

# Laporan Kegiatan

## Penelitian Optimasi Metode Ekstraksi Nikotin dari Limbah Agrowaste Tembakau

Kolaborasi riset dengan PT. Sadhana



**UBAYA**  
UNIVERSITAS SURABAYA

Oleh:

**Johan Sukweenadhi, Ph.D.**

**Fakultas Teknobiologi  
Universitas Surabaya  
2022**

## HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Kegiatan** : Penelitian Optimasi Metode Ekstraksi Nikotin dari Limbah Agrowaste Tembakau

**Pelaksana**

**Nama Lengkap** : Johan Sukweenadhi, Ph.D.

**NPK/NIDN** : 211016/ 0703028401

**Jabatan Fungsional** : Lektor 200

**Fakultas/Program studi** : Teknobiologi/ Biologi

**Hp** : 081232818580

**Email** : sukwee@staff.ubaya.ac.id

**Pelaksanaan Kegiatan** : September 2021- Januari 2022

**Lokasi** : Universitas Surabaya dan PT. Sadhana

**Sumber pendanaan** : Pihak ketiga (PT. Sadhana)

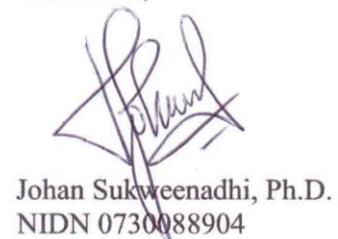
**Total anggaran** : Rp 7.500.000

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Teknobiologi,



Dr. ref. nat Sulistyono Emantoko Dwi Putra, S.Si., M.Si.  
NIDN 0701127303

Pelaksana,



Johan Sukweenadhi, Ph.D.  
NIDN 0730088904

Mengetahui,  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM)  
Universitas Surabaya



Prof. Suyanto, S.E., M.Ec.Dev., Ph.D.  
NIDN 0716027601

# DAFTAR ISI

Pendahuluan.....	1
Tinjauan Pustaka.....	3
Pelaksanaan Kegiatan .....	9
Kesimpulan dan Saran .....	111
Daftar Pustaka.....	25
Lampiran.....	28

# Pendahuluan

## I. Tujuan:

Adapun tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Membandingkan metode ekstraksi soxhletasi dan ekstraksi ultrasonik dengan bantuan sonikasi terhadap konsentrasi nikotin dari limbah batang dan debu tembakau;
2. Membandingkan jenis pelarut ekstraksi yaitu metanol dan akuades terhadap yield dan konsentrasi nikotin dari limbah batang dan debu tembakau;
3. Mengetahui komposisi fase gerak yang optimal yang akan digunakan sebagai elusi nikotin dalam metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT);
4. Mengetahui kondisi yang optimal dalam memisahkan sampel ekstrak batang tembakau menggunakan metode HPLC fase terbalik.

## II. Latar belakang

Di Indonesia pada tahun 2018 produktivitas tembakau mencapai 181.095 Ton (Statistik Perkebunan Indonesia, 2018). Namun, perindustrian tembakau sering kali hanya memanfaatkan daun tembakau saja sebagai bahan dasar suatu produk karena kadar nikotin terbesar berada pada daunnya. Pada penelitian Gloria (2008) dalam Suhenry (2010) tanaman tembakau memiliki senyawa nikotin terutama terdapat di dalam daunnya. Kadar nikotin dalam daun tembakau berkisar sekitar 4% dan pada tanaman tembakau jenis tertentu memiliki kadar nikotin di dalam daunnya hingga mencapai 8%. Alhasil, produk sampingan tembakau selama ini belum dimanfaatkan secara maksimal dan hanya dibuang sebagai limbah seperti gagang, batang, bunga, kulit, dan akar dari tanaman tembakau. Limbah batang tembakau yang dihasilkan dari kegiatan olahan tembakau di Indonesia cukup tinggi mencapai 49.966 ton/tahun. Namun penanganan limbah batang tembakau saat ini hanya dilakukan dengan proses pembakaran. Pembakaran batang tembakau memiliki dampak buruk terhadap lingkungan karena batang tembakau masih mengandung nikotin. Sementara bentuk pemanfaatan yang lain yaitu sebagai kompos organik yang juga belum optimal dalam pemanfaatan limbah batang tembakau karena karakteristik dari batang tembakau tersebut yang lebih keras dibandingkan bahan baku kompos organik yang biasa digunakan oleh petani (Sarjan & Irwan, 2007).

Menurut penelitian Peševski, et al, (2010) nikotin juga terakumulasi di akar tanaman tembakau, terutama dari nitrogen yang terserap di dalam tanah dan akan ditemukan di semua bagian tanaman, kecuali pada biji tanaman. Distribusi nikotin dalam setiap jenis tembakau berbeda-beda, dalam penelitian Bajlov dan Popov (1965) melaporkan kandungan nikotin pada batang tembakau di Basma sebesar 0,278% dan pada penelitian Liu et al, (2015) kadar nikotin pada batang tembakau varietas Cina memiliki nikotin (%) sebesar  $0,26 \pm 0,08$ . Hal ini membuktikan bahwa limbah batang tembakau masih ada kadar nikotin yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber nikotin. Nikotin pada limbah batang tembakau ini nantinya akan digunakan untuk menaikkan kadar nikotin dalam proses produktivitas salah satu produk yang akan menggantikan rokok konvensional misalnya cigarette Heat not Burn (HnB) dan dengan adanya pemanfaatan limbah batang tembakau ini menghasilkan zero waste dalam suatu produktivitas.

Debu tembakau adalah debu yang dihasilkan selama proses perajangan daun tembakau. Debu tembakau merupakan limbah tembakau yang mengandung karbon organik, nitrogen, fosfor dan kalium (Hermawan dkk, 2017). Berdasarkan informasi suatu pabrik tembakau, sebuah gudang pabrik rokok mampu menghasilkan sekitar 0,4 ton debu tembakau per hari (Syaputra, 2017). Debu tembakau merupakan sebuah permasalahan bagi industri tembakau karena debu tembakau belum dapat dimanfaatkan dan pada umumnya debu ini dibuang atau dibiarkan menumpuk dalam gudang. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan nikotin dan berapa banyak kadarnya yang terdapat di dalam limbah debu tembakau.

Metode ekstraksi nikotin yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstraksi soxhletasi dan ekstraksi ultrasonik dengan bantuan sonikator. Pada ekstraksi sonikasi memungkinkan melakukan ekstraksi dalam suhu ruang dan waktu yang digunakan lebih singkat sehingga lebih efisien, aman dan metode ini mampu meningkatkan jumlah rendemen (Zou et al, 2013). Sedangkan dalam ekstraksi soxhletasi yield yang dihasilkan besar (Suhenny, 2010) namun membutuhkan waktu ekstraksi yang lama dan sampel serta pelarutnya harus memiliki ketahanan terhadap panas. Dalam penelitian ini akan dilakukan ekstraksi dengan variable metode ekstraksi sonikasi dan soxhletasi; serta variabel jenis pelarut yaitu metanol dan air. Menurut Mulyadi et al (2013) nikotin larut baik pada pelarut seperti alkohol, kloroform, eter, petroleum eter, minyak tanah dan air, metode analisa yang digunakan adalah High Performance Liquid Chromatography (HPLC). HPLC fase terbalik menggunakan kolom fase diam Oktadesil silika karena mampu zero waste dalam produktivitas tembakau.

# Tinjauan Pustaka

## Tembakau

Tembakau (*Nicotiana tabacum*) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Utara dan Amerika Selatan. Tembakau adalah salah satu jenis tanaman perkebunan yang paling banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia. Bagian dari tanaman tembakau berguna sebagai bahan baku dalam industri pembuatan rokok. Tanaman tembakau ditampilkan pada **Gambar 1**. Berikut ini taksonomi dari tanaman tembakau:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Solanales  
Famili : Solanaceae  
Genus : *Nicotiana*  
Spesies : *Nicotiana tabacum L.*

(Tjitrosoepomo, 2007)



**Gambar 1.** Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*)

## Bagian Tanaman Tembakau

Akar tanaman tembakau tergolong akar tunggang yang memiliki panjang 50-75 cm. Akar tunggang tumbuh ke dalam tanah dan pada sisi sampingnya tumbuh akar-akar kecil yang merupakan akar serabut. Selain itu, akar tanaman tembakau juga memiliki bulu-bulu akar. Tanah

yang dan mudah menyerap air mendukung pertumbuhan akar tembakau dengan baik (Puspita, 2011). Tembakau memiliki batang yang agak lunak, bulat, dan mempunyai ujung yang makin kecil. Ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun, dan batang tanaman tidak atau sedikit bercabang. Setiap ruas batang memiliki daun dan ketiak daun. Ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun dan batang. (Susilowati, 2006).

### **Nikotin**

Nikotin merupakan salah satu zat yang tergolong zat alkaloid. Nikotin adalah bahan alkaloid toksik yang merupakan senyawa amin tersier, bersifat basa lemah dengan pH 8,0. Zat alkaloid telah diketahui memiliki sifat farmakologi, seperti efek stimulan dari kafein yang meningkatkan tekanan darah dan detak jantung (Susilowati, 2006). Nikotin (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>) adalah senyawa alkaloid toksis yang dipisahkan dari tembakau dan merupakan senyawa amin tersier yang dalam kimia organik sebagai 1- metil-2-pirolidin (3-piridin). Nikotin dalam keadaan murni tidak berwarna, berupa minyak cair mudah menguap, larut dalam alkohol, eter dan petroleum eter. Nikotin mendidih pada suhu 246-247°C dan membeku pada suhu di bawah 80°C. Pada suhu rendah sedikit berbau tetapi jika dipanaskan akan dihasilkan uap yang berbau merangsang dan akan bereaksi dengan udara yang ditandai dengan perubahan warna menjadi cokelat (Hammado, 2014). Sebagai senyawa berbahan dasar nitrogen, nikotin dapat membentuk garam dengan asam yang biasanya padat dan bersifat larut dalam air. Nikotin mudah menembus kulit. Nikotin basa bebas akan terbakar pada suhu di bawah titik didihnya (boiling point 247°C). Karena itu, sebagian besar nikotin terbakar ketika rokok dihisap, namun sisanya yang dihirup cukup untuk memberikan efek yang diinginkan (Hartono, 2011).

