



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



Optimasi Instrumen GC Shimadzu-2014 Terhadap Beberapa Senyawa Metil Ester Asam Lemak (FAME)

Muhammad Zaid M. M. Tanaty ^a, Julius Pontoh ^{a*}, Feti Fatimah ^a

^aJurusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

batas deteksi
respon faktor
GC Shimadzu-2014
FAME

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai penentuan batas deteksi (LOD) dan respon faktor (RF) GC Shimadzu-2014 terhadap beberapa senyawa metil ester asam lemak (FAME). Adapun kajian yang dilakukan meliputi pembuatan dan pengenceran larutan FAME standard serta analisis dengan GC sebanyak 2 kali pengulangan sehingga didapat kurva standar senyawa FAME. Berdasarkan hasil analisis dengan GC, kurva standar masing-masing senyawa FAME memiliki presisi yang cukup baik yakni berkisar antara 0.995-0.999. Pemisahan komponen-komponen FAME cukup baik terlihat dari kromatogram yang sesuai dengan jumlah komponen yang ada dalam campuran FAME dengan waktu retensi masing-masing komponen. Dari waktu retensi juga didapat faktor selektivitas yang menunjukkan seberapa baik senyawa FAME dapat dipisahkan.

KEYWORDS

limit of detection
response factor
GC Shimadzu-2014
FAME

ABSTRACT

The research about the determination of the limit of detection (LOD) and the response factors (RF) Shimadzu GC-2014 against some of the compounds of fatty acid methyl esters (FAME) has conducted. The study was conducted on the making and dilution FAME standard solution and analyzed by GC as much as 2 repetitions so that to get the standard curve FAME compounds. Based on the results of analysis by GC, standard curves of each FAME compounds has a fairly good precision that ranges from 0.995 to 0.999. Separation of FAME compounds pretty well seen from the chromatogram that corresponds to amounts of components in a mixture of FAME with a retention time of each component. From the retention time was also obtained selectivity factors that indicate how well the FAME compounds can be separated.

TERSEDIA ONLINE

27 Januari 2016

1. Pendahuluan

Dewasa ini pengukuran analitik banyak berperan dalam setiap aspek kehidupan masyarakat sehingga prosedur analisis yang dapat diandalkan sangat dibutuhkan. Prosedur analisis merupakan serangkaian proses mulai dari penyiapan sampel sampai evaluasi hasil pengukuran. Selain itu, prosedur analisis juga harus memenuhi persyaratan yang disepakati dan telah divalidasi untuk memastikan keandalan prosedur sesuai dengan hal-hal di atas. Oleh karena itu,

laporan tentang deteksi dari konsentrasi terkecil atau jumlah substansi yang diuji dengan kepastian yang memadai menjadi tujuan dan bagian penting dari jaminan kualitas dalam bidang kimia analisis (Chang, 2011).

Dalam bidang kimia analisis khususnya instrumen non-optik, yakni penggunaan kromatografi gas, ada banyak hal yang perlu diperhatikan dalam validasi metode seperti selektivitas, spesifisitas, reproduibilitas dan keakuratan. Linearitas dan selektivitas menjadi cukup penting dalam penggunaan kromatografi gas.

*Corresponding author: Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: pontohjulius@yahoo.co.id

Pengembangan kromatografi gas untuk tujuan analisis berkembang pesat salah satunya pemisahan dan penentuan asam lemak (James and Martin, 1952). Setelah itu analisis asam lemak dimodifikasi dengan esterifikasi sehingga menghasilkan metil ester asam lemak (FAME) (Cropper and Heywood, 1953). FAME merupakan senyawa turunan dari asam lemak yang memiliki gugus fungsi ester. Pada analisis sampel biasanya senyawa ini digunakan sebagai bahan baku atau standar untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

Menurut Doods *et al.* (2005), saat ini analisis asam lemak dengan menggunakan campuran FAME standar pada kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala (FID) cukup banyak dilakukan. Umumnya analisis tersebut menggunakan detektor FID karena cukup efektif dalam penentuan FAME pada sampel. Akan tetapi pada sampel tertentu detektor FID memiliki selektivitas yang relatif rendah, disebabkan dari data yang didapat yakni respon instrumen dan waktu retensi masih dapat dipengaruhi oleh senyawa kontaminan atau pengganggu lainnya yang ikut terbawa pada sampel. Kemudian, tiap alat kromatografi gas memiliki sensitivitas dan selektivitas yang berbeda pula sehingga dalam analisis yang menggunakan FAME standar perlu dilakukan validasi metode yakni penentuan linearitas serta faktor selektivitas dari instrument GC terhadap senyawa FAME.

