah oleum cocos yang ditimbang $0,5000$ gram



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2\text{ ml/menit}$

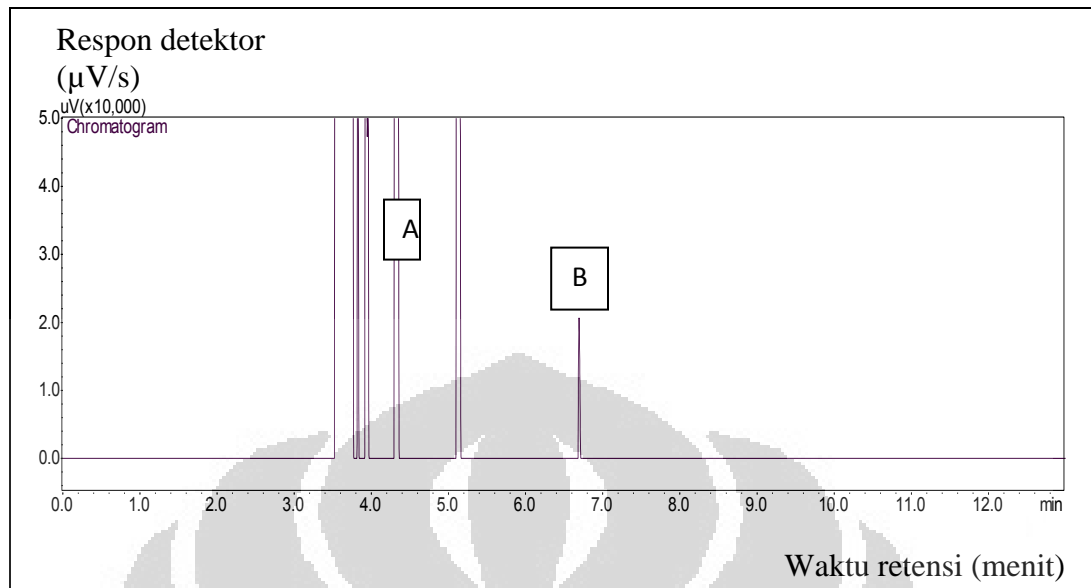
Gambar 11. Kromatogram metil palmitat (A) dan metil oleat (B) dalam oleum olivarum, jumlah oleum olivarum yang ditimbang $0,5224$



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{--}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2\text{ ml}/\text{menit}$

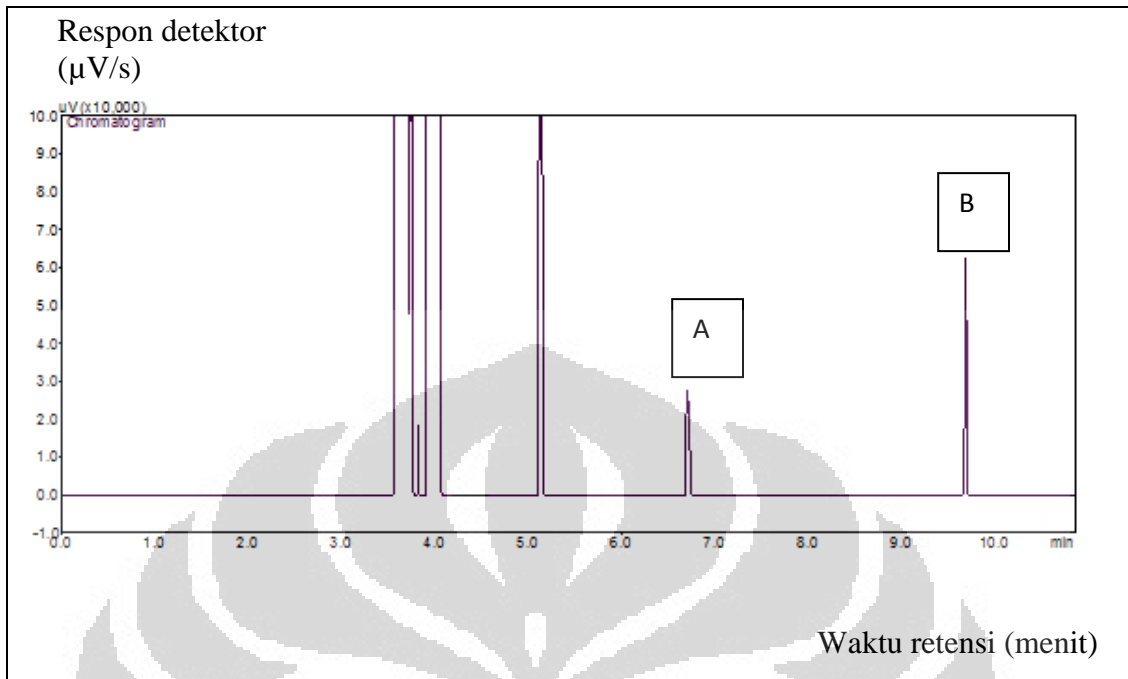
Gambar 12. Kromatogram metil palmitat (A) dan metil oleat (B) dalam oleum sesami, jumlah oleum sesami yang ditimbang $0,5047\text{ gram}$