### **Debu Tembakau**

Debu tembakau merupakan salah satu waste atau limbah dari industri pengolahan tembakau. Debu tembakau mengandung beberapa senyawa seperti karbon (C) dan nitrogen (N) yang cukup tinggi. Debu tembakau kaya akan nitrogen (N) (2,35%), kalium (K) (1,95%) dan fosfor (P) (937 µg/g) (Chaturvedi et al, 2008). Pada penelitian yang dilakukan oleh Syahputra dan Subiyakto pada tahun 2017, debu tembakau berperan sebagai kompos yang dapat memperbaiki kualitas dan mempercepat proses pengomposan selama 30 hari (Syahputra dan Subiyakto, 2017). Namun saat ini, penggunaan debu tembakau masih sedikit, sehingga banyak

debu tembakau yang dibiarkan menumpuk di gudang. Hal ini merupakan salah satu permasalahan bagi industri tembakau dan pabrik rokok. Cercloglu dan Okur (2010) menyebutkan bahwa debu tembakau yang dihasilkan industri rokok belum dimanfaatkan secara langsung atau digunakan untuk keperluan lain. Perusahaan rokok harus membayar biaya pembuangannya. Jenis limbah agroindustri ini dibakar atau dikirim ke pabrik pembakaran untuk mengurangi tumpukan limbah. Menurut informasi yang didapatkan dari PT. Sadhana sebagai pabrik pengolahan tembakau, debu tembakau diperoleh dari proses feeding atau pemasukan bagian tumbuhan tembakau kemudian dilakukan pengkondisian kelembaban. Selanjutnya dipisahkan antara *Tobacco Related Material* dan *Non-Tobacco Related Material* (NTRM). Debu tembakau ini merupakan NTRM.

### **Batang Tembakau**

Batang tembakau kering memiliki lignin dan tulang rusuk daun bagian tengah berukuran besar dan memiliki struktur pulp. Dinding sel xilem batang tembakau mengandung 40-50% lignin (Hepworth & Vincent, 1998). Nikotin dibuat di akar tanaman tembakau, terutama dari pembentukan nitrogen yang terserap di dalam tanah dan akan ditemukan di semua bagian tanaman, kecuali pada biji tanaman (Peševski et al, 2010). Distribusi nikotin dalam setiap jenis tembakau berbeda-beda, dalam penelitian Bajlov dan Popov (1965) melaporkan kandungan nikotin pada batang tembakau di Basma sebesar 0,278% (Peševski et al, 2010). Dalam penelitian Liu *et al* (2015) komposisi kimia terhadap batang tembakau sehat varietas Cina sebelum dilakukan pengenceran inokulum dapat dilihat pada tabel di berikut ini:

**Tabel 1** Komposisi Kimia Batang Tembakau Varietas Cina

<i>Parameter (%)</i>	<i>Komposisi Batang Tembakau</i>
<i>TS</i>	94,11 ± 0,06
<i>VS</i>	87,93 ± 0,13
<i>Cellulose</i>	56,10 ± 0,24
<i>HC</i>	22,44 ± 0,20
<i>TOC</i>	44,61 ± 3,44
<i>TN</i>	0,83 ± 0,02



<i>C:N</i>	53,74
<i>Lignin</i>	15,11 ± 2,33
<i>Nicotine</i>	0,26 ± 0,08

Sumber: Liu *et al*, 2015

### **Ekstraksi Ultrasonik**

Ekstraksi ultrasonik (Ultrasonic Assisted Extraction) merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melalui gelombang ultrasonik dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat meningkatkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih maksimal. Proses dari ekstraksi ultrasonik yaitu gelombang ultrasonik mengenai sampel menyebabkan tegangan mekanik, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang-ruang kecil dan gelombang ini menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi ini merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro yang dikarenakan meningkatnya tekanan pada ekstraksi akibat gelombang ultrasonik. Gelembung kavitasi tersebut akan memecah dinding sel dan pelarut akan berdifusi dalam sel, sehingga senyawa alkaloid yang ada di dalam sel akan keluar dan terekstraksi.

### **Soxhletasi**

Soxhlet merupakan salah satu metode ekstraksi panas yang digunakan untuk pelarut yang mudah menguap. Prinsip Soxhletasi adalah penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang-ulang. Kadji *et al*. (2013) menyatakan, ekstraksi cara Soxhlet menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan maserasi. Hal ini disebabkan karena dengan adanya perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa- senyawa yang tidak larut di dalam kondisi suhu kamar serta terjadinya penarikan senyawa yang lebih maksimal oleh pelarut yang selalu bersirkulasi dalam proses kontak dengan simplisia sehingga memberikan peningkatan rendemen.

### **Ekstraksi Cair-Cair**

Ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia di antara 2 fase pelarut yang tidak saling bercampur di mana sebagian komponen larut pada fase pertama dan

sebagian larut pada fase kedua, lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Salah satu fasenya seringkali berupa air dan fase yang lain adalah pelarut organik seperti kloroform atau petroleum eter. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan ditemukan di dalam fase air, sementara senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik akan masuk pada pelarut organik. Analit yang terekstraksi ke dalam pelarut organik akan mudah diperoleh kembali dengan cara penguapan pelarut, sementara analit yang masuk ke dalam fase air seringkali diinjeksikan secara langsung ke dalam kolom (Sari, 2017). Dalam bentuk yang paling sederhana, suatu alikot larutan air dikocok dengan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air. Kebanyakan prosedur ekstraksi cair-cair melibatkan ekstraksi analit dari fase air ke dalam pelarut organik yang bersifat non polar atau agak polar seperti n-heksan, metilbenzen atau diklorometan. Meskipun demikian, proses sebaliknya (ekstraksi analit dari pelarut organik non polar ke dalam air) juga mungkin terjadi. Dengan kata lain, dalam ekstraksi cair-cair ini tidaklah mungkin untuk mencapai 100% analit terekstraksi pada salah satu fase pelarut (Arum, 2015).

### **Kromatografi Lapis Tipis**

Prinsip dasar pada kromatografi lapis tipis yaitu pemisahan campuran berdasarkan perbedaan interaksi senyawa pada 2 fase yang berbeda yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan dalam analisis alkaloid adalah plat KLT silika gel F254. Permukaan silika gel sangat polar karena terdapat gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa-senyawa yang sesuai disekitarnya. KLT mempunyai peranan penting dalam pemisahan senyawa organik maupun senyawa anorganik, karena relatif sederhana dan kecepatan analisisnya. Di dalam analisis dengan KLT, sampel dalam jumlah yang sangat kecil ditotolkan menggunakan pipa kapiler di atas permukaan pelat tipis fasa diam (adsorbent), kemudian pelat diletakkan dengan tegak dalam bejana pengembang yang berisi sedikit pelarut pengembang. Oleh aksi kapiler pelarut mengembang naik sepanjang permukaan lapisan pelat dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam sampel. Pemilihan fasa gerak yang tepat merupakan langkah yang sangat penting untuk keberhasilan analisis dengan KLT (Atun, 2014). Sebagaimana halnya gaya Van der Waals dan atraksi dipol-dipol. Pada umumnya senyawa

aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm (Wulandari, 2011). Analisis kualitatif nikotin dalam penelitian Fidrianny et al (2005) dilakukan secara kromatografi lapis tipis dengan membandingkan harga Rf antara bercak sampel dan bercak nikotin standar, dengan menggunakan fase diam silika gel G60, pengembang yang digunakan yaitu metanol : amonia (200:3) dan pada penelitian Firdaus & Utami (2009) Pemisahan dan identifikasi dengan KLT digunakan fase diam silika gel F254 dan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4). Untuk menampakkan bercak dilakukan pengamatan di bawah lampu UV 254 dan 365 nm. Penampak bercak yang digunakan untuk identifikasi senyawa adalah Dragendorff apabila timbul warna oranye, maka dugaan sampel mengandung nikotin sebagai senyawa alkaloid semakin kuat (Hartini et al, 2011).

### **High Performance Liquid Chromatography (HPLC)**

Kromatografi adalah suatu teknik analisis berdasarkan proses pemisahan suatu zat atau molekul karena perbedaan sifat. Menurut fase geraknya, kromatografi dibedakan menjadi kromatografi cair dan gas. Salah satu kromatografi cair yang banyak digunakan di dalam analisis bidang farmasi yaitu kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau lebih dikenal dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi merupakan teknik analisis kromatografi cair yang digunakan baik dalam analisis kualitatif yaitu dalam bentuk pemisahan senyawa maupun dalam analisis kuantitatif yaitu penentuan jumlah senyawa di dalam suatu larutan. Adapun prinsip dari HPLC yaitu suatu sampel berupa larutan diinjeksikan ke dalam kolom yang berisi fase diam dan fase gerak, kemudian diberikan tekanan tinggi sehingga fase gerak dapat mengelusi sampel keluar dari kolom dan terdeteksi oleh detektor yang kemudian dihasilkan kromatogram (Charde dkk, 2014).

