

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A Etilen Glikol

Etilen glikol ditemukan pertama kali pada tahun 1859 oleh ahli kimia Prancis Charles Wurtz, dengan hidrolisis etilen gliserol diasetat via saponifikasi dengan KOH dan pada tahun 1860 melalui hidrolisis etilen oksida. Senyawa ini belum di komersialkan hingga perang dunia pertama, dimana etilen glikol disintesis dari etilen diklorida dan digunakan sebagai substituen gliserol pada industri peledakan di Jerman. Di Amerika, produksi semi komersial etilen glikol dimulai pada tahun 1917 dan pabrik etilen glikol pertama berdiri pada tahun 1925 di *West Virginia* (Gürpınar, 2013). Etilen glikol dengan rumus $C_2H_6O_2$ memiliki berat molekul 62,07 g/mol, titik leleh $-13^0 C$ dan titik didih $197,6^0 C$ (Gürpınar, 2013). Etilen glikol atau 1,2-ethanediol merupakan suatu senyawa yang berbentuk cairan tidak berwarna, tidak mempunyai bau, kental, dan terasa manis dengan rumus kimia $C_2H_6O_2$.

Senyawa ini banyak digunakan di industri sebagai *antifreeze* pada sistem pendinginan, karena kemampuannya untuk menaikkan titik beku air. Etilen glikol juga merupakan pelarut yang baik untuk berbagai senyawa polar dan non polar, karena sifat ini, etilen glikol digunakan dalam industri sebagai pelarut untuk cat, tinta, pelumas serta secara komersial untuk bahan baku prekursor sintetik, terutama untuk pembuatan polietilen tereftalat (BPOM, 2023). Etilen glikol dapat menyebabkan keracunan pada manusia. Uap etilen glikol yang terhirup dapat mengiritasi mata dan paru-paru, namun tidak menyebabkan toksisitas sistemik. Etilen glikol tidak diserap dengan baik melalui kulit sehingga tidak dapat menyebabkan toksisitas sistemik. Paparan etilen glikol jangka pendek (kurang dari 8 jam) menunjukkan gejala awal mabuk seperti pada keracunan etanol tetapi tidak ada bau alkohol pada napas pasien/korban (BPOM, 2023).

1. Struktur dan Sifat Etilen Glikol

Etilen glikol merupakan senyawa diol sederhana karena mengandung dua gugus fungsional hidroksil- OH yang terikat pada dua atom karbon berdekatan. Struktur molekulnya mirip dengan rantai karbon pendek yang memiliki dua gugus hidroksil pada ujungnya (Septyaningrum dan Octavianti, 2019). Etilen glikol juga memiliki bentuk tautomerik, yang dikenal sebagai etanal (asetaldehida). Namun,

bentuk ini biasanya tidak dominan dalam keadaan normal (National Center for Biotechnology Information, 2023).



Gambar 1. Struktur kimia dua dimensi senyawa etilen glikol
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Tabel 1. Sifat Fisikokimia etilen glikol (Sumber: National Center for Biotechnology Information., 2023)

Sifat fisikokimia	
Massa molar	62,07 g/mol
Massa jenis	1,11 g/mol
Titik lebur	-12,69° C
Titik didih	197,3° C
Titik nyala	111,11° C
Kelarutan	Larut dalam air, sangat larut dalam aseton, alkohol dan metilen klorida. Tidak larut dengan minyak

2. Kegunaan Etilen Glikol

Etilen glikol memiliki beragam kegunaan dalam berbagai industri dan aplikasi konsumen. Beberapa kegunaan utama etilen glikol dalam industri diantaranya adalah:

2.1 Cairan Pendingin (*Antifreeze*). Cairan Pendingin (*Antifreeze*) merupakan cairan pendingin mesin, yang digunakan untuk mencegah pembekuan sistem pendingin pada suhu rendah. Keuntungan etilen glikol sebagai cairan pendingin adalah dapat melindungi komponen logam yang ada pada sistem pendingin dari korosi. Campuran air dan etilen glikol ini dapat digunakan pada kendaraan bermotor, mesin industri dan sistem pemanas (Trisnani *et al.*, 2015).