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2\text{ ml/menit}$

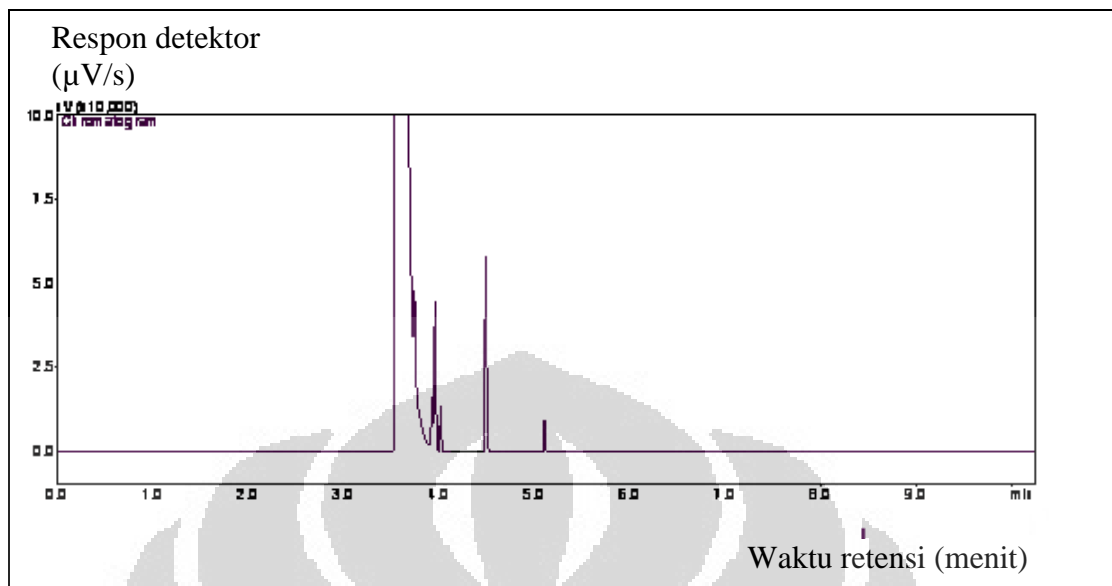
Gambar 13. Kromatogram metil laurat (A) dan metil palmitat (B) dalam sampel A, jumlah yang ditimbang $1,1034\text{ gram}$



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2\text{ ml/menit}$

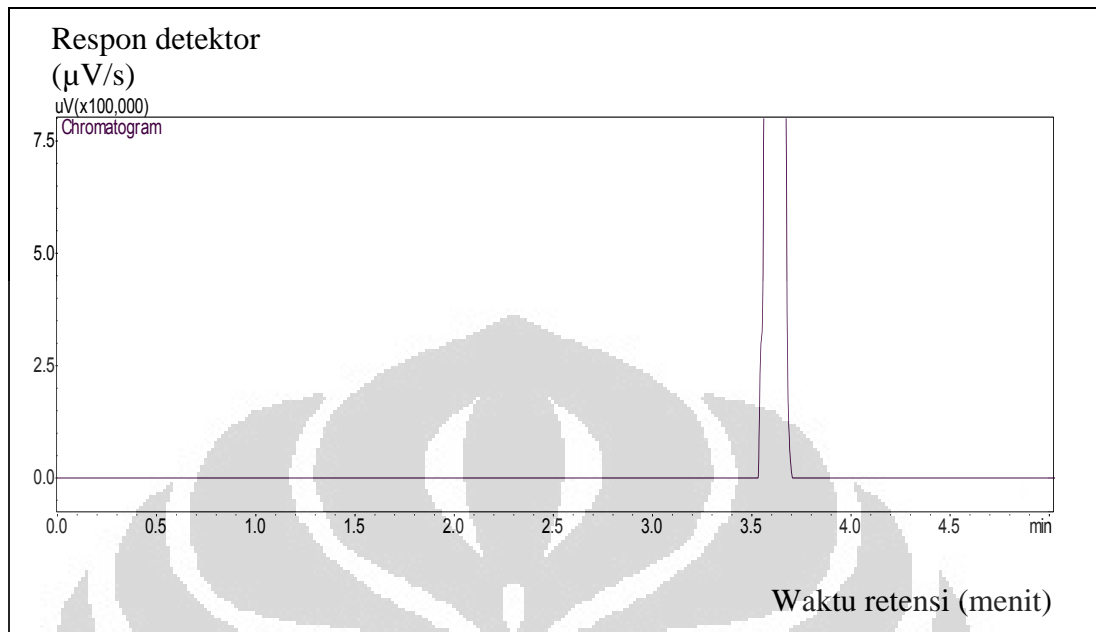
Gambar 14. Kromatogram metil palmitat (A) dan metil oleat (B) dalam sampel B, jumlah yang ditimbang $1,0529\text{ gram}$



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom $170\text{-}190^{\circ}\text{C}$, dengan kenaikan suhu 2°C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur $1,2\text{ ml/menit}$

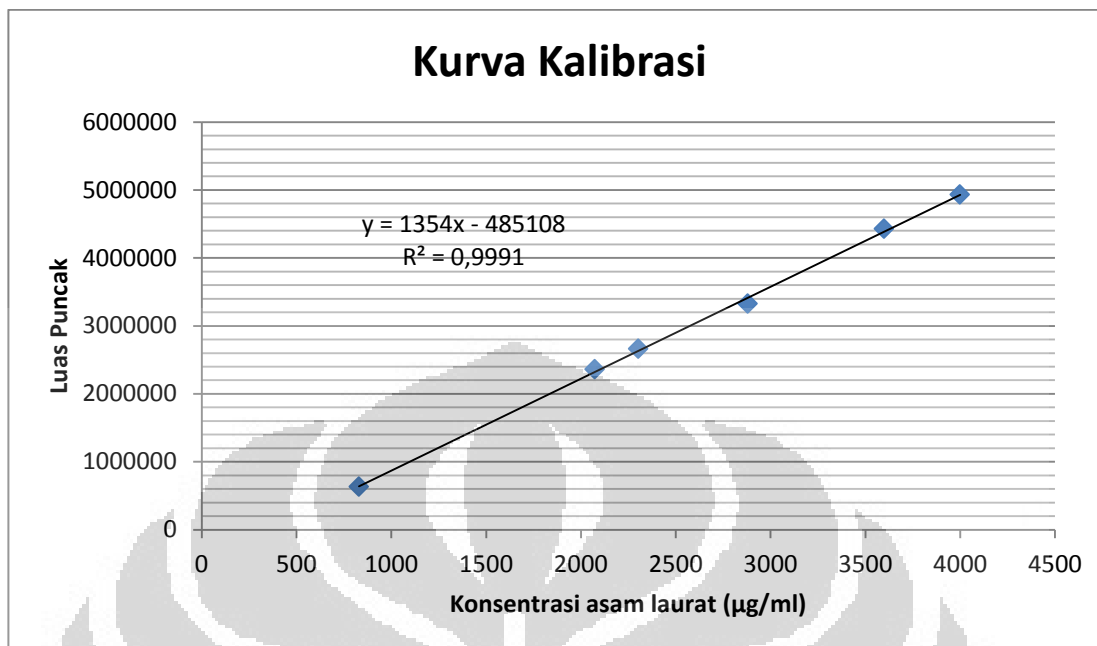
Gambar 15. Kromatogram sampel C, jumlah yang ditimbang $1,0133\text{ gram}$