## Pelaksanaan Kegiatan

### I. Waktu dan Tempat Kegiatan

Kegiatan ini berlangsung secara offline pada September 2021 - Januari 2022 di PT. Sadhana, Laboratorium Biologi Molekuler dan Purifikasi Bioproduk serta Laboratorium Bionutrisi dan Inovasi Pangan, Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya

### II. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Beaker glass 50 mL-1000 mL, tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, spektrofotometer UV-Vis, instrumen High Performance Liquid Chromatography (HPLC), kolom C18, set alat ekstraksi soxhlet, corong pisah, rotary evaporator, labu takar 5 mL, oven, waterbath, cawan porselen, evaporator, timbangan analitik, pH meter, spektrofotometer UV-Vis, milipore, kuvet, ayakan mesh, labu takar 5-10 mL, kertas saring, evaporator, mikropipet 1-10  $\mu$ L, mikropipet 10-100  $\mu$ L, plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) F254, chamber, dan TLC Scanner.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: debu dan batang tembakau hasil pengolahan PT Sadhana, kloroform, akuades, metanol, asetonitril, natrium hidroksida, larutan baku nikotin 99,9% (liquid vape), amonium asetat dan natrium asetat (untuk membuat buffer asetat), metanol LC-grade, asetonitril LC-grade, asam klorida (HCl) 1M, natrium hidroksida (NaOH) 4M.

### III. Metodologi

#### Variabel Penelitian dan Parameter Pengukuran

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut (akuades dan kloroform) serta metode ekstraksi sonikasi ultrasonik dan metode soxhlet. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah konsentrasi nikotin dari ekstrak batang tembakau dan debu tembakau.

#### Penerimaan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu debu dan batang tembakau. Sampel diperoleh dari sebuah industri pengolahan tembakau yaitu PT Sadhana, yang merupakan limbah atau hasil proses akhir dari industri yang sudah tidak terpakai.

#### Preparasi Sampel

Debu tembakau yang sudah diperoleh, dikeringkan terlebih dahulu. Pengeringan debu tembakau menggunakan oven pada suhu 105°C. selama ±15 menit. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kadar air pada serbuk debu tembakau dan juga untuk mengeliminasi kotoran yang mungkin terdapat pada debu tembakau. Setelah mengeringkan debu tembakau, dilakukan pengayakan mesh 100. Pengayakan bertujuan untuk mendapatkan simplisia (debu tembakau) yang berukuran sama. Limbah batang tembakau dicuci untuk menghilangkan kotoran kemudian dipotong dan dikeringkan pada panas matahari selama 7 hari. Limbah batang tembakau yang telah dikeringkan kemudian digiling dengan alat penggiling (grinder) hingga menjadi serbuk tembakau agar ukurannya menjadi seragam, serbuk batang tembakau kemudian dihaluskan dengan alat penepung (dishmill) serbuk halus batang tembakau kemudian di ayak menggunakan ayakan mesh ukuran 70 agar ukuran serbuk menjadi seragam, kemudian ±1 g sampel disiapkan untuk dilakukan pengukuran kadar air sedangkan ±1200 g sampel disiapkan untuk dilakukan ekstraksi dengan variabel penelitian yaitu metode ekstraksi dan jenis pelarut;

#### Penentuan Kadar Air

Sebanyak 10 g sampel dimasukkan ke dalam cawan crucible kosong kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 100oC selama ±5 jam kemudian diletakkan ke dalam desikator selama 24 jam (Li et al, 2011). Setelah divakum dalam desikator, sampel yang sudah dihilangkan kadar airnya kemudian ditimbang dan dibandingkan hasil sebelum dan sesudah diletakkan ke dalam desikator. Untuk menghitung kadar air, digunakan rumus sebagai berikut:

$$\%Kadar\ air = \frac{(W-W1)}{W} \times 100\%$$

W = Berat sampel + crucible awal

W1 = Berat sampel + crucible setelah dikeringkan

#### Perolehan Ekstrak dengan Metode Soxhletasi

Sebanyak 10 g sampel yang sudah dikeringkan dan di ayak, diesktraksi menggunakan metode soxhletasi. Masing-masing larutan dengan variabel pelarut berbeda sebanyak 100 mL diekstraksikan dengan sampel limbah embakau yang sudah dibungkus dengan kertas saring dengan waktu pemanasan 6 jam. Selama proses soxhletasi, ditambahkan batu didih dan kondensor sebagai pendingin. Filtrat hasil ekstraksi soxhletasi kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 55°C (pelarut metanol)/70°C (pelarut akuades)

#### Perolehan Ekstrak dengan Metode Ultrasonik

Sebanyak 10 g sampel limbah tembakau yang telah di ayak, dilarutkan dengan 100 mL pelarut. Sampel kemudian diekstraksi ultrasonik selama 30 menit kemudian disaring menggunakan kertas

saring untuk memperoleh ekstraknya. Filtrat hasil ekstraksi ultrasonik kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 55°C (pelarut metanol)/70°C (pelarut akuades).

#### Ekstraksi Cair-Cair (Fraksinasi)

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 10 mL HCl 1M encer dalam gelas beker 50 mL. HCl bertujuan untuk menjadikan molekul basa nikotin menjadi garam sehingga larut dalam fase air. Setelah itu disonikasi selama 30 menit. Ke dalam corong pisah, ditambahkan ekstrak dan 10 mL kloroform. Corong dikocok (dibolak-balikkan) selama 5 menit dan terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (fase air) diambil dan ditambahkan NaOH sedikit demi sedikit sampai pH menjadi basa ( $\pm$ pH 11-12) sambil dihomogenkan menggunakan stirrer selama 5 menit. Setelah pH sampel menjadi basa, ditambahkan kloroform sebanyak 10 mL. Fase bawah (kloroform) kemudian diuapkan hingga kloroform menguap sepenuhnya. Residu yang telah diuapkan kloroformnya, dilarutkan dengan fase gerak dan dimasukkan ke dalam labu takar. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

#### Pembuatan Larutan Baku Nikotin

Pada penelitian ini digunakan larutan baku nikotin liquid vape dengan kemurnian 99,9%.

Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 2 ppm dan diencerkan menggunakan fase gerak. Pembuatan seri larutan baku dilakukan dengan membuat tiga level konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi rendah (0,01 ppm dan 0,03 ppm), konsentrasi menengah (0,05 ppm dan 0,07 ppm), dan konsentrasi tinggi (0,09 ppm). Tujuan dibuatnya larutan baku dengan level konsentrasi berbeda yaitu untuk mengetahui respon detektor yang muncul pada ketiga level konsentrasi larutan. Larutan baku ini dibuat dengan metode pengenceran bertingkat kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan diencerkan dengan fase gerak sampai mencapai tanda dan disaring menggunakan Milipore serta dibiarkan selama 15 menit. Replikasi telah dilakukan sebanyak 3 kali.

#### Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Nikotin

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan agar dapat mengetahui panjang gelombang dari nikotin yang kemudian dimasukkan ke dalam HPLC. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang 225-300 nm. Hal ini dikarenakan panjang gelombang maksimum senyawa nikotin berada pada rentang 225-300 nm (Dewi, 2012). Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum, dilakukan penentuan kurva kalibrasi menggunakan konsentrasi dari seri larutan baku nikotin.

#### Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 jenis larutan yang berbeda, yaitu

metanol:asetonitril:buffer asetat. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan fase gerak yaitu kompatibilitas antar pelarut, polaritas, kelarutan sampel, viskositas, stabilitas, dan pH. Fase gerak juga harus dapat tercampur dengan baik dan tidak terdapat endapan bila tercampur dengan pelarut lain. Metanol dan asetonitril merupakan pelarut organik yang paling umum digunakan sebagai fase gerak pada reversed chromatography. Asetonitril memiliki UV-cutoff yang rendah sehingga cocok digunakan dalam aplikasi yang membutuhkan panjang gelombang deteksi UV yang rendah. Selain itu, asetonitril memiliki viskositas yang rendah dan titik didih yang tinggi. Metanol tergolong larutan polar-protik, sedangkan asetonitril merupakan larutan polar- aprotik. Kedua larutan yang digunakan dalam fase gerak karena memiliki efek yang kuat pada selektivitas kromatografi. Metanol bersifat less toxic (Hopkins, 2019). Buffer asetat dapat mempertahankan pH dan juga dapat digunakan sebagai campuran fase gerak untuk pada analisis senyawa yang mudah terion.

#### Optimasi Komposisi Fase Gerak Menggunakan KLT

Setelah pengestraksian sampel, dilakukan optimasi komposisi fase gerak menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebanyak 20  $\mu$ L ekstrak ditotolkan pada plat F254 yang telah dipotong sebesar  $1 \times 10$  cm dan dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$ . Pemberian noda dilakukan dengan jarak 1 cm dari atas dan bawah plat, serta 1 cm dari sisi kiri dan kanan plat. Plat dimasukkan ke dalam chamber berukuran  $10 \times 10 \times 5$  cm, eluen dibiarkan hingga mencapai batas 8,5 cm dari batas bawah. Setelah itu, plat dikeringkan kemudian dicek pada sinar UV untuk melihat spot yang dihasilkan. Pada optimasi menggunakan KLT ini, dapat ditentukan perbandingan komposisi fase gerak metanol:asetonitril:buffer asetat yang paling optimal. Noda yang dihasilkan dihitung Rf-nya dan dipilih komposisi yang menghasilkan Rf antara 0,2-0,8 untuk hasil yang optimal (Kartikawati, 2016). Perbandingan lain akan diuji untuk mengetahui komposisi optimalnya.