2. Material dan Metode

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah FAME mix C8-C24 100 mg (SUPELCO) dan heksan. Alat-alat yang digunakan adalah mikropipet, tabung ependorf, microsyringe 10 μ L (Hamilton Syringe), GC-2014 Shimadzu dengan detektor ionisasi nyala (FID) pada kondisi operasi : kolom kapiler Crossbond (Carbowax Polyethylene glycol) dengan panjang 30 m, diameter 0.25 mm, ketebalan film 0.25 μ m. Suhu kolom dari 120°C selama 7 menit lalu meningkat sampai 240°C dengan jalannya suhu 10°C/menit dan selama 26 menit suhu konstan sebesar 240°C. Suhu detektor 300°C, suhu injeksi 240°C dengan gas pembawa helium, laju aliran gas 3 mL/menit dan tekanan gas 100 kPa.

2.2. Prosedur

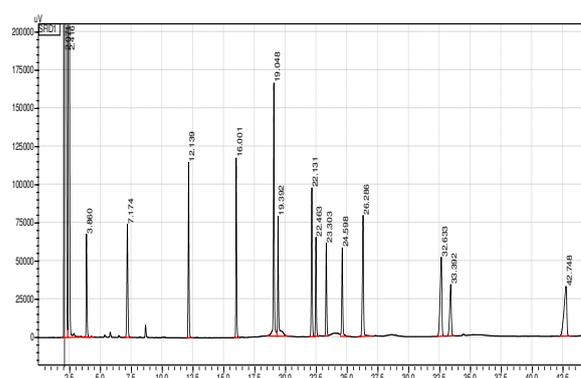
FAME mix C8-C24 dilarutkan dengan 1 ml heksan. Selanjutnya larutan FAME standar yang telah disiapkan (100 mg/ml) diencerkan dengan heksan dengan range konsentrasi total FAME standar yaitu 50, 20, 10, 5, dan 2 mg/ml. Kemudian masing-masing larutan FAME yang telah diencerkan diambil sebanyak 1 μ L untuk dianalisis pada GC. Setelah didapat waktu retensi dan luas puncak (peak area) untuk masing-masing senyawa metil ester asam lemak C8-C24 dari masing-masing konsentrasi yang telah disiapkan maka dibuat kurva standar dan ditentukan linearitas dari masing-masing senyawa metil ester asam lemak C8-C24 tersebut. Untuk penentuan LOD dan RF dapat

dihitung dengan menggunakan persamaan berdasarkan data yang diperoleh.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pemisahan dan Resolusi Komponen-Komponen FAME standar C8-C24

Analisis FAME menggunakan detektor FID dan kolom tertentu untuk meningkatkan resolusi senyawa atau komponen pada kromatografi gas saat ini masih menjadi topik penelitian yang cukup sering dilakukan (Doods *et al.*, 2005; Khan, 2013; and Petrovic *et al.*, 2010). Gambar 1 merupakan gambar contoh kromatogram FAME standar C8-C24.



Gambar 1. Salah satu kromatogram FAME standar C8-C24

Pada Gambar 1, pemisahan dan resolusi senyawa-senyawa FAME dari C8-C24 cukup baik. Hal ini menandakan bahwa kolom yang digunakan sesuai dengan analit atau FAME standar yang dianalisis sehingga mampu memisahkan senyawa atau komponen-komponen dalam campuran FAME standar.

Jenis kolom yang sering digunakan dalam analisis senyawa FAME adalah Carbowax dan sejenisnya. Selain tidak bereaksi dengan senyawa-senyawa FAME, kolom ini dapat pula meningkatkan resolusi senyawa pada saat analisis terutama dengan diikuti pemrograman suhu.

Selain kolom, detektor FID juga berperan dalam pemisahan senyawa dalam analisis dengan GC. Semakin panjang rantai karbon maka semakin sulit untuk menguap. Hal ini sejalan pada proses deteksi GC dengan FID. FID mengionkan senyawa yang dianalisis sehingga terinterpretasi pada recorder dan muncul dengan resolusi dan waktu retensi tertentu. Oleh karena itu metil kaprilat dengan atom C8 memiliki resolusi dan pemisahan yang cukup baik jika dibandingkan dengan metil lignoserat dengan atom C24.

3.2. Linearitas Komponen-Komponen FAME Standar C8-C24

Linearitas perlu dilakukan karena dapat memberikan info mengenai ketepatan (presisi) respon faktor instrumen terhadap sampel serta batas deteksi dari sampel yang dianalisis. Linearitas dalam penelitian ini merupakan kurva baku eksternal standar dari masing-masing komponen FAME C8-C24. Tabel 1 merupakan tabel linearitas dari masing-masing komponen FAME C8-C24.