2.2 Industri Plastik. Etilen glikol adalah bahan baku penting dalam industri plastik khususnya dalam produksi polietilen tereflat (PET), yang digunakan dalam pembuatan botol plastik, serat sintesis, film, dan berbagai produk plastik lainnya. PET juga merupakan salah satu plastik yang paling umum digunakan diseluruh dunia (Trisnani *et al.*, 2015).

2.3 Pelarut. Etilen glikol merupakan jenis pelarut yang efektif untuk melarutkan senyawa polar dan non polar. Senyawa ini banyak

digunakan dalam berbagai aplikasi industri khusus nya sebagai pelarut dalam pembuatan cat, tinta, dan pelarut dalam berbagai proses kimia lainnya (Trisnani *et al.*, 2015).

2.4 Produk Perawatan dan Produksi Bahan Kimia. Dalam pembuatan berbagai produk kimia, etilen glikol banyak digunakan sebagai bahan baku diantaranya dalam pembuatan deterjen, resin, maupun bahan kimia organik. Etilen glikol juga digunakan sebagai formula pembuatan beberapa produk perawatan seperti pasta gigi, obat kumur, peroduk perawatan kulit. Namun, perlu diingat bahwa penggunaan etilen glikol perlu diperhatikan dan dipergunakan sesuai batas aman yang telah ditetapkan.

3. Toksisitas

Etilen glikol memiliki toksisitas yang sangat berbahaya bagi tubuh manusia. Setelah tertelan, etilen glikol secara cepat diserap oleh tubuh melalui saluran pencernaan dalam waktu 1-4 jam, >80% etilen glikol akan diubah secara kimia menjadi senyawa beracun. Toksisitas yang timbul berasal dari hasil metabolisme etilen glikol dihati sebanyak 80% melalui rangkaian oksidasi oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH) dengan waktu paruh sekitar 3-8 jam dan sisanya dieksresi atau dibuang di ginjal dalam bentuk utuh. Produk sampingan metabolisme etilen glikol dapat menyebabkan penumpukan asam dalam darah dan dapat menyebabkan gagal ginjal (BPOM, 2023).

Timbulnya gejala keracunan etilen glikol akan terjadi bersamaan dengan peningkatan kadar serum yang terjadi 20-30 menit setelah dikonsumsi dan kadar puncaknya pada waktu 1-4 jam. Toksisitas etilen glikol dikategorikan dalam tiga tahapan berdasarkan efek samping yang ditimbulkan, yaitu:

3.1 Tahap 1 (Tahap *Neurillogical*). Tahap ini dapat berlangsung antara 30 menit hingga 12 jam setelah paparan. Tahap ini akan ditandai dengan gejala pada depresi Sistem Saraf pusat (SSP) seperti pada keracunan etanol, yaitu pusing, agitasi, mata berputar, mual takikardi (denyut jantung diatas normal), peningkatan tekanan darah dan muntah (BPOM, 2023).

3.2 Tahap 2 (Tahap *Kardioukmoner*). Tahap ini berlangsung antara 12-24 jam setelah paparan etilen glikol. Gejala yang timbul pada tahap ini adalah kardiorespirasi, dengan perkembangan napas yang cepat, asodosis metabolik, takikardi, sianosis (jari, kuku, bibir berwarna biru

karena kekurangan oksigen dalam darah) dan tekanan darah tinggi (BPOM, 2023).

3.3 Tahap 3 (Tahap Renal). Tahap ini berlangsung antara 24-72 jam setelah paparan. Gejala yang timbul pada tahap ini ditandai dengan nyeri pinggang, nekrosis tubular akut (kematian sel tubulus ginjal akut), hiperkalsemia (kadar kalsium dalam darah di atas batas normal), hiperkalemia (kadar kalium darah di atas normal), dan hypomagnesemia (kadar magnesium dalam darah di bawah batas normal). Dapat terjadi gejala urin sedikit, tidak ada urin karena ginjal tidak memproduksi urine. Pada fase ini toksisitas yang terjadi ditandai dengan adanya ekskresi asam oksalat melalui urin, kerusakan ginjal dan gangguan fungsi ginjal (BPOM, 2023).