#### Pembuatan Kurva Baku Nikotin

Seri larutan baku nikotin yang telah dibuat, disaring menggunakan milipore kemudian dibiarkan selama 15 menit, kemudian diinjeksikan pada HPLC sistem fase terbalik sebanyak 20  $\mu$ L. Dari hasil HPLC akan diperoleh kromatogram yang menunjukkan peak dengan luas area dan konsentrasi nikotin. Dari hasil HPLC, dapat ditentukan kurva baku nikotin dengan persamaan  $y = bx + a$

#### Optimasi Fase Gerak dan Laju Alir Menggunakan HPLC

Setelah menentukan komposisi fase gerak yang optimal pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dilakukan optimasi fase gerak menggunakan HPLC. Campuran Buffer Asetat : Metanol :Asetonitril dibuat dengan tiga perbandingan komposisi yang berbeda. Fase gerak tersebut dianalisis di HPLC dengan menggunakan tiga jenis larutan yaitu sampel, sampel yang sudah dicampurkan dengan

standar, dan standar 0,045 ppm. Selain itu, optimasi laju alir dilakukan dengan beberapa laju alir yang berbeda.

#### Penentuan Resolusi Sampel

Spesifitas dari suatu metode ditentukan dengan cara melihat resolusi dari peak yang dihasilkan oleh kromatogram. Larutan hasil ekstraksi sebanyak 20  $\mu\text{L}$  disaring menggunakan milipore dan dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya, ekstrak diinjeksikan ke dalam instrumen HPLC fase terbalik dengan menggunakan detektor UV. Detektor UV digunakan karena disesuaikan dengan panjang gelombang pada nikotin. Kolom yang digunakan yaitu kolom C18 sebagai fase diam dan larutan metanol:asetonitril:buffer asetat sebagai fase gerak dengan optimasi volume pada kecepatan alir 0,2 mL/menit. Repetisi dilakukan sebanyak 3 kali. Penentuan resolusi dilakukan dengan memasukkan selisih waktu retensi dan lebar setengah tinggi peak nikotin ke dalam rumus perhitungan resolusi. Resolusi akan dihitung jika terdapat dua peak yang memiliki waktu retensi yang saling berdekatan.

#### Penentuan Waktu Retensi

Waktu retensi ( $t_R$ ) diukur pada saat kondisi HPLC konstan dan stabil. Pengamatan waktu retensi dilakukan dengan mengamati waktu retensi dari peak sampel. Waktu retensi ini akan dibandingkan dengan larutan baku nikotin.

#### Analisis Kuantitatif Nikotin

Analisis kuantitatif merupakan identifikasi terhadap jumlah kadar analit dalam sampel atau ekstrak. Kuantifikasi dapat ditentukan dengan mengukur tinggi dan luas puncak.

#### Penentuan Persen Kembali (recovery) dan Variasi Koefisien Larutan Baku Nikotin

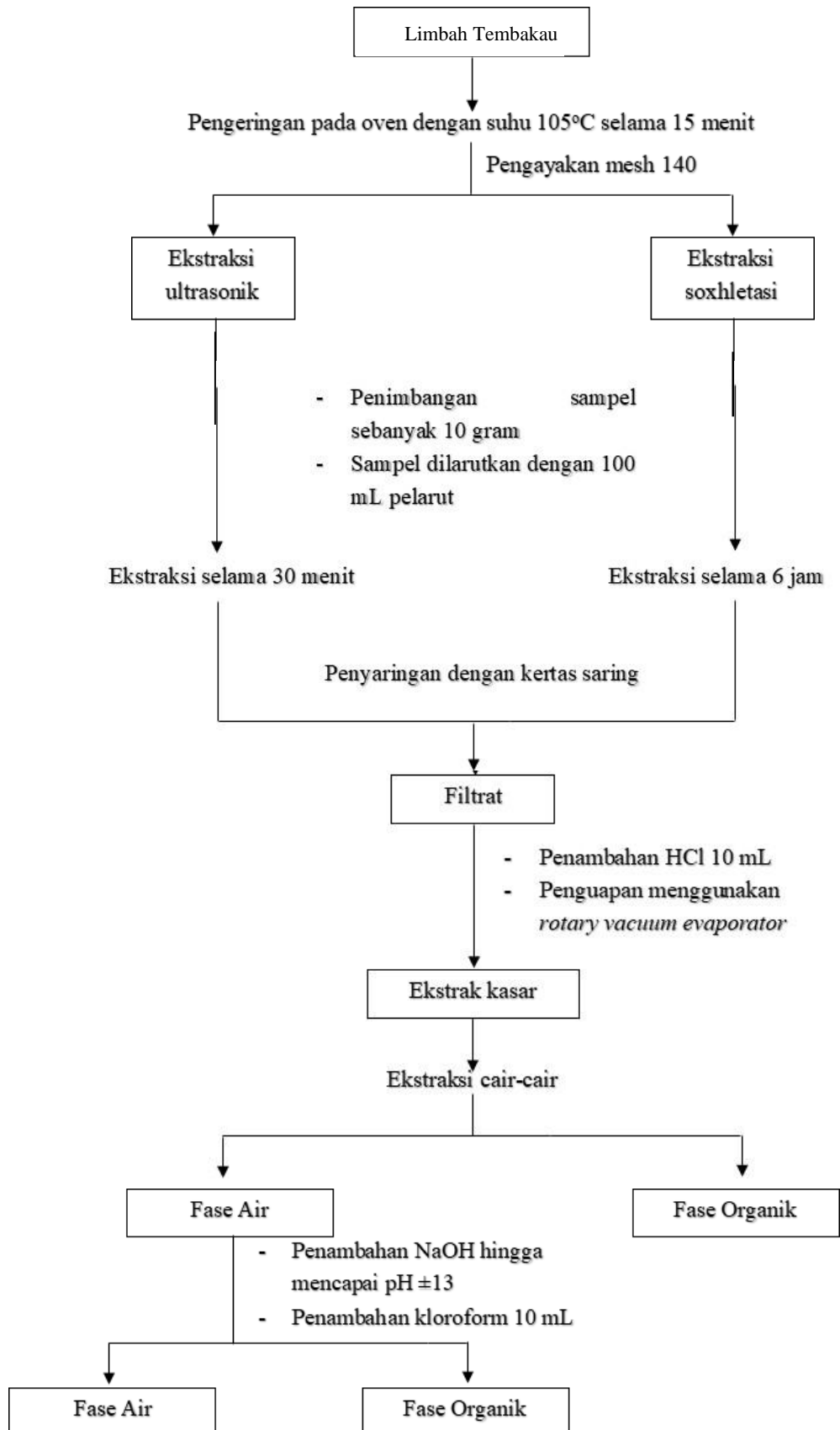
Larutan baku nikotin sebanyak 20  $\mu\text{L}$  dengan level konsentrasi rendah (0,01 ppm), level konsentrasi sedang (0,05 ppm), dan level konsentrasi tinggi (0,09 ppm) yang telah disaring menggunakan milipore dan dibiarkan selama 15 menit, diinjeksikan ke dalam instrumen HPLC fase terbalik. Fase diam berupa kolom C18 dan fase gerak berupa metanol:asetonitril:buffer asetat dengan volume yang paling optimal dengan kecepatan alir 0,2 mL/menit. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Konsentrasi nikotin diperoleh dengan memasukkan AUC (Area Under Curve) yang diperoleh ke dalam persamaan kurva baku. Setelah itu dihitung recovery, standar deviasi, dan variasi koefisien.

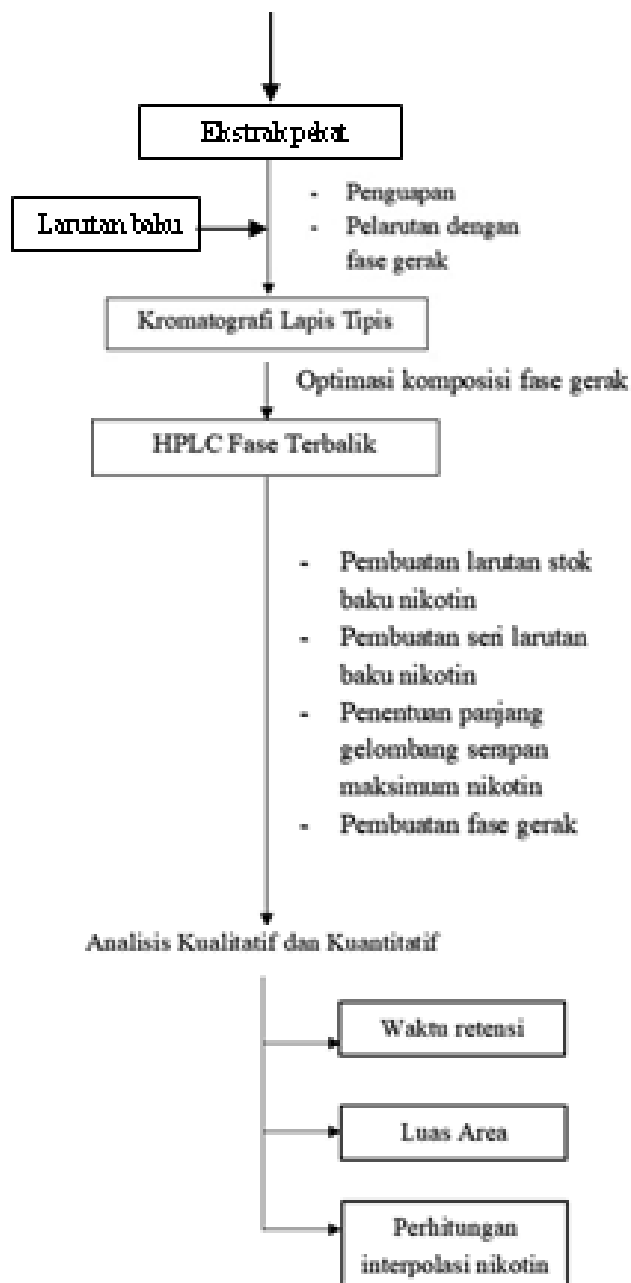
#### Penentuan persen kembali (recovery) dan Variasi Koefisien Larutan Adisi Baku Nikotin (Presisi)

Sampel dibuat 2 macam yaitu larutan sampel dan larutan sampel yang ditambahkan baku nikotin (adisi). Larutan sampel dibuat dengan mengambil ekstrak sampel sebanyak 500  $\mu\text{L}$  ke dalam labu



takar 5 mL, kemudian diencerkan dengan fase gerak hingga mencapai tanda. Larutan adisi dibuat dengan menambahkan 150  $\mu$ L larutan baku ke dalam larutan sampel ke dalam labu takar 5 mL kemudian diencerkan dengan fase gerak hingga mencapai tanda. Kedua larutan disaring menggunakan milipore dan dibiarkan di udara selama  $\pm 2$  menit, kemudian diinjeksikan ke dalam instrumen HPLC pada fase terbalik. Fase diam berupa kolom C18 dan fase gerak berupa larutan metanol:asetonitril:buffer asetat dengan volume yang optimal dan kecepatan alir yaitu 0,2 mL/menit. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar baku nikotin yang ditambahkan ke sampel merupakan selisih dari nilai kadar sampel adisi dan kadar sampel.