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

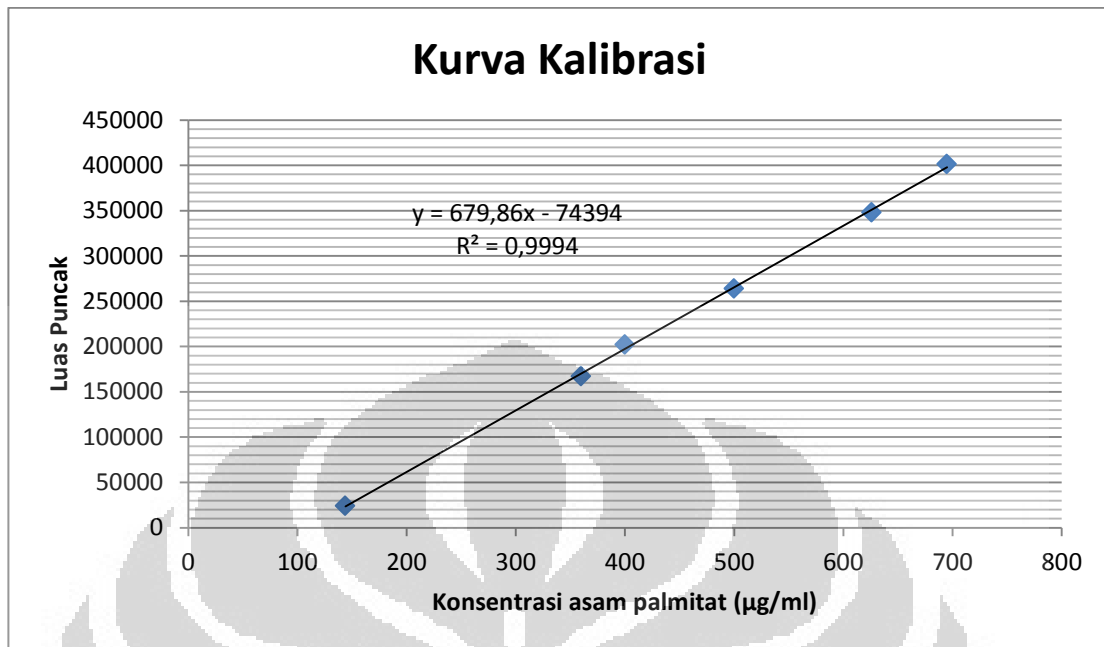
Gambar 16. Kromatogram plasebo minyak gosok yang diesterifikasi tanpa penambahan asam laurat, palmitat, dan oleat (blanko).



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

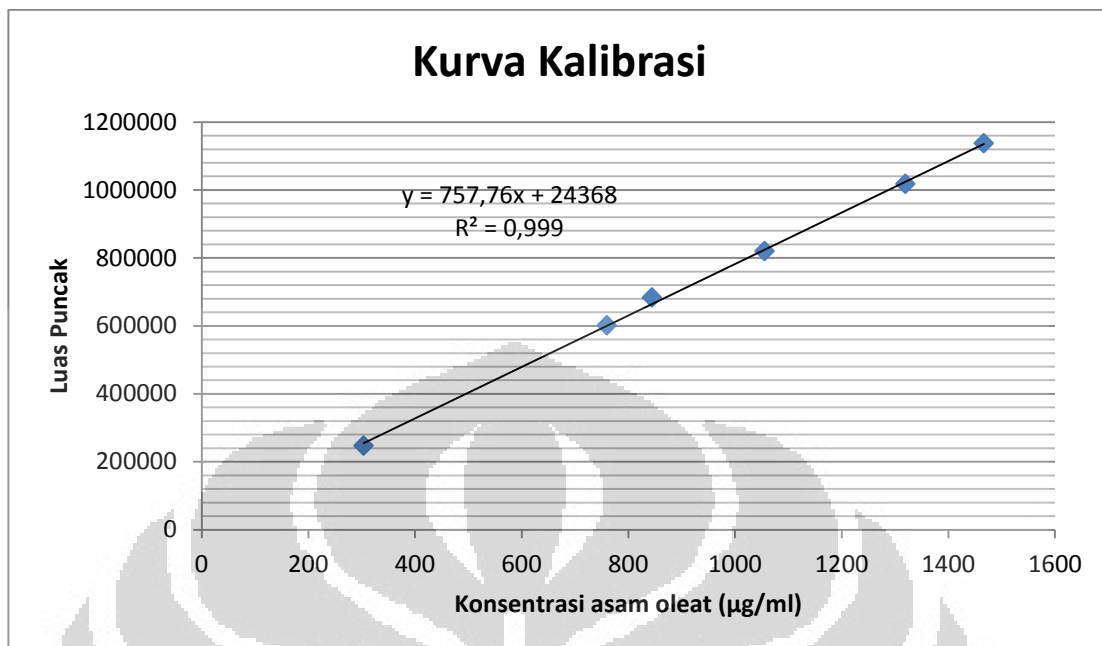
Gambar 17. Kurva kalibrasi asam laurat pada kondisi analisis



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Gambar 18. Kurva kalibrasi asam palmitat pada kondisi analisis.



Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Gambar 19. Kurva kalibrasi asam oleat pada kondisi analisis.