B Unibebi Syrup

Unibebi syrup adalah salah satu jenis sediaan cair (sirup) yang diproduksi oleh *Universal Pharmaceutical Industri*, dan merupakan golongan obat bebas terbatas. *Unibebi syrup* memiliki manfaat utama untuk mengobati gejala demam, flu dan batuk pada anak-anak, memiliki kandungan aktif paracetamol yang memiliki indikasi sebagai analgesik dan antipiretik (Kemalasari *et al.*, 2023). Paracetamol larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian etanol (95%) *P*, dalam 13 bagian aseton *P*, dalam 40 bagian *gliserol P* dan dalam 9 bagian *propilenglikol P*; larut dalam larutan alkali hidroksida (FI III).

Efek samping yang mungkin dirasakan ketika mengonsumsi *unibebi syrup* diantaranya adalah jantung yang berdetak lebih cepat, sakit kepala, mual dan muntah hingga mengantuk. Selain itu, jika *unibebi* yang digunakan dalam waktu lama dan dalam dosis berlebih dapat menimbulkan resiko terjadinya gagal ginjal akut, meskipun jarang terjadi (Kusuma, 2022).

1. Unibebi Cough Syrup @60 mL

Unibebi Cough Syrup atau biasa dikenal dengan Baby Cough adalah sediaan obat yang digunakan untuk mengatasi batuk dan pilek untuk anak-anak, merupakan golongan obat bebas terbatas. Obat ini diproduksi oleh *Universal Pharmaceutical Industri* dengan nomor izin edar DTL7226303037A1, dalam kemasan botol plastik 60 mL. *Unibebi Cough Syrup* mengandung paracetamol 120 mg, guaifenesin 25 mg, dan CTM 1 mg dan dapat diberikan pada anak usia 6 bulan-12 tahun.

Bahan aktif paracetamol yang bermanfaat sebagai analgesik dan antipiretik, CTM yang memiliki manfaat untuk mengatasi berbagai reaksi alergi dan tergolong dalam antihistamin, dan Guaifenesin yang berguna untuk membantu mengobati batuk berdahak dengan cara kerja mengurangi dahak yang menumpuk pada saluran pernapasan (Kemalasari *et al.*, 2023). Obat batuk anak *Unibebi Cough* dapat menyebabkan efek samping mengantuk, memiliki kontraindikasi pada pasien yang alergi atau hipersensitifitas terhadap kandungan obat, sebaiknya tidak digunakan bersamaan dengan obat golongan antidepresan (Kemalasari *et al.*, 2023).



Gambar 2. *Unibebi Cough Syrup*

2. *Unibebi Demam Drops @15 mL*

Unibebi Demam Drops merupakan sediaan obat cair yang memiliki indikasi untuk menurunkan demam dan meredakan sakit kepala dan sakit gigi pada bayi dan anak-anak dari usia balita hingga 5 tahun, dan merupakan golongan obat bebas. Obat ini diproduksi oleh Universal Pharmaceutical Industri dengan nomor izin edar DLB1926303336A1, dan dikemas dalam kemasan dus serta botol @15 mL, dengan kandungan paracetamol 100 mg/mL, yang memiliki indikasi sebagai analgesik dan antipiretik.

Unibebi Demam Drops tidak boleh digunakan melebihi dosis yang ditentukan, hati-hati penggunaannya pada penderita gangguan fungsi hati, penderita yang menggunakan warafi. Penggunaan melebihi dosis yang dianjurkan atau bila dikonsumsi bersama obat lain yang juga mengandung paracetamol, atau pada penderita yang mengkonsumsi alkohol, dapat menyebabkan kerusakan hati (Kemalasari *et al.*, 2023).



Gambar 3. *Unibebi Demam Drops*

3. *Unibebi Demam Syrup @60 mL*

Unibebi Demam Syrup (Paracetamol Syrup) merupakan obat sirup yang berkhasiat untuk membantu meringankan gejala sakit seperti sakit kepala, sakit gigi dan menurunkan demam pada balita hingga anak-anak usia 12 tahun keatas, dan merupakan obat golongan bebas. *Unibebi Demam* diproduksi oleh *Universal Pharmaceutical Industri* dengan nomor izin edar DL18726301237A1, dan dikemas dalam kemasan dus serta botol @60 mL, adapun komposisinya adalah tiap 5 mL mengandung paracetamol 120 mg, yang memiliki indikasi sebagai analgesik dan antipiretik.