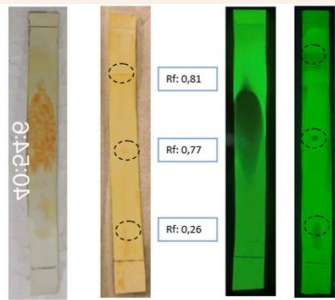




#### IV. Hasil dan Pembahasan

Tahap pertama yang dilakukan yaitu menentukan kadar air dari limbah debu tembakau. Tujuan dari penentuan kadar air limbah debu tembakau yaitu untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air di dalam simplisia. Hal ini disebabkan karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia. Secara umum persyaratan ekstrak menyatakan kadar air yang terkandung tidak lebih dari 10%. Bila kadar air yang terdapat dalam suatu ekstrak tinggi maka akan mudah untuk ditumbuhi mikroba (Alegantina, 2017). Cawan porselen (crucible) kosong, sampel debu, dan sampel dalam cawan ditimbang dengan

tiga kali replikasi. Sampel debu dari ketiga replikasi ditimbang dengan berat yang sama. Sampel limbah debu tembakau yang telah ditimbang kemudian diletakkan ke dalam oven selama 5 jam. Selanjutnya debu tembakau divakum ke dalam desikator. Vakum selama 24 jam untuk menghilangkan kadar airnya. Berat sampel rata-rata yang didapatkan setelah divakum ke dalam desikator yaitu sebesar  $\pm 1$  g. Berdasarkan perhitungan, didapatkan kadar air pada limbah debu tembakau sebesar 1.96% dan 3.66 % untuk batang tembakau.

Parameter	Debu Tembakau	Batang Tembakau
Kadar air	1,96%	3,66%
KLT		
Fase Gerak Optimal (KLT)	Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril = 40 : 54 : 6	Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril = 40 : 54 : 6
Kondisi Ekstraksi optimal	Ultrasonik Metanol 30 menit (dari data HPLC)	Soxhletasi Metanol 6 jam (dari data HPLC)
Fase Gerak Optimal (HPLC)	Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril = 30:50:20	Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril = 30:50:20

Untuk mengidentifikasi adanya senyawa nikotin dalam sampel dilakukan uji kualitatif dengan metode KLT dengan membandingkan antara sampel ekstrak metanol dengan standar Molecular Nic 1000 mg/mL dengan kondisi fase gerak yang sama yaitu fase gerak KLT-A yang merupakan komposisi optimal dari hasil KLT. Analisis kualitatif pada KLT ditentukan dengan membandingkan nilai Rf (Retardation Factor) sampel dengan nilai Rf senyawa standar untuk kondisi kromatografi yang sama dan plat yang sama (Fidrianny, 2005). Namun dalam penelitian ini digunakan plat yang berbeda karena human error. Dari hasil uji, setelah dilakukan elusi dan diangin-anginkan muncul noda samar berwarna oranye di 3 spot berbeda pada kromatogram. Di dalam sampel ini (ekstrak batang atau debu tembakau yang diekstraksi dengan metanol dengan metode ultrasonik) terdapat senyawa golongan alkaloid, dibuktikan dengan warna oranye setelah plat yang ditotolkan sampel di semprotkan reagen dagendorf yang dapat dibandingkan dengan standar Molecular Nic – 1000 setelah disemprot reagen dagendorf, warna totalan memiliki warna yang sama yaitu berwarna oranye yang semakin meyakinkan bahwa di

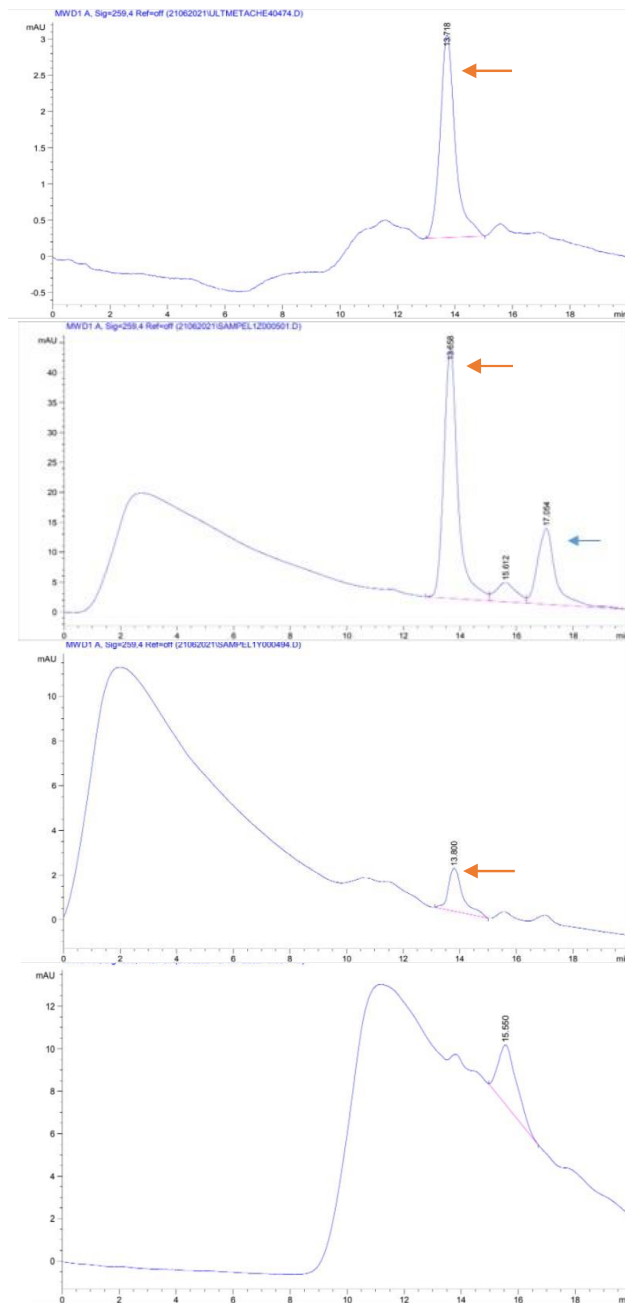
dalam sampel ada senyawa alkaloid yang diduga nikotin. Untuk sampel ekstrak batang tembakau, dalam plat tersebut terdiri dari 3 spot dengan nilai Rf masing-masing 0,267 pada spot pertama; 0,773 pada spot kedua dan 0,813 pada spot ketiga dan nilai Rf yang dihasilkan oleh standar Molecular Nic – 1000 nilai Rf 0,773 sehingga spot yang diduga senyawa alkaloid nikotin adalah spot kedua karena Rf dari sampel sama dengan Rf standar. Sementara, pada sampel debu tembakau, dihasilkan 2 spot pada Rf 0,44 dan Rf 0,76. Spot kedua juga yang diduga kuat adalah nikotin. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Susilowati (2006) yang mengisolasi nikotin dari daun tembakau menggunakan eluen pengembang n-heksana : metanol (7:3), nikotin dihasilkan pada Rf 0,75; sedangkan pada penelitian Kartikawati (2016) dengan eluen pengembang metanol : kloroform (1:1) nikotin berada pada Rf  $0,65 \pm 0,006$ .

Sebelum diinjeksikan ke dalam HPLC, perlu diketahui panjang gelombang serapan maksimum dari senyawa nikotin. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV. Secara teori dan penelitian sebelumnya, panjang gelombang maksimum nikotin yaitu 262 nm (Hidayat et al, 2016). Larutan baku standar diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, diantaranya 0,09; 0,07; 0,05; 0,03; dan 0,01 ppm. Larutan baku diencerkan dengan metode bertingkat. Pengenceran larutan baku menggunakan komposisi fase gerak yang optimal hasil dari optimasi fase gerak pada KLT yaitu komposisi Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril dengan perbandingan 40:54:6. Penetapan panjang gelombang maksimum ini menggunakan tiga seri larutan baku, di antaranya konsentrasi 0,09 0,07, dan 0,05 ppm yang merupakan perwakilan dari kelima larutan seri baku yang berbeda konsentrasi. Ketiga larutan seri baku tersebut kemudian dideteksi pada Spektrofotometer UV pada panjang gelombang 225-300 nm. Hal ini disebabkan karena panjang gelombang serapan maksimum nikotin berada pada rentang tersebut. Pada seri baku dengan konsentrasi 0,09 ppm dan 0,07 ppm menunjukkan panjang gelombang yang sama yaitu 259 nm. Sedangkan pada konsentrasi 0,05 ppm menunjukkan panjang gelombang 257 nm. Jika dirata-ratakan, panjang gelombang serapan maksimum yang didapatkan yaitu 258,3. Selisih panjang gelombang yang didapatkan dengan teori yaitu sebanyak 3 nm. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa lain yang terkandung dalam larutan baku, dikarenakan larutan baku yang dipakai merupakan larutan liquid vape atau e-cigarette dengan kandungan 99,9% natural pure nicotine (CAS No : 54-11-5) 10% dan Propanediol 90%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Clayton et al (2013), panjang gelombang nikotin yang terdeteksi pada spektrofotometer bergantung pada pH yang terkandung dalam nikotin. Menurut Bertrand et al (2018) adanya perubahan pada pH menyebabkan nikotin terprotonasi sehingga terbentuk chemical shifting yang menyebabkan adanya pergeseran peak pada panjang gelombang. Hal ini disebabkan karena dari liquid vape mengandung Propanediol. Panjang gelombang ini yang kemudian digunakan untuk mendeteksi senyawa nikotin pada HPLC menggunakan detektor UV.