Tabel 1. Hubungan antara waktu retensi, jumlah lempeng teoritis, efisiensi kolom, faktor ikutan, dan resolusi kromatogram laurat, palmitat, dan oleat termetilasi terhadap perubahan suhu awal kolom

Suhu awal kolom (°C)	160 °C			170 °C			180 °C		
	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat
Waktu retensi (menit)	5,308	9,015	13,341	4,922	7,503	10,736	4,637	6,449	8,995
Plat teoritis (plat)	307359	341366	885605	246833	222348	319369	201328	198427	195347
HETP (cm/plat)	0,0195	0,0175	0,0067	0,024	0,026	0,0187	0,0298	0,0302	0,0307
Faktor ikutan (Tf)	1,437	1,672	2,174	1,305	1,467	1,780	1,438	1,222	1,758
Resolusi (R)	20,649	74,336	73,251	14,358	50,118	46,441	10,833	37,764	37,024
Luas puncak ($\mu\text{V/s}$)	80841	32688	12026	122500	70681	40112	142545	92887	57516

Keterangan:

Analisis dilakukan dengan kenaikan suhu 2°C /menit sampai suhu 190°C ; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230°C ; suhu detektor 250°C , laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 2. Hubungan antara waktu retensi, jumlah lempeng teoritis, efisiensi kolom, faktor ikutan, dan resolusi kromatogram laurat, palmitat, dan oleat termetilasi terhadap perubahan laju alir gas

Laju alir (ml/menit)	1,0			1,2			1,4		
	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat	Metil laurat	Metil palmitat	Metil oleat
Waktu retensi (menit)	4,922	7,503	10,736	4,312	6,731	9,700	3,906	6,056	8,844
Plat teoritis (plat)	246833	222348	319369	178329	114054	107145	212701	150055	147322
HETP (cm/plat)	0,024	0,026	0,0187	0,033	0,052	0,055	0,028	0,039	0,04
Faktor ikutan (Tf)	1,305	1,467	1,780	1,234	1,543	1,375	1,567	1,351	1,125
Resolusi (R)	14,358	50,118	46,441	13,208	38,959	30,399	15,23	44,732	36,132
Luas puncak ((μ V/s)	122500	70681	40112	420508	339576	283910	179421	131936	93524

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C.

Tabel 3. Data uji akurasi dan presisi asam laurat dalam plasebo minyak gosok

Konsentrasi asam laurat ($\mu\text{g/ml}$)	Luas puncak laurat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi hasil penentuan ($\mu\text{g/ml}$)	UPK (%)	Rataan (%)	SD	KV (%)
1840	3760288	1807,30	98,22	3779490	15638	0,41
	3769325	1823,11	99,08			
	3772661	1828,95	99,39			
	3778254	1838,73	99,93			
	3797225	1871,92	101,73			
	3799188	1875,36	101,92			
2300	4019273	2260,41	98,27	4044134	13364	0,33
	4041289	2298,93	99,95			
	4045231	2305,83	100,25			
	4048564	2311,66	100,51			
	4055221	2323,31	101,01			
	4055231	2323,32	101,01			
2760	4288541	2731,52	98,96	4304330	13600	0,31
	4287951	2730,48	98,93			
	4307554	2764,78	100,17			
	4307114	2764,01	100,14			
	4312571	2773,56	100,49			
	4322254	2790,50	101,10			

Kondisi:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 4. Data uji akurasi dan presisi asam palmitat dalam plasebo minyak gosok

Konsentrasi asam palmitat ($\mu\text{g/ml}$)	Luas puncak palmitat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi hasil penentuan ($\mu\text{g/ml}$)	UPK (%)	Rataan (%)	SD	KV (%)
320	120664	318,46	99,52	120701	654	0,54
	120105	314,27	98,21			
	120067	313,99	98,12			
	121741	326,54	102,00			
	120447	316,84	99,00			
	121187	322,39	100,74			
400	131887	402,66	100,66	131412	364	0,27
	131141	397,06	99,26			
	131147	397,11	99,27			
	130991	395,94	98,98			
	131621	400,66	100,16			
	131687	401,16	100,29			
480	140991	470,96	98,11	141918	899	0,63
	141203	472,55	98,44			
	141217	472,65	98,46			
	142227	480,23	100,04			
	142988	485,94	101,23			
	142887	485,18	101,07			

Kondisi :

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 5. Data uji akurasi dan presisi asam oleat dalam plasebo minyak gosok

Konsentrasi asam oleat ($\mu\text{g/ml}$)	Luas puncak oleat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi hasil penentuan ($\mu\text{g/ml}$)	UPK (%)	Rataan (%)	SD	KV (%)
676	401221	678,43	100,36	401895	781	0,19
	402112	680,27	100,63			
	402981	682,06	100,89			
	400989	677,95	100,28			
	402541	681,15	100,76			
	401531	679,07	100,45			
845	477939	836,94	99,04	478339	555	0,11
	477921	836,90	99,04			
	478546	838,19	99,19			
	478774	838,66	99,25			
	479122	839,38	99,33			
	477735	836,51	98,99			
1014	560832	1008,20	99,42	561879	876	0,15
	561782	1010,16	99,62			
	562223	1011,08	99,71			
	562661	1011,98	99,80			
	562889	1012,45	99,84			
	560888	1008,32	99,44			

Kondisi :

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 6 Data hasil perhitungan berat jenis oleum cocos

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi oleum cocos dan kosong (gram)	Berat jenis oleum cocos (g/ml)	Rata-rata berat jenis oleum cocos (g/ml)
9,8836	9,0895	0,9196	0,9194
9,8854	9,0893	0,9194	
9,8852	9,0889	0,9194	

Tabel 7 Data hasil perhitungan berat jenis oleum olivarum

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi oleum olivarum dan kosong (gram)	Berat jenis oleum olivarum (g/ml)	Rata-rata berat jenis oleum olivarum (g/ml)
10,2418	9,3185	0,9098	0,9097
10,2417	9,3183	0,9098	
10,2436	9,3183	0,9096	

Tabel 8. Data hasil perhitungan berat jenis oleum sesami

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi oleum sesami dan kosong (gram)	Berat jenis oleum sesami (g/ml)	Rata-rata berat jenis oleum sesami (g/ml)
10,0802	9,2583	0,9184	0,9184
10,0804	9,2583	0,9184	
10,0803	9,2581	0,9184	