Unibebi Demam syrup tidak boleh digunakan melebihi dosis yang ditentukan, hati-hati penggunaannya pada penderita gangguan fungsi hati, penderita yang menggunakan warafin. Penggunaan melebihi dosis yang dianjurkan atau bila dikonsumsi bersama obat lain yang juga mengandung paracetamol, atau pada penderita yang mengkonsumsi alkohol, dapat menyebabkan kerusakan hati (Kemalasari *et al.*, 2023).



Gambar 4. *Unibebi Demam Syrup*

C Mencit

Mencit digolongkan dalam ordo *Rodorensia* atau hewan pengerat dan famili Muridae. Ordo *Rodorensia* adalah ordo yang tersebar dengan jumlah spesies dari kelompok mammalia, yaitu dapat mencapai 40% dari 5000 spesies mamalia. Mencit dapat menyesuaikan diri dengan baik dengan lingkungannya, Berikut klasifikasi mencit (*Mus musculus*):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelompok	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myoporpha
Famili	: Muridae

Subfamili : Murinae
 Genus : Mus
 Spesies : Mus Musculus
 (Widyawaty *et al.*, 2018)



Gambar 5. Mencit galur *Swiss Webster* (Widyawaty *et al.*, 2018)

1. Morfologi Mencit

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan yang termasuk kedalam famili Muridae memiliki rambut berwarna keabu-abuan dan warna perut sedikit pucat, memiliki warna mata hitam, berat badan bervariasi dan umumnya pada umur empat minggu berat badan mencit mencapai 18-20 gram. Lebih aktif pada senja atau malam hari, hidup ditempat tersembunyi yang dekat dari sumber makanan dan membangun sarangnya dari macam-macam material lunak. *Mus musculus* merupakan hewan terrestrial dan satu jantan yang biasanya hidup dengan beberapa betina (Muliani, 2011).

2. Keuntungan Mencit untuk Penelitian

Penggunaan mencit sebagai salah satu hewan percobaan dalam penelitian disebabkan karena beberapa alasan diantaranya adalah mencit merupakan hewan dengan tingkat reproduksi tinggi, mencit mudah beradaptasi, harga mencit yang terjangkau, struktur tubuh mencit yang mudah dipahami, karakteristik mencit yang hampir mirip dengan manusia sehingga dapat dijadikan hewan pengujian dalam menguji keamanan atau khasiat sebuah zat sebelum dapat diberikan kepada manusia (Marwati *et al.*, 2018).

D Darah

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang berada pada ruang vaskuler, karena perannya sebagai media komunikasi antar sel ke seluruh bagian tubuh dan fungsi darah juga dapat membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan dalam tubuh dan CO₂ dari jaringan tubuh ke paru-paru untuk dapat dikeluarkan, darah juga dapat membawa nutrien dari saluran cerna ke jaringan kemudian menghantarkan hormon dan materi-materi pembekuan darah (Sitepu *et al.*, 2022).

Darah adalah salah satu bagian dari tubuh yang memiliki jumlah 6-8 % dari berat total tubuh (Nur Khasanah, 2014). Darah terdiri dari 3 jenis unsur sel khusus, yaitu terdiri dari eritrosit yang terdapat dalam jumlah yang besar, leukosit yang terdiri dari jumlah yang relatif sangat sedikit yaitu 2 permil dari jumlah eritrosit dan juga trombosit yang berfungsi penting dalam penggumpalan darah (Kurniawati, 2016).

1. Komponen Darah

Komponen darah terdiri atas 2 bagian diantaranya adalah sel-sel darah dan plasma darah (Artha *et al.*, 2020). Sel – sel darah meliputi eritrosit, leukosit dan trombosit. Plasma darah mengandung kurang lebih 90% air serta zat terlarut lain didalamnya (Fatimah *et al.*, 2019). Salah satu komponen darah yang paling umum digunakan dalam penentuan kadar senyawa obat yaitu plasma darah, yang merupakan sampel biologis (Fatan *et al.*, 2022). Plasma darah dapat digunakan sebagai sampel biologis dikarenakan berhubungan dengan konsentrasi obat dalam plasma darah dengan efek terapeutik yang ditimbulkan baik (Kurniawati, 2016). Pemeriksaan kadar obat dalam plasma ini dilakukan untuk dapat menjamin kualitas dan keamanan suatu zat dalam pelayanan farmasi, sehingga diperlukan metode analisis yang valid untuk menentukan kadar suatu zat dalam plasma darah (Fatimah *et al.*, 2019).