Sebelum menginjeksi sampel, kondisi HPLC harus dalam keadaan optimal. Optimasi kondisi HPLC dilakukan dua kali, yaitu optimasi komposisi eluen (fase gerak) dan optimasi laju alir (flow rate).

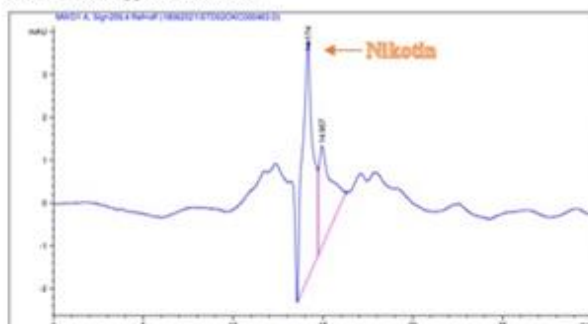
Detektor yang digunakan yaitu detektor UV. Hal ini disebabkan karena nikotin memiliki kromofor yang dapat menyerap radiasi elektromagnetik. Kolom (fase diam) yang digunakan yaitu kolom oktadesilsilan (C18). Kolom tersebut umum digunakan untuk mendeteksi nikotin. Sistem eluen yang digunakan yaitu isokratik dengan panjang gelombang 259 nm. Optimasi komposisi eluen dilakukan dengan tiga jenis komposisi eluen yang berbeda, yaitu perbandingan Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril yaitu 40:50:10 ; 40:45:15 ; dan 30:50:20 . Metanol memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan asetonitril, sedangkan buffer asetat berfungsi untuk mempertahankan pH sistem. Oleh sebab itu, dilakukan beberapa perbandingan komposisi yang berbeda agar peak pada nikotin dapat terdeteksi dan pemisahan senyawa lebih baik. Sampel yang diinjeksikan terdiri dari sampel yang diencerkan 2 kali, campuran sampel dan standar 0,09 ppm dengan jumlah yang sama, dan standar 0,045 ppm.

Setelah didapatkan komposisi eluen dan laju alir yang optimal, HPLC dapat digunakan untuk mengidentifikasi nikotin pada limbah debu tembakau. HPLC menjadi pilihan dalam mengidentifikasi nikotin dikarenakan mampu memisahkan zat berdasarkan kepolaran dengan baik dan memiliki selektivitas dan sensitivitas yang tinggi sehingga mampu mendeteksi kadar yang sangat kecil (Gritter et al, 1991). Ekstrak pekat yang telah diekstraksi cair-cair kemudian diencerkan dengan 5 mL fase gerak optimal yang telah didapatkan dari hasil KLT yaitu komposisi Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril perbandingan 40:54:6. Fase diam yang digunakan yaitu kolom oktadesilsilan atau C18. Sistem eluen yang digunakan pada HPLC yaitu sistem isokratik dan jenis HPLC yang digunakan yaitu fase terbalik atau Reversed Phase. Detektor yang digunakan yaitu detektor UV dengan panjang gelombang 259 nm. Sampel yang telah diencerkan kemudian disaring menggunakan milipore untuk menghilangkan adanya partikel asing pada fase gerak yang dapat menyumbat kolom dan mengganggu proses analisis. Eluen yang digunakan harus disonikasi menggunakan alat ultrasonik terlebih dahulu selama 1 jam. Tujuan dari sonikasi ini untuk menghilangkan adanya partikel gelembung yang dapat menghambat kolom yang dapat mengganggu analisis HPLC. Sebelum menginjeksi sampel, dilakukan purging terlebih dahulu. Tujuan dari purging yaitu untuk mengeluarkan gelembung-gelembung yang masih terdapat dalam eluen dan dikeluarkan melalui selang. Gelembung ini dapat mengganggu proses deteksi pada HPLC. Setelah dipastikan bahwa eluen sudah tidak terdapat gelembung, aplikasi HPLC diatur kemudian injeksi sampel dilakukan. Sebanyak 20 µl sampel diinjeksikan ke dalam HPLC. Waktu running HPLC yaitu 20 menit per sampel. Hasil running HPLC ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3 berikut ini.

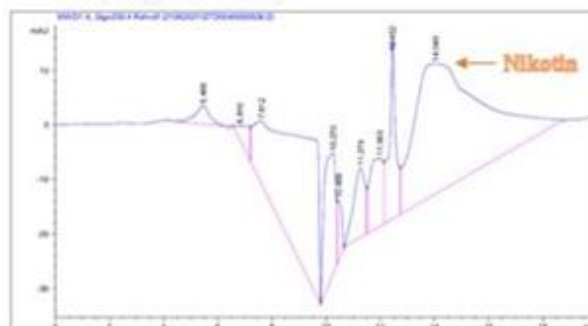


**Gambar 2** Kromatogram HPLC Sampel debu tembakau (dari atas ke bawah: ultrasonik akuades; ultrasonik metanol; soxhletasi metanol; soxhletasi akuades) *Peak* menunjukkan nikotin ditunjukkan panah cokelat

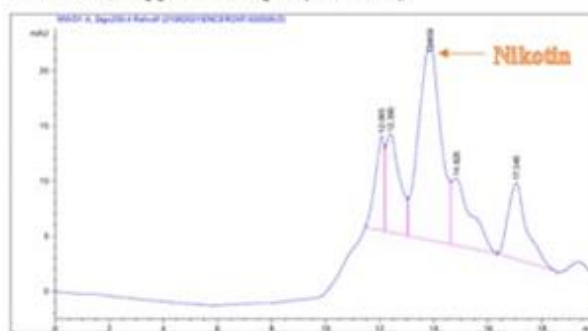
Standar 0,09 ppm (30:50:20)



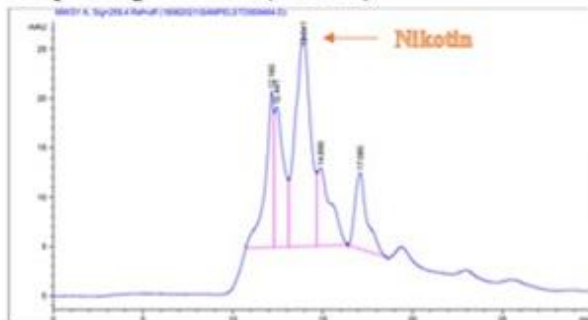
Standar 0,045 ppm (30:50:20)



Standar 0,09 ppm + Sampel (30:50:20)



Sampel Pengenceran 2x (30:50:20)



**Gambar 3** Kromatogram HPLC Sampel Batang tembakau.

*Peak* menunjukkan nikotin ditunjukkan panah cokelat



## Data HPLC Sampel Ekstraksi Debu Tembakau

Jenis ekstraksi	Waktu retensi	Luas area	Interpolasi konsentrasi (ppm)	Rata-rata konsentrasi nikotin (ppm)
Soxhletasi metanol	13.8	68.48	0.011	<b>0.012</b>
	13.757	68.273	0.010	
	13.792	91.38	0.015	
Soxhletasi akuades	15.55	128.21	-	-
	15.57	137.48		
	15.637	228.70		
Ultrasonik metanol	13.658	1442.46	0.232	<b>0.269</b>
	13.667	1436.41	0.231	
	13.68	2140.98	0.344	
Ultrasonik akuades	13.718	102.47	0.016	<b>0.069</b>
	13.735	168.53	0.027	
	13.713	1019.06	0.164	

## Data HPLC Sampel Ekstraksi Batang Tembakau

Jenis Sampel	Waktu Retensi (menit)		Area		Interpolasi Konsentrasi (ppm)		Rerata Konsentrasi Peak Nikotin (ppm)
	Peak Derivat Nikotin	Peak Nikotin	Peak Derivat Nikotin	Peak Nikotin	Peak Derivat Nikotin	Peak Nikotin	
Soxhlet Aquades	-	13,711	-	950,347 17	-	0,0967 9311	0,066
	12,312	13,723	81,70725	361,561 1	0,008321905	0,0368 25093	
	-	-	-	-	-	-	
Soxhlet Metanol	12,382	13,826	632,89972	1769,27 576	0,064461004	0,1802 01203	0,201
	12,216	13,86	2288,21948	2195,01 44	0,233055758	0,2235 62796	
	-	-	-	-	-	-	
Ultrasonik Aquades	-	13,721	-	315,865 23	-	0,0321 70957	0,029
	-	13,74	-	226,139 11	-	0,0230 32328	
	-	13,697	-	328,214 11	-	0,0334 28694	
Ultrasonik Metanol	12,494	13,604	441,91739	1084,02 283	0,045009403	0,1104 08011	0,094
	12,432	13,527	380,1152	992,172 18	0,038714833	0,1010 52998	
	12,439	13,561	135,5479	701,730 69	0,013805589	0,0714 71456	

## Kesimpulan dan Saran

### Kesimpulan

1. Ekstraksi ultrasonik dengan suhu ruang dan frekuensi 20 KHz selama 30 menit merupakan jenis ekstraksi yang optimal digunakan dalam mengekstraksi nikotin pada limbah debu dengan konsentrasi nikotin (ppm) 0,269 dan soxhletasi methanol selama 6 jam untuk limbah batang tembakau dengan konsentrasi nikotin (ppm) 0,201.
2. Metanol rasio sampel:pelarut yaitu 1:10 merupakan pelarut yang optimal untuk mengekstraksi nikotin pada limbah debu dan batang tembakau.
3. Kondisi optimal KLT untuk mendeteksi nikotin pada limbah debu dan batang tembakau adalah Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril dengan perbandingan 40 : 54 : 6. Muncul 2 spot untuk ekstrak limbah debu tembakau dan 3 spot untuk ekstrak limbah batang tembakau. Rf sekitar 0,76-0,77 ditengarai adalah nikotin karena serupa dengan Rf standar.
4. Kondisi optimal HPLC untuk mendeteksi nikotin pada limbah debu tembakau yaitu menggunakan HPLC fase terbalik (reversed phase) dengan jenis eluen isokratik. Komposisi fase gerak (eluen) yang digunakan yaitu Buffer Asetat : Metanol : Asetonitril dengan perbandingan 30 : 50 : 20 dengan laju alir (flow rate) sebesar 0,2 mL/menit dalam waktu running selama 20 menit.