Tabel 9. Data hasil perhitungan berat jenis sampel A

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi sampel A dan kosong (gram)	Berat jenis sampel A (g/ml)	Rata-rata berat jenis sampel A (g/ml)
11,6165	10,5250	0,9060	0,9060
11,6166	10,5249	0,9060	
11,6165	10,5248	0,9060	

Tabel 10. Data hasil perhitungan berat jenis sampel B

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi sampel B dan kosong (gram)	Berat jenis sampel B (g/ml)	Rata-rata berat jenis sampel B (g/ml)
10,0725	8,8479	0,8784	0,8784
10,0725	8,8479	0,8784	
10,0725	8,8477	0,8784	

Tabel 11. Data hasil perhitungan berat jenis sampel C

Selisih berat piknometer berisi aquadest dan kosong (gram)	Selisih berat piknometer berisi sampel C dan kosong (gram)	Berat jenis sampel C (g/ml)	Rata-rata berat jenis sampel C (g/ml)
9,8684	9,6447	0,9773	0,9773
9,8685	9,6448	0,9773	
9,8684	9,6448	0,9773	

Tabel 12. Data uji kesesuaian sistem laurat termetilasi

Waktu retensi (tR) laurat termetilasi (menit)	Luas puncak laurat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Koefisien variasi	Plat teoritis (plat)	HETP (cm/plat)	Faktor ikutan (Tf)
4,311	95258	1,58	190271	0,0315	1,312
4,329	94806		195585	0,0306	1,364
4,333	91550		191775	0,0312	1,327
4,345	95870		189782	0,0316	1,346
4,329	94585		196243	0,0305	1,372
4,367	94514		199735	0,0300	1,337

Kondisi: kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu awal kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dan dipertahankan selama 3 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 1,2 ml/menit; volume penyuntikan 1,0 μl . Konsentrasi asam laurat 100,44 $\mu\text{g/ml}$

Tabel 13. Data uji kesesuaian sistem palmitat termetilasi

Waktu retensi (tR) palmitat termetilasi (menit)	Luas puncak palmitat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Koefisien variasi	Plat teoritis (plat)	HETP (cm/plat)	Faktor ikutan (Tf)
6,712	50292,3	1,41	129627	0,0462	1,310
6,735	51288,2		127345	0,0471	1,320
6,746	50802,5		131938	0,0454	1,473
6,726	51792,9		128425	0,0467	1,301
6,703	50708,9		130152	0,0460	1,246
6,765	49760,2		133810	0,0448	1,409

Kondisi: kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu awal kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dan dipertahankan selama 3 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 1,2 ml/menit; volume penyuntikan 1,0 μl . Konsentrasi asam palmitat 102,16 $\mu\text{g/ml}$

Tabel 14. Data uji kesesuaian sistem oleat termetilasi

Waktu retensi (tR) oleat termetilasi (menit)	Luas puncak oleat termetilasi ($\mu\text{V/s}$)	Koefisien variasi	Plat teoritis (plat)	HETP (cm/plat)	Faktor ikutan (Tf)
9,783	31937	1,81	140507	0,0427	1,478
9,779	30675		140227	0,0427	1,429
9,772	30570		142378	0,0421	1,399
9,763	30981		138262	0,0433	1,401
9,786	30322		141229	0,0424	1,457
9,721	30919		140876	0,0425	1,386

Kondisi: kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu awal kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dan dipertahankan selama 3 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 1,2 ml/menit; volume penyuntikan 1,0 μl . Konsentrasi asam oleat 100,21 $\mu\text{g/ml}$

Tabel 15. Data hasil penetapan kadar asam laurat dan asam palmitat dalam oleum cocos

Oleum cocos yang ditimbang (gram)	Luas puncak Metil laurat ($\mu\text{V/s}$)	Luas puncak Metil palmitat ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi Metil laurat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Konsentrasi Metil palmitat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar asam laurat (%)	Kadar asam palmitat (%)	Kadar asam laurat rata-rata (%)	Kadar asam palmitat rata-rata (%)
0,5000	2870269	84011	250,16	43,51	45,99	8,00	46,07	8,03
0,5134	2874773	84218	258,04	45,06	46,21	8,07		
0,5048	2871704	84087	252,67	44,08	46,02	8,03		

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 16. Data hasil penetapan kadar asam oleat dan asam palmitat dalam oleum olivarum

Oleum olivarum yang ditimbang (gram)	Luas puncak Metil oleat ($\mu\text{V/s}$)	Luas puncak Metil palmitat ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi Metil oleat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Konsentrasi Metil palmitat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar asam oleat (%)	Kadar asam palmitat (%)	Kadar asam oleat rata-rata (%)	Kadar asam palmitat rata-rata (%)
0,5224	225726	84335	315,84	45,94	54,99	7,99	54,98	8,00
0,5179	224352	84282	313,00	45,54	54,97	7,99		
0,5257	226772	84389	318,00	46,34	55,00	8,02		

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 17. Data hasil penetapan kadar asam oleat dan asam palmitat dalam oleum sesami

Oleum sesami yang ditimbang (gram)	Luas puncak Metil oleat ($\mu\text{V/s}$)	Luas puncak Metil palmitat ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi Metil oleat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Konsentrasi Metil palmitat terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar asam oleat (%)	Kadar asam palmitat (%)	Kadar asam oleat rata-rata (%)	Kadar asam palmitat rata-rata (%)
0,5047	182974	86781	227,51	64,29	41,39	11,69	41,39	11,69
0,5029	182244	86751	226,69	64,06	41,39	11,69		
0,5102	184170	86875	229,98	64,99	41,39	11,69		

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 18. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Sampel Obat Gosok A

Jumlah yang ditimbang (gram)	Jenis Asam Lemak	Kadar Asam Lemak (%)	Perbandingan Asam Lemak	Jenis Minyak Lemak	Kadar Minyak Lemak (%)
1,1034	Asam Laurat	63	7,08	Minyak Kelapa	50
	Asam Palmitat	8,9			
1,1027	Asam Laurat	62,65	7,08	Minyak Kelapa	49,97
	Asam Palmitat	8,85			
1,1024	Asam Laurat	61,82	7,07	Minyak Kelapa	49,89
	Asam Palmitat	8,74			