2. Analisis Komponen dalam Darah

Penentuan kadar suatu senyawa dalam sampel biologis khususnya darah merupakan hal yang penting dalam evaluasi dan interpretasi data dalam farmakokinetika. Pemeriksaan atau penentuan kadar senyawa dalam darah harus menggunakan metode yang sesuai digunakan untuk pemantauan pengobatan dan memungkinkan untuk dapat melakukan penyesuaian dosis obat dan mengoptimasi terapi (Kurniawati, 2016).

Pada matriks biologis seperti darah dapat mengandung sejumlah besar komponen endogen yang dapat mengganggu hasil analisis, maka diperlukan preparasi sampel darah yang memiliki tujuan untuk memisahkan komponen endogen yang dapat mengganggu analisis dan memekatkan obat agar memperoleh hasil sensitif. Kegiatan preparasi sampel darah merupakan hal yang penting dalam bionalisis (Novianto, 2016). Teknik preparasi sampel yang digunakan untuk mengisolasi obat dari matriks biologis, antara lain:

2.1 Pengendapan protein. Pengendapan protein dilakukan dengan penambahan asam atau pelarut organik untuk dapat mendetifikasi

ataupun mengendapkan protein. Pelarut organik akan berguna untuk dapat mengendapkan protein yang didasarkan atas prinsip polaritas dan menurunkan solubilitas protein (Kurniawati, 2016).

2.2 Ultrafiltrasi. Pada metode ini, larutan bebas protein dapat diperoleh dari proses penyaringan dengan melewati larutan pada suatu membran semipermeabel yang selektif dengan menggunakan tekanan hidrostatik (1-10 atm) untuk dapat memberikan dorongan dalam proses pemisahan (Kurniawati, 2016).

2.3 Ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair, merupakan proses memindahkan atau memisahkan suatu komponen dari satu fase ke fase lainnya yang tidak saling bercampur antara satu dengan yang lainnya, proses ini disebut juga partisi atau distribusi. Salah satu fasenya adalah *aqueous* yang menggunakan air yang bersifat asam/basa, garam dan lainnya dan fase lainnya adalah pelarut organik yang digunakan adalah heksan, etil asetat, toluen dan lainnya (Kurniawati, 2016).

2.4 Ekstraksi fase padat. Ekstraksi fase padat memiliki prinsip mekanisme pemisahan dan isolasi yang digunakan dalam pemisahan fase padat yaitu fase terbalik, fase normal dan ion *exchange*. Prinsip umum dari ekstraksi fase padat ini adalah adsorpsi obat dari larutan kedalam adsorben atau fase diam (Kurniawati, 2016).

2.5 Sentrifugasi. Suatu sampel darah yang utuh dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diberikan zat antikoagulan, maka unsur-unsur sel yang mempunyai bobot yang lebih berat akan secara perlahan mengendap ke dasar tabung dan plasma yang memiliki bobot yang lebih ringan akan naik ke atas tabung, dan proses ini dapat dipercepat dengan proses sentrifugasi (Kurniawati, 2016).

E Kromatografi Gas

Kromatografi merupakan teknik pemisahan pada campuran yang berdasarkan pada perbedaan distribusi dari komponen fase gerak dan fase diam (Yanti, 2018). Fase gerak dapat berupa gas maupun cairan sedangkan fase diam dapat berupa cairan atau padatan, fase gerak yang berupa gas disebut kromatografi gas (*Gas chromatography*), gas pembawa dalam kromatografi gas berupa gas nitrogen, helium, atau argon (Rizalina *et al*, 2018). Metode pemisahan secara kromatografi terus-menerus berkembang dengan alat-alat yang lebih modern, dengan hasil pemisahan yang efektif, akurat serta dapat digunakan untuk sampel yang jumlahnya sangat kecil (Yanti, 2018).