### Saran

1. Penyediaan larutan standar baku nikotin perlu dilakukan untuk menentukan kurva kalibrasi sehingga perhitungan kadar nikotin dapat optimal dan senyawa yang terdeteksi dalam HPLC dapat dipastikan senyawa nikotin.
2. laboratorium sebaiknya menyediakan lebih banyak lagi bahan-bahan kimia seperti reagen *Dragendorff* maupun larutan baku nikotin yang dibutuhkan dalam penelitian ini.
3. Percobaan dengan metode ekstraksi dan pelarut yang lain perlu dilakukan agar hasilnya dapat dibandingkan dan dapat mengetahui metode dan pelarut manakah yang paling optimal.

## Daftar Pustaka

- Alegantina, S. (2017). Penetapan Kadar Nikotin dan Karakteristik Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan*, 113-119.
- Ali, M., & Hariyadi, B. W. 2018. *Teknik Budidaya Tembakau*. Fakultas Pertanian. Universitas Merdeka. Surabaya.
- Anggraena, F. W. (2018). VALIDASI METODE ANALISA PENETAPAN KADAR NYSTATIN DALAM TABLET NYSTATIN SALUT GULA 500.000 IU SECARA HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Universitas Islam Indonesia Arum, I. P. S. (2015). Pengembangan Metode Analisis Parasetamol Dalam Daging Bebek Menggunakan Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Universitas Islam Bandung
- Syenina, A. (2011). Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik pada Penetapan Kadar Nikotin Dalam Ekstrak Etanolik Daun Tembakau. Universitas Sanadarma: Yogyakarta.
- Bertrand, P., Bonnarme, V., Piccirilli, A., Ayrault, P., Lemée, L., Frapper, G., & Pourchez, J. (2018). Physical and chemical assessment of 1, 3 Propanediol as a potential substitute of propylene glycol in refill liquid for electronic cigarettes. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.
- Budari, M. K. S., Dewantara, I. G., & Wijayanti, N. P. A. D. 2015. Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar  $\alpha$ -Mangostin pada Gel Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) dengan Klt-spektrofotodensitometri. *Jurnal Farmasi Udayana*, 4(2); 20-24.
- Cercioglu.M.,Okur.B. (2010). Effects of Tobacco dust and Farmacyard Manure on Macro Element Status of Soil and Yield of Grown Lettuce (*Lactuca Sativa* L. Var. Capitata). *Communication in Soil Science and Plant Analysis*.47(3):331–338.
- Charde MS, AS Welankiwar, Jitendra K., 2014, Methode Development by Liquid Chromatography with Validation, *International Jurnal of Pharmaceutical Chemistry*;4(2), PP. 57 – 61.
- Chaturvedi.S.,Upretim. D.K., Tandon. D.K., Sharma. A., Dixit. A. (2008). Bio-Waste from Tobacco Industry as Tailored Organic Fertilizer for Improving Yields and Nutritional Values of Tomato Crop. *Journal of Environmental Biology*, 29(5):759- 63.
- Clayton, P. M., Vas, C. A., Bui, T. T., Drake, A. F., & McAdam, K. (2013). Spectroscopic studies on nicotine and nornicotine in the UV region. *Chirality* 25(5), 288-293.
- Dewi, D. C. (2012). Penetapan Kadar Nikotin Dalam Ekstrak Etanolik Daun Tembakau VORSTENLANDEN Bawah Naungan dan NA OOGST Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Emiliani, N., Djufri, D., & Sarong, M. A. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Tanaman Tembakau (*Nicotiana glauca*) Sebagai Pestisida Organik Untuk Pengendalian Hama Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.) Di Kawasan Persawahan Gampong Tungkop, Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 2(2), 58-71.
- Fauzantoro, A., Muharam, Y., & Gozan, M. (2017). Improvement of nicotine yield by ethanolic heat reflux extraction of *Nicotiana glauca* var. Virginia origin of ponorogo. *International Journal of Applied Engineering Research*, 12(23), 13891- 13897.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gandjar, G. I., dan Rohman, A., 2014, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Belajar, Yogyakarta.
- Gritter , R.J, Bobbic, J.N., dan Schwarting, A.E., 1991, *Pengantar Kromatografi* , diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi II, hal 107, ITB Press Bandung.
- Gusminto, E. B. 2019. Pelaksanaan Proses Produksi Tembakau Pada PT. Mangli Djaya Raya Jember. Universitas Negeri Jember. Jember.
- Hammado, N. (2014). Pengaruh rokok terhadap kesehatan dan pembentukan karakter manusia. *Prosiding*, 1(1), 77-84.
- Hammado, N. (2015). Pengaruh Rokok Terhadap Kesehatan Manusia. *Dinamika*, 2(2), 45-51
- Hartono, J. (2011). Teknik Pemangkas, Panen, Blending dan Desain Rokok Untuk Menurunkan Kadar

- Nikotin pada Tembakau dan Rokok. *Jurnal Perspektif*, 10(1), 33-43.
- Hermawan YM, Subagya, Sulisty A. 2017. Kajian Penggunaan Debu Limbah Tembakau Dan Pemberian Vermikompos Terhadap Populasi *Ditylenchus* Pada Bawang Merah. *Agrotech Res J* 1(2):39-44
- Hendayana, Sumar. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung : PT. Remaja Rosdakarya.
- Hidayat, R. N., Ramadhan, A. M., & Rusli, R. 2016. Analisis Kadar Nikotin Rokok Herbal Indonesia. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences (Vol. 3, pp. 72-74)*.
- Hopkins, T. 2019. The Role of Methanol and Acetonitrile as Organic Modifiers in Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Chromatography Today*. 26, 24-6
- Indriana, K. R. (2016). Produksi bersih pada efisiensi dosis pupuk N dan umur panen daun tembakau terhadap kadar nikotin dan gula pada tembakau Virginia. *Jurnal Agrotek Indonesia (Indonesian Journal of Agrotech)*, 1(2), 91-98
- Irianty, R. S. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Nikotin Limbah Puntung Rokok sebagai Inhibitor Korosi. *Jurnal Teknobiologi*, 4(2), 91-97.
- Ji, H., Wu, Y., Fannin, F., & Bush, L. (2019). Determination of tobacco alkaloid enantiomers using reversed phase UPLC/MS/MS. *Heliyon*, 5(5), e01719.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.
- Kadji, M. H., M. R. J. Runtuwene., dan G. Citraningtyas. 2013. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). FMIPA UNSRAT. Manado
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, F., & Wiyono, W. (2012). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon*, 1(1), 47- 52
- Kartikawati, L. (2016). METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-DENSITOMETRI UNTUK PENENTUAN KADAR NIKOTIN PADA BATANG TEMBAKAU (*Nicotiana tabaccum* L.). Skripsi. Universitas Jember.
- Kleiman, M., Ryu, K. A., & Esser-Kahn, A. P. (2016). Determination of Factors Influencing the Wet Etching of Polydimethylsiloxane Using Tetra-n- butylammonium Fluoride. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 217(2), 284- 291.
- Li, X.G., Jian, S.W., Ma, B.G., and Tan, H.B. 2011. Thermogravimetric Investigation on Co-Combustion Characteristics of Tobacco Residue and High Ash Anthracite Coal. *Bioresour. Technol.* 102, 9783-9787.
- Listiyanti A. K., Nurkalis U., Sudiyan, Hestiningih R. 2012. Ekstraksi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) dan Pemanfaatannya sebagai Insektisida Nabati Pembunuh *Aedes* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*. 2(2):60-70
- Mahmul, Mariatul Kiftiah. 2017. "MODIFIKASI METODE NEWTON-RAPHSON UNTUK MENCARI SOLUSI PERSAMAAN LINEAR DAN NONLINEAR." *BIMASTER* 6, no. 02.
- Marjoni, Riza. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Trans Info Media. Jakarta
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. 2017. Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47, 1-19
- Ningsih, Nurmiati, dan Antoni. 2013. Antibacterial Activity of Crude Extracts of Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Bio. UA*. 2(3). 207-213: (ISSN : 2162).
- Nurilma, A. D. (2016). *Potensi Ekstrak Nicotiana Tabacum Sebagai Anti Microfouling (Doctoral dissertation, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya)*.
- Permatasari, G.A.A., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H., 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2(2) : 162 - 169
- Pohan, S. D. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Tanaman sebagai Pestisida Alami (Biopestisida) dalam Pengendalian Hama Serangga. *JURNAL PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT*, 20(75), 94-99.
- Prastama, A. Y. (2012). Perbandingan Efektivitas Rebusan Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Dan Sodium Hypochlorite Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Resin Akrilik Terhadap Pertumbuhan Candida

albicans.