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit

Tabel 19. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Sampel Obat Gosok B

Jumlah yang ditimbang (gram)	Jenis Asam Lemak	Kadar Asam Lemak (%)	Perbandingan Asam Lemak	Jenis Minyak Lemak	Kadar Minyak Lemak (%)
1,0529	Asam Oleat	40,12	4,95	Minyak Zaitun	19
	Asam Palmitat	8,1			
1,0000	Asam Oleat	40,03	5,00	Minyak Zaitun	18,98
	Asam Palmitat	8,0			
1,0323	Asam Oleat	40,07	4,95	Minyak Zaitun	18,99
	Asam Palmitat	8,08			

Keterangan:

Analisis dilakukan pada suhu awal kolom 170-190⁰C, dengan kenaikan suhu 2⁰C /menit; dipertahankan selama 3 menit. Suhu injektor 230⁰C; suhu detektor 250⁰C, laju alir gas pembawa (He) diatur 1,2 ml/menit



Lampiran 1. Cara perhitungan jumlah plat teoritis, tinggi setara plat teoritis, faktor ikutan, dan resolusi

$$N = 16 (t_R / W)^2$$

$$\text{HETP} = L / N$$

$$T_f = W_{0,05} / 2f$$

$$R = 2 (t_{R2} - t_{R1}) / w_1 + w_1$$

Keterangan :

N = jumlah plat teoritis

t_R = waktu retensi (menit)

W = *Width* / lebar puncak

HETP = *Height Equivalent to a Theoretical Plate* / tinggi setara plat teoritis (cm / plat)

L = *Length* / panjang kolom (cm)

T_f = *Tailing factor* / faktor ikutan

$W_{0,05}$ = lebar puncak diukur pada titik yang ketinggiannya 5% dari tinggi puncak di atas garis dasar

Lampiran 2. Cara memperoleh regresi linear

Persamaan garis $y = a + bx$

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

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

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

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{N(\sum x \cdot y) - (\sum x)(\sum y)}{(N(\sum x^2) - (\sum x)^2)(N(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

Lampiran 3 Cara perhitungan uji perolehan kembali

Persamaan kurva kalibrasi

$$y = a + bx$$

y = perbandingan luas puncak

x = konsentrasi asam lemak ($\mu\text{g/ml}$)

% uji perolehan kembali =

$$\frac{\text{Konsentrasi asam lemak terukur}}{\text{Konsentrasi asam lemak sebenarnya}} \times 100\%$$

Lampiran 4. Cara Perhitungan Presisi

Simpangan Baku

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Presisi = Koefisien Variasi (KV)

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Lampiran 5. Cara perhitungan kadar asam lemak dalam sampel

Persamaan kurva kalibrasi

$$y = a + bx$$

y = perbandingan luas puncak

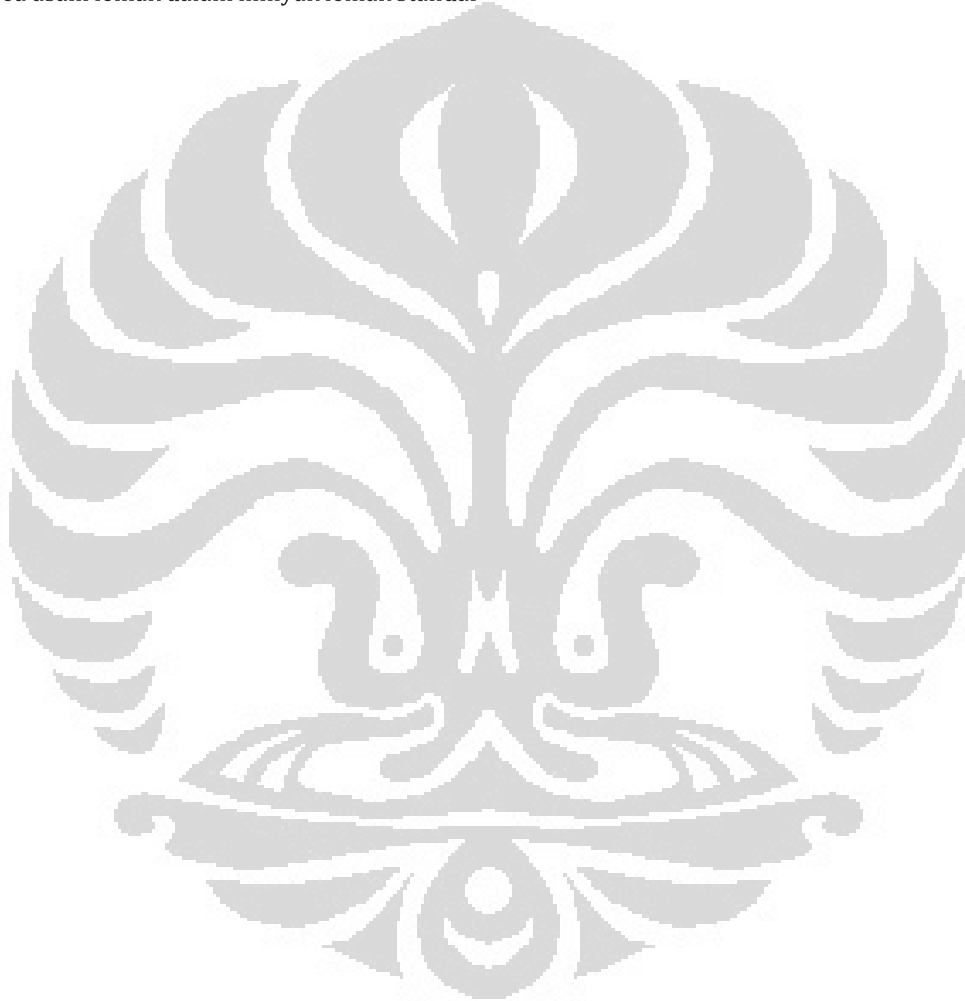
x = konsentrasi asam lemak ($\mu\text{g/ml}$)

$$\% \text{ Kadar asam lemak dalam sampel} = \text{konsentrasi asam lemak terukur} \times \frac{\text{Berat jenis sampel}}{\text{Berat sampel yang ditimbang} \times 1000} \times 100\%$$