Analisis kuantitatif secara kromatografi gas melakukan metode standar kromatografi gas. Metode standar internal ini merupakan metode dengan menggunakan komponen yang memiliki kesamaan struktur kimia dengan standar, tetapi tidak dengan sampel, metode standar internal berfungsi untuk mengeliminasi kesalahan pada proses injeksi sampel dalam kromatografi gas (Fajar dan Riyanto, 2013). Syarat suatu senyawa dapat digunakan sebagai standar internal adalah terpisah dengan baik dari senyawa puncak-puncak analit, waktu retensi yang hampir sama dengan analit, kemiripan sifat dengan analit, tidak reaktif dengan sampel atau dengan fase gerak (Sudhaker dan Jain, 2016).

Prinsip kerja dari kromatografi gas adalah, sampel yang telah dimasukkan ke dalam kolom, lalu komponen-komponen tersebut terdistribusi dalam suatu kesetimbangan antara fase diam maupun fase gerak. Setelah melewati kolom, komponen yang telah keluar ditangkap oleh detektor dan direkam komputer sebagai kromatogram (Yanti, 2018).

1. Komponen Kromatografi Gas

1.1 Gas pembawa. Gas pembawa pada kromatografi gas diletakkan dalam tabung bertekanan yang dihubungkan dengan regulator tekanan, pengaturan aliran dan rotometer. Sistem penyimpanan gas ini didalamnya terdapat suatu bahan penyaring molekul untuk dapat menyerap air ataupun pengotor lainnya. Laju alir gas dapat dikontrol oleh regulator tekanan dan pengatur aliran. Gas pembawa harus bersifat inert dan murni. Gas pembawa yang sering digunakan dalam kromatografi gas adalah N_2 , He, H_2 , dan Ar (Yanti, 2018).

1.2 Injektor. Injektor merupakan bagian dimana sampel memasuki kromatografi gas, sampel dimasukkan dengan sebuah suntikan yang kemudian melewati suatu karet atau suatu piringan tipis yang terbuat dari silikon, untuk mendapatkan efisiensi dan resolusi sebaik mungkin. Sampel dimasukkan ke dalam aliran gas dalam jumlah sedikit mungkin dalam waktu yang secepat mungkin, banyaknya sampel yang dapat dimasukkan kira-kira 0,1 sampai dengan 10 μ L (Yanti, 2018).

1.3 Kolom. Dalam kromatografi gas terdapat dua jenis kolom, yaitu:

1.3.1 Kolom kapiler. Kolom kapiler memiliki panjang berkisar antara 10-100 m atau lebih serta memiliki efisiensi cukup tinggi, namun memiliki kapasitas sampel yang sangat rendah ($<0.01 \mu$ L). Kapasitas kolom kapiler dapat ditingkatkan dengan *coating* suatu bahan berpori

seperti grafit, oksida logam atau silikat pada bagian dalam *tube* (Yanti, 2018).

1.3.2 Kolom *packet*. Kolom ini terbuat dari suatu *tube* logam atau dari gelas yang mempunyai diameter dalam sebesar 1-8 mm, terbungkus oleh suatu padatan, Kolom ini memiliki panjang 2-20 m (Yanti, 2018).

1.4 Detektor. Detektor merupakan sistem deteksi dalam kromatografi gas harus memiliki kemampuan untuk merespon sampel yang keluar dari kolom secara cepat dan akurat. Sifat yang dimiliki detektor yaitu respon yang linear, stabilitas cukup baik dalam waktu yang lama, dan respon yang seragam untuk berbagai macam senyawa (Yanti, 2018). Kromatografi gas sistem detektor yang paling umum digunakan adalah detektor ionisasi nyala atau *Flame Ionisasi Detektor* (FID). Detektor ini dapat digunakan hampir untuk semua senyawa organik sampai batas rendah satu nanogram, dan respon linear berkisar 10^6 . GC-FID merupakan metode yang sangat sensitif, cepat dan dapat diandalkan untuk dapat menentukan sejumlah besar senyawa volatil diberbagai sampel biologis (Rohman dan Gadjar, 2014).

2. Validasi Metode

Tujuan utama yang harus dicapai dalam suatu kegiatan analisis kimia adalah dihasilkan data hasil uji yang valid. Secara sederhana hasil uji yang valid dapat digambarkan sebagai hasil uji yang memiliki akurasi, dan presisi yang baik (Yanti, 2018). Validasi diartikan sebagai kegiatan konfirmasi melalui pengujian dan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus yang harus dipenuhi. Tujuan dari validasi metode adalah untuk mengetahui penyimpangan yang tidak dapat dihindari dari suatu metode kondisi normal seluruh elemen terkait terkait sudah dilaksanakan dengan baik. Manfaat dari dilakukannya validasi metode analisis adalah untuk mengevaluasi hasil kerja suatu metode analisis, menjamin prosedur analisis, menjamin keakuratan dan kedapatulangan hasil prosedur analisis serta mengurangi resiko penyimpanan yang mungkin timbul (Wulandari, 2007).