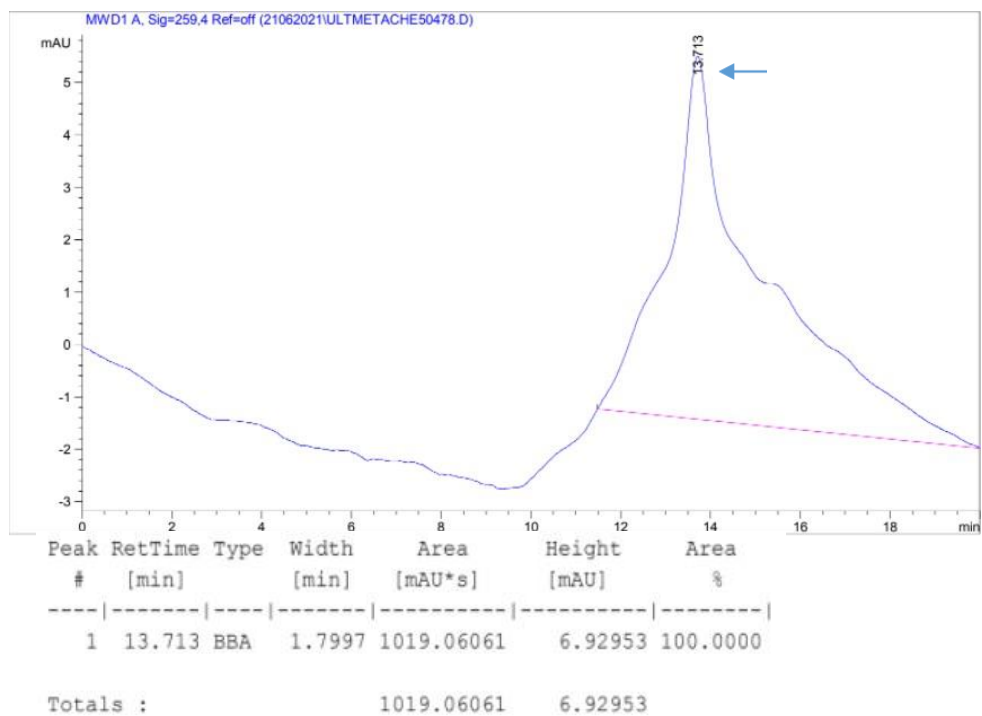
- Putra, E. D. L. (2004). Kromatografi cair kinerja tinggi dalam bidang farmasi. USU Digital Library, Sumatera Utara.
- Putri, S. A., Nugraha, S., Tjoekra, R. 2014. Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* [Lam] Pers.) terhadap Waktu Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus putih Jantan Galur Wistar. Fakultas Kedokteran: Universitas Islam Bandung, 886-887
- Puspita, P.E. 2011. Antibacterial Activity of Temanggung Tobacco Extract Variety Genjah Kemloko. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Ramdani, D., & Chuzaemi, S. (2017). Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas in-vitro. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan Universitas Brawijaya*, 27(2), 54-62.
- Rohman A. Kromatografi Untuk Analisis Obat. Graha Ilmu. Yogyakarta. 2009. hal.53,112-121.
- Sari, A. (2017). Ekstraksi Cair-cair menggunakan pengkelat EDTA untuk Meningkatkan Kadar Zingibern dalam Minyak Atsiri Jahe (Liquid-Liquid Extraction using EDTA Placer to Increase Zingibern Level in Ginger Essential Oil). Doctoral dissertation. Universitas Diponegoro.
- Sukma, F. F. (2019). Identifikasi Asam Dehidroasetat dalam Produk Kosmetika dengan Menggunakan HPLC (High Performance Liquid Cromatography). *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 1(2), 15-17.
- Susilowati, Eka Y. 2006. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Kering dan Uji Efektivitas Ekstrak Daun Tembakau Sebagai Insektisida Penggerek Batang Padi (*Scirpophaga innotata*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Semarang. Semarang.
- Syenina, A. (2011). Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik pada Penetapan Kadar Nikotin Dalam Ekstrak Etanolik Daun Tembakau. Universitas Sanadadarma: Yogyakarta.
- Syaputra, R. 2017. Perbaikan Komposisi Limbah Debu Tembakau sebagai Kompos. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 10(2), 110-115.
- Tirtosastro, S., & Murdiyati, A. S. 2010. Kandungan kimia tembakau dan rokok. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat, & Minyak Industri*. 2(1), 33-43
- Wulandari, L. 2011. Kromatografi Lapis Tipis. Jember : PT Taman Kampus Presindo Yulia, M., & Ranova, R. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Berdasarkan Teknik Pengolahan. *Jurnal Katalisator*, 4(2), 84-90.
- Yuliana, Y. 2010. Pengaruh invigorasi menggunakan polyethylene glycol (PEG) 6000 terhadap viabilitas benih tembakau (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Yalapuspa, D., S., 2010, Pembuatan Ekstrak Etanolik Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Secara Soxhletasi: Aplikasi Metode Desain Faktorial, Skripsi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	13.735	BB	0.5244	168.53075	4.54677	100.0000

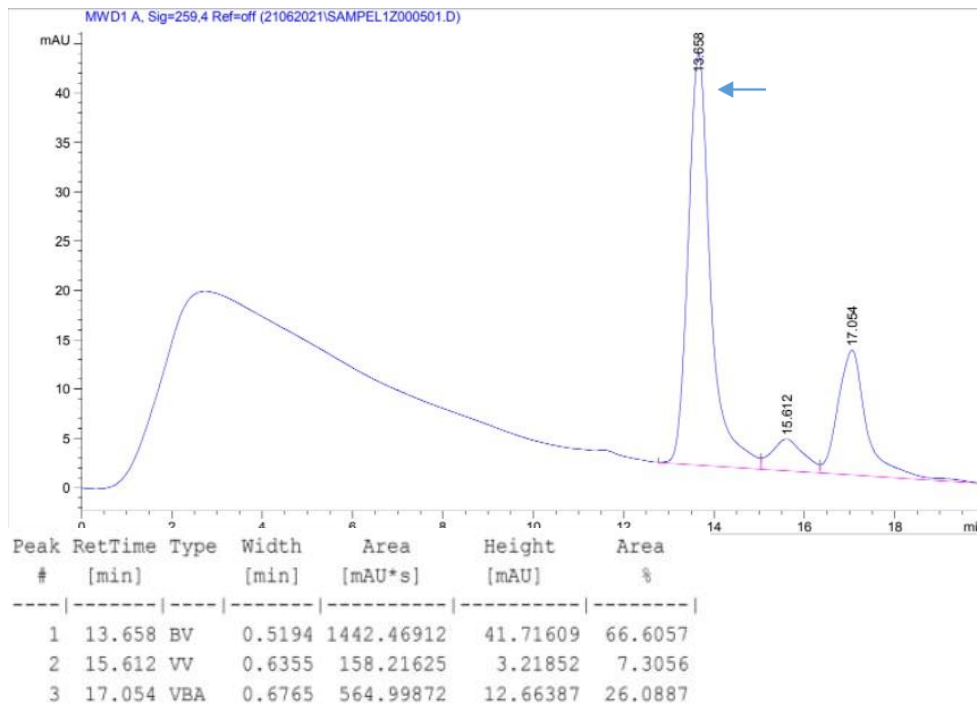
Totals :                      168.53075    4.54677

- Replikasi 3

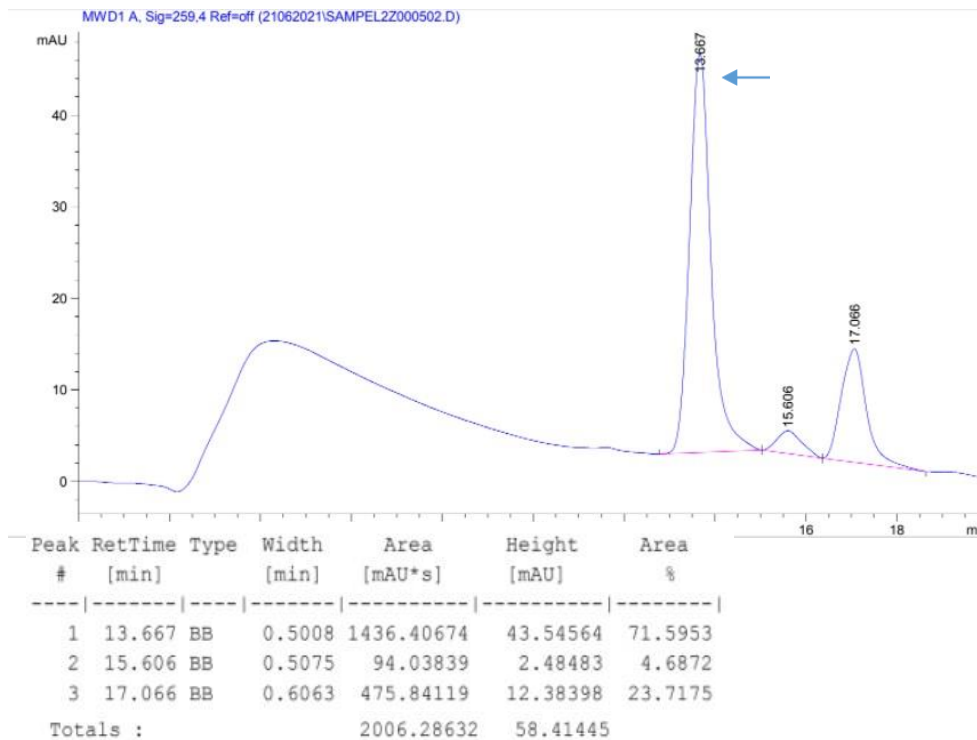