Tabel 1. Linearitas Komponen-Komponen FAME standar C8-C24

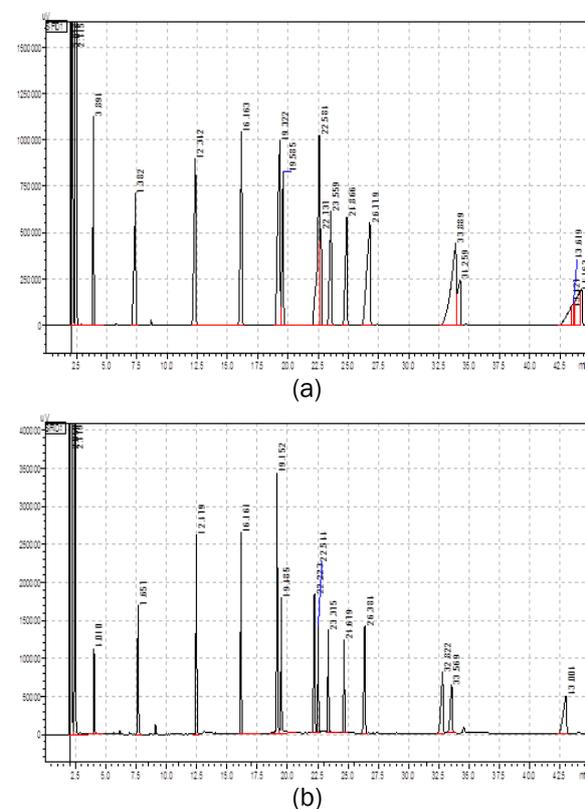
No.	Jenis FAME (atom C)	Linearitas (y)	Korelasi (R ²)
1.	Metil Kaprilat (C8)	$y = 18763x - 43905$	0.999
2.	Metil Kaprat (C10)	$y = 22615x - 56001$	0.995
3.	Metil Laurat (C12)	$y = 23704x - 75755$	0.997
4.	Metil Miristat (C14)	$y = 22406x - 82598$	0.995
5.	Metil Palmitat (C16)	$y = 23383x - 57957$	0.997
6.	Metil Palmitoleat (C16:1)	$y = 23528x - 47126$	0.995
7.	Metil Stearat (C18)	$y = 25267x - 80403$	0.999
8.	Metil Oleat (C18:1)	$y = 23899x - 16517$	0.999
9.	Metil Linoleat (C18:2)	$y = 26662x - 64423$	0.995
10.	Metil Arakhidat (C20)	$y = 14695x - 53906$	0.996
11.	Metil Linolenat (C18:3)	$y = 40938x - 96785$	0.995
12.	Metil Dokosanoat (C22)	$y = 35107x - 11283$	0.999
13.	Metil Erukak (C22:1)	$y = 16956x - 23744$	0.998
14.	Metil Lignoserat (C24)	$y = 21747x - 58590$	0.995

Hasil penelitian menunjukkan bahwa presisi analisis sampel untuk masing-masing FAME cukup baik. Hal ini tergambar dari nilai korelasi (R²) yang mendekati 1 (≥ 0.995). Presisi yang baik memberikan sumbangsih yang baik pula dalam penentuan batas deteksi (LOD) dari masing-masing senyawa FAME. Untuk mendapatkan presisi yang baik banyak hal yang perlu diperhatikan, salah satunya adalah proses pembuatan larutan dan pengenceran. Dalam hal ini presisi atau nilai korelasi tidak dipengaruhi dan tidak berhubungan dengan jumlah atom C yang dapat terionisasi oleh FID pada GC. Hal ini dibuktikan dengan FAME berantai pendek yaitu metil kaprilat dengan atom C8 memiliki nilai korelasi 0.999 akan tetapi FAME yang berantai panjang seperti metil stearat (C18), metil oleat (C18:1), dan metil dokosanoat (C22) juga memiliki nilai korelasi sebesar 0.999.

Dari data di atas dapat pula ditentukan respon faktor masing-masing senyawa FAME berdasarkan slope atau kemiringan (m) pada garis linier $y = mx + c$. Karena respon faktor pada GC menyatakan luas puncak sampel pada konsentrasi tertentu maka secara matematis dapat diambil suatu hubungan $m = y / x$. Kemudian, karena dilakukan pengulangan maka respon faktor dapat dirata-ratakan. Respon faktor menjadi hal yang penting dalam analisis senyawa menggunakan kromatografi gas karena respon faktor menggambarkan sensitivitas dari instrumen. Pada persamaan linier yang didapat terdapat juga intersep. Intersep dapat mempengaruhi nilai respon faktor dari masing-masing senyawa FAME, tetapi tidak terlalu signifikan pengaruhnya.