Parameter-parameter untuk kerja ditentukan dengan menggunakan peralatan yang telah memenuhi spesifikasi dalam proses validasi metode, bekerja dengan baik dan terkalibrasi secara memadai. Secara umum, validasi metode dapat mencakup penentuan yang berkaitan dengan alat maupun metode (Nugroho, 2009). Hasil uji validasi dari metode analisis dapat dinyatakan dalam beberapa parameter, yaitu:

2.1 Uji Linearitas. Linearitas adalah metode analisis untuk dapat mengetahui adanya hubungan linear antara konsentrasi analit dengan respon instrumen. Linearitas dapat menyatakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan respon (y) dan konsentrasi (x). Uji linearitas ini dilakukan dengan seri larutan standar yang terdiri dari minimal lima konsentrasi yang berbeda dengan rentang 50-150 % dari kadar analit sampel. Parameter hubungan kelinearan yang digunakan yaitu koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R^2) pada analisis regresi linear $y = bx + a$ (b adalah slope, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Linearitas metode yang ditunjukkan oleh nilai koefisien korelasi sebesar $>0,995$ (Handayani dan Lestari, 2012).

2.2 Uji *Limit of Detection* (LOD). LOD atau limit deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan suatu parameter uji batas. Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis menggunakan instrument atau tidak. Pada analisis batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko (Hidayati *et al.*, 2014).

2.3 Uji *Limit of Quantitation* (LOQ). LOQ adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi dengan presisi dan akurat. Parameter ini dapat digunakan untuk pengujian kuantitatif analit dengan jumlah kecil yang terkandung dalam sampel dan digunakan untuk pengukuran cemaran serta produk degradasi (Yanti, 2018).

2.4 Uji Akurasi. Akurasi merupakan suatu kedekatan kesesuaian antara hasil pengukuran dan nilai benar dari kuantitas yang diukur atau suatu pengujian posisi yaitu seberapa dekat pengukuran terhadap nilai benar yang diperkirakan. Terdapat 3 macam metode yang dapat dilakukan untuk uji akurasi, yaitu material standar dilakukan dengan membandingkan hasil akurasi analisis uji terhadap cuplikan standar atau *Standart Refrence Material*, metode baku dilakukan dengan cara membandingkan hasil analisis analit dengan metode yang divalidasi terhadap hasil dengan metode standar, dan perolehan kembali (*recovery*) dilakukan dengan menambahkan sejumlah kadar analit yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam matriks sampel yang akan dianalisis. (Yanti, 2018). Uji ini dapat diukur dengan menentukan perolehan

kembali dari analit yang ditambahkan kedalam contoh. Suatu metode dikatakan valid apabila *%recovery* dari suatu standar antara 50-120% (Riyanto, 2014).

2.5 Uji Presisi. Presisi adalah suatu ukuran penyebaran, kedekatan dari suatu rangkaian pengukuran berulang-ulang satu sama lain. Presisi diterapkan berulang-ulang sehingga menunjukkan hasil pengukuran individual didistribusikan sekitar nilai rata-rata tanpa menghiraukan letak nilai rata-rata terhadap nilai benar. Presisi dapat dinyatakan dengan berbagai cara antara lain dengan simpangan baku, simpangan rata-rata atau kisaran yang merupakan selisih hasil pengukuran yang terbesar (Yanti, 2018). Parameter presisi antara lain adalah presisi antara (*Intermediate Precision*). Presisi antara dilakukan dengan cara mengulang pemeriksaan terhadap contoh uji dengan alat, waktu, analisis yang berbeda, namun dalam laboratorium yang sama, keterulangan (*Repeatability*) merupakan ketelitian yang diperoleh dari hasil pengulangan dengan menggunakan metode, operator, peralatan, laboratorium, dan dalam interval pemeriksaan waktu yang singkat. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui konsistensi analit, tingkat kesulitan metode dan kesesuaian metode, dan ketertiruan (*Reproducibility*) ketelitian yang dihitung dari hasil ulangan dengan metode yang sama, namun dilakukan oleh analis, peralatan, laboratorium dan waktu yang berbeda. Presisi dinyatakan sebagai presentase *Relative Standard Deviation* (%RSD) dari suatu seri pengukuran (Riyanto, 2014).