Lampiran 6. Cara perhitungan kadar minyak lemak dalam sampel

% Kadar minyak lemak dalam sampel =

$$\frac{\text{area asam lemak dalam sampel}}{\text{area asam lemak dalam minyak lemak standar}} \times \text{berat minyak lemak standar} \times 100\%$$



Lampiran 7 : Persyaratan obat gosok menurut BPOM

CAIRAN OBAT GOSOK

Cairan obat gosok adalah sediaan obat tradisional berupa larutan suspensi atau emulsi; bahan bakunya berupa simplisia, sediaan galenik dan digunakan sebagai obat luar.

Angka lempeng total. Tidak lebih dari 10

Penetapan dilakukan menurut cara yang tertera pada Metode Analisis Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Mikroba patogen. Negatif

Penetapan dilakukan menurut cara yang tertera pada Metode Analisis Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Bahan tambahan.

Pengawet. Jenis dan kadar pengawet yang diperbolehkan sesuai dengan persyaratan pengawet yang tertera pada persyaratan pil dalam lampiran keputusan ini.

Wadah dan penyimpanan.

Dalam wadah tertutup baik; disimpan pada suhu kamar, ditempat kering dan terlindung dari sinar matahari.

Penandaan

Pada penandaan harus tertera tanda 'obat luar'. Untuk sediaan berbentuk suspensi atau emulsi harus juga tertera peringatan 'kocok dahulu'.

Lampiran 8. Komposisi sampel obat gosok

Sampel A (netto 30 ml)

Oleum Cocos.....50 %

Oleum Cajuputi.....10 %

Oleum Citronellae.....10 %

Oleum Terebinthinae....10 %

base ad 100 %

Sampel B (netto 10 ml)

Menthol..... 20%

Camphor.....4%

Olive oil.....19%

Essensial oil.....6%

base ad 100%

Sampel C (per ml)

Methyl salycilate.....353 mg

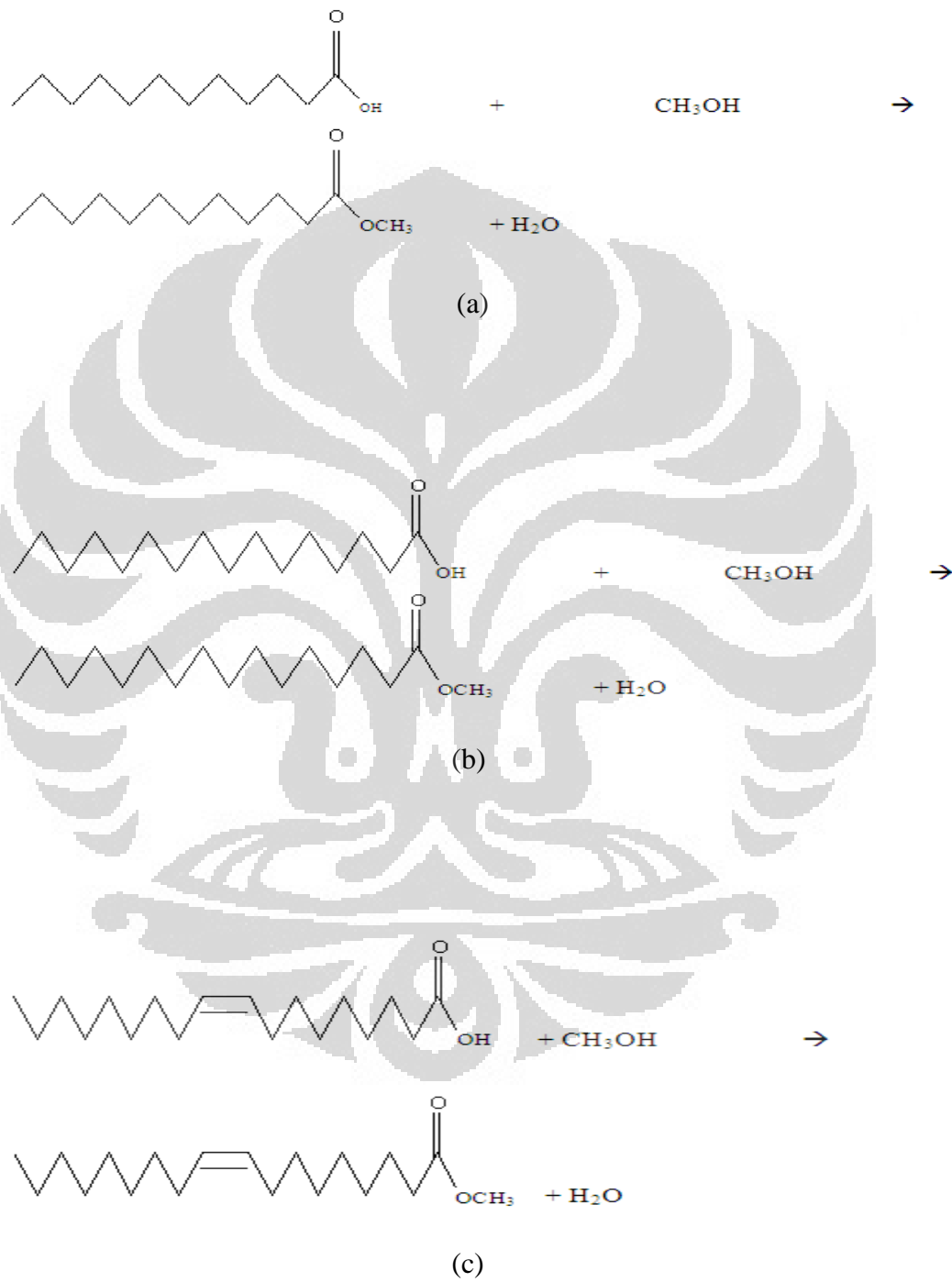
Eucalyptus oil.....182 mg

Nutmeg oil.....72 mg

Citronellae oil.....40 mg

base ad 60 ml

Lampiran 9. Reaksi esterifikasi asam laurat (a), asam palmitat (b), dan asam oleat (c)