3.3. Faktor Selektivitas GC Shimadzu-2014 Terhadap Senyawa FAME

Selektivitas dalam penelitian ini merupakan kemampuan instrumen atau GC untuk mengenali suatu senyawa dan biasanya ditandai dengan waktu retensi senyawa tersebut. Gambar 2 menunjukkan kromatogram senyawa-senyawa FAME beserta waktu retensinya.



Gambar 2. Kromatogram senyawa FAME. (a) analisis awal; (b) ulangan 1

Pada Tabel 2 ditunjukkan faktor selektivitas GC Shimadzu-2014 terhadap senyawa FAME yang dianalisis. Berdasarkan data hasil pengukuran, didapat faktor selektivitas yaitu nilai α dengan rentang 0.99-1.08. Hal ini menjelaskan bahwa instrumen GC terutama FID cukup selektif dalam mengenali senyawa-senyawa FAME terutama

senyawa-senyawa FAME yang berantai pendek dan menengah seperti metil kaprilat, kaprat dan laurat dengan faktor selektivitas yang lebih dari 1. Semakin besar nilai faktor selektivitas maka semakin baik pemisahan suatu senyawa (Syahrir, 2012).

Tabel 2. Faktor Selektivitas GC Shimadzu-2014 terhadap senyawa FAME

No.	Jenis FAME (atom C)	tr ₁	tr ₂	α
1.	Metil Kaprilat (C8)	3.891	4.01	1.08
2.	Metil Kaprat (C10)	7.382	7.657	1.05
3.	Metil Laurat (C12)	12.342	12.479	1.01
4.	Metil Miristat (C14)	16.161	16.163	1.00
5.	Metil Palmitat (C16)	19.322	19.152	0.99
6.	Metil Palmitoleat (C16:1)	19.585	19.485	0.99
7.	Metil Stearat (C18)	22.584	22.223	0.98
8.	Metil Oleat (C18:1)	22.737	22.544	0.99
9.	Metil Linoleat (C18:2)	23.559	23.375	0.99
10.	Metil Arakhidat (C20)	24.866	24.679	0.99
11.	Metil Linolenat (C18:3)	26.799	26.364	0.98
12.	Metil Dokosanoat (C22)	33.889	32.822	0.96
13.	Metil Erukat (C22:1)	34.259	33.569	0.98
14.	Metil Lignoserat (C24)	43.427	43.004	0.99

Senyawa-senyawa FAME yang mempunyai berat molekul rendah umumnya mudah menguap sehingga dengan cepat dapat dikenali oleh detektor FID dan direkam waktu retensinya pada rekorder. Untuk metil palmitat (C16) sampai metil lignoserat (C24) umumnya tidak mudah menguap karena memiliki bobot molekul yang besar sehingga butuh energi yang lebih besar bagi detektor FID untuk mengenali senyawa tersebut sehingga memiliki faktor selektivitas kurang dari 1 ($\alpha < 1$).

4. Kesimpulan

Dari hasil kajian ini disimpulkan bahwa,

1. Senyawa-senyawa FAME memiliki linearitas cukup baik dengan nilai korelasi 0.995-0.999.
2. Senyawa-senyawa FAME dapat terpisah dengan baik karena memiliki faktor selektivitas yang mendekati 1.

Daftar Pustaka

Bernal, E. 2014. Limit of Detection and Limit of Quantification Determination in Gas

Chromatography. *Advances in Gas Chromatography*.3(1): 57-63.

Chang, K. H. 2011. Limit of Detection and Its Establishment in Analytical Chemistry. *Health and the Environment Journal*.2(1): 38-43.

Cropper, F.R., and A. Heywood.1953. Analytical Separation of the Methyl Esters of the C₁₂-C₂₂ Fatty Acids by Vapour Phase Chromatography. *Nature*. 172(25): 1101-1102.

Doods, E. D., M. R. McCoy, L. D. Rea, and J. M. Kennish. 2005. Gas Chromatographic Quantification of Fatty Acid Methyl Esters : Flame Ionization Detection vs. Electron Impact Mass Spectrometry. *LIPIDS*. 4(4): 419-428.

James, A. T., and A.J.P. Martin. (1952) Gas-Liquid Partition Chromatography: The Separation and Micro-estimation of Volatile Fatty Acids from Formic Acid to Dodecanoic Acid, *Biochemistry Journal*. 50(4): 679-690.

Shrivastava, A., and V. B. Gupta. 2010. Methods for The Determination of Limit of Detection and Limit of Quantitation of the Analytical Methods. *Chronicles of Young Scientists*.2(21): 21-27.