F Landasan Teori

Etilen glikol atau 1,2-ethanediol merupakan cairan yang bening, tidak berbau, kental dan berasa manis, mempunyai rumus kimia $C_2H_6O_2$ (BPOM, 2022). Etilen glikol dalam konsentrasi rendah digunakan sebagai pelarut, pengawet, dan *antifreeze*, terutama dalam sediaan parenteral atau infus. Pelarut dalam sediaan sirup seringkali tercemar etilen glikol diantaranya adalah gliserin dan propilenglikol, hal ini harus diperhatikan karena etilen glikol dapat berbahaya jika dikonsumsi melebihi kadar batas aman (Holloway *et al.*, 2010). Salah satu jenis sirup yang mengandung etilen glikol adalah *Unibebi Cough Syrup* yang didalam formulanya menggunakan propilenglikol sebagai pelarut. Menurut FI VI syarat batas aman untuk gliserol dan propilenglikol adalah <0,1% serta 0,25 dalam polietilen glikol.

Cemaran etilen glikol yang tinggi dapat membahayakan kesehatan manusia jika dikonsumsi, maka dengan pengujian Sirup x pada hewan dapat diketahui kadar cemaran etilen glikol dalam sediaan sirup *Unibebi Cough Syrup*. Hewan uji coba seperti mencit (*Mus musculus*) cocok untuk digunakan dalam penelitian pemberian dosis dikarenakan mencit memiliki struktur tubuh yang mudah dipahami, dan karakteristik mencit yang mirip dengan manusia (Marwati *et al.*, 2018). Pengujian kadar etilen glikol pada hewan dapat dilakukan melalui sampel darah karena darah mengandung informasi mengenai zat kimia yang ada dalam tubuh hewan uji, maka pemeriksaan kadar zat dalam darah merupakan metode yang tepat untuk dilakukan (Rasyid *et al.*, 2015). Dengan demikian, untuk melihat perbedaan kadar etilen glikol dapat diamati pada darah mencit (*Mus musculus*).

Metode yang dapat digunakan untuk melihat perbedaan kandungan etilen glikol dalam suatu sediaan farmasi adalah kromatografi gas. Metode kromatografi gas dapat digunakan untuk mengidentifikasi etilen glikol karena metode ini cukup kuat dan sensitif untuk secara jelas mengidentifikasi kandungan etilen glikol dalam sediaan farmasi, metode kromatografi gas lebih efisien ketika berhadapan dengan sampel dalam jumlah kecil, metode ini telah divalidasi dan menunjukkan data yang memuaskan untuk semua parameter validasi yang diuji (Holloway *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian berkaitan dengan identifikasi etilen glikol adalah penelitian yang dilakukan oleh Holloway *et al* (2010) yang melakukan identifikasi etilen glikol pada produk yang mengandung gliserin serta melakukan validasi dengan metode kromatografi gas pada pasta gigi, berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa etilen glikol terdeteksi pada produk dengan konsentrasi lebih dari 0,1 % dan metode kromatografi gas yang dikembangkan cukup kuat dan sensitif untuk mampu mengidentifikasi etilen glikol. Penelitian yang dilakukan oleh Wurita *et al* (2013) dengan meneliti kandungan etilen glikol dalam darah manusia setelah mengonsumsi minuman berenergi yang mengandung polietilen glikol, yang dianalisis menggunakan metode kromatografi gas didapatkan kandungan etilen glikol yang tinggi dalam darah dan metode kromatografi gas yang digunakan sangat sensitif dan dapat digunakan untuk identifikasi etilen glikol dalam darah.

G Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disusun suatu hipotesis berikut:

1. Metode kromatografi gas dapat mengidentifikasi kadar etilen glikol dalam darah mencit (*Mus musculus*).
2. Kadar cemaran etilen glikol semakin tinggi sesuai dengan peningkatan dosis dalam darah mencit (*Mus musculus*).