Lampiran 10. Sertifikat Analisis Minyak Kelapa

PT. WAHANA CITRA NABATI
Edible Oil Refinery

09 NOV 2011

Attention to:
PT ULTRA SAKTI
Up. QC Department

CERTIFICATE OF ANALYSIS
No. 013 / WCN / XI / CoA / 11

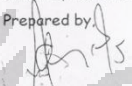
Product Name : Fiesta (Refined Bleached Deodorized Coconut Oil)
Quantity : 145 Jerricans
Car Number : 18 Liter
Production Code : 1239620211 (8 Jrc); 1240620611 (137 Jrc)


PARAMETERS	RESULT	ANALYSIS METHODS
Free Fatty Acids (as Lauric)	0.0255%	AOCS Ca 5a - 40
Colour (Lovibond 5.25°)	0.6 R-6.0Y	AOCS Cc 13b - 45 (Rev 1989)
Iodine Value (g Iodine/100 g oil)	8.4840	AOCS Cd 1 - 25
Peroxide Value (meq / kg oil)	0.1068	AOCS Cd 8 - 53
Moisture Content (%)	Trace	Visual Inspection

FM / QAS - 001 - 1

The above mentioned product quality comply with our standard.


Jakarta, November 07, 2011

Prepared by:

Anggy Nida Safitri
QAS Department

Checked by:

Agus Tri Prasetyo

Jl. Rawa Sumur I Blok EE No. 5, Kawasan Industri Pulogadung, Jakarta - 13930 Indonesia

Lampiran 11. Sertifikat Analisis Asam Laurat



Certificate of Analysis

8.05333.0100	Lauric acid for synthesis
Batch	S6028433

	Batch Values
Assay (GC, area%)	99.5 %
Melting range	
lower value	44.1 °C
upper value	44.3 °C
Identity (IR)	passes test

<i>Date of examination (DD.MM.YYYY):</i>	<i>17.03.2010</i>
<i>Minimum shelf life (DD.MM.YYYY):</i>	<i>31.03.2015</i>

Dr. Wolfgang Bolkart

 responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Lampiran 12. Sertifikat Analisis Asam Palmitat

M

Certificate of Analysis

8.00508.1000 Palmitic acid for synthesis
 Batch S6127708

Batch Values	
Assay (GC, area%)	98.7 %
Melting range	
lower value	62.8 °C
upper value	63.9 °C
Identity (IR)	passes test

Date of examination (DD.MM.YYYY): 19.08.2010
 Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.08.2013

Dr. Wolfgang Bolkart
 responsible laboratory manager, quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
9A-7 2987525/8050500000000000 V. 000 Date: 10.12.2010

Page 1 of 1

Lampiran 13. Sertifikat Analisis Minyak Zaitun

unio Corporació Alimentària

UNIO OLIS D'OLIVA
olis@unio.coop

Ctra. Selva del Camp, km. 1,6
43141 VILALLONGA DEL CAMP
Tel. (+34) 977 842 352
Fax (+34) 977 842 298

BN
EP

+ANALYSIS CERTIFICATE

POMACE OIL, sample Ref 3542, received 28/06/11

Initial date analysis: 28/06/2011

Final date analysis: 29/06/2011

RESULTS

- Free Acidity (%Oleic Acid) 0.11 %
- Peroxide value (m.eq of O₂/ kg oil) 4.00 meq
- Absorbency in ultra-violet: K₂₇₀ = 1.010
K₂₃₂ = 4.000
- Fatty Acid Composition : (Quantitative %)
- o Myristic Acid 0.015
- o Palmitic Acid 10.78
- o Palmitoleic Acid 0.850
- o Margaric Acid 0.090
- o Margaroleic Acid 0.160
- o Stearic Acid 2.870
- o Oleic Acid 73.31
- o Linoleic Acid 10.26
- o Arachidic Acid 0.440
- o Linolenic Acid 0.660
- o Eicosanoic Acid 0.290
- o Behenic Acid 0.180
- o Lignoceric Acid 0.070
- Trans fatty acids:
- o C18:1 T= 0.246%
- o C18:2T+C18:3T=0.08%
- Halogenated solvents: (ppm)
- o Trichloroethylene 0.002
- o Bromodichloromethane 0.005
- o Dibromomethane 0.002
- o Tribromomethane 0.001
- o Total (ppm) less than 0.015
- Sterol-erythrodiol
- o Erythrodiol + Uvaol =15.71 %

Lampiran 14. Sertifikat Analisis Asam Oleat

O1008 Sigma-Aldrich

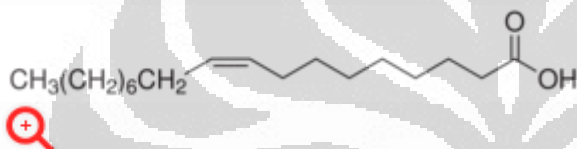
Oleic acid

≥99% (GC)

[DOWNLOAD MSDS \(PDF\)](#)

Synonym: *cis*-9-Octadecenoic acid Elainic acid

- **CAS Number [112-80-1](#)**
- **Linear Formula $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$**
- **Molecular Weight [282.46](#)**
- **Beilstein Registry Number [1726542](#)**
- **PubChem Substance ID [24278605](#)**
- ** POPULAR DOCUMENTS: [PRODUCT INFORMATION SHEET \(PDF\)](#)**



Safety Information

Symbol



GHS07

Signal word

Warning

Hazard statements [H315](#)

Personal Protective Equipment

[Eyeshields, full-face respirator \(US\), Gloves, multi-purpose combination respirator cartridge \(US\), type ABEK \(EN14387\) respirator filter](#)

WGK Germany

1

RTECS

RG2275000

Flash Point(F)

235.4 °F

Flash Point(C)

113 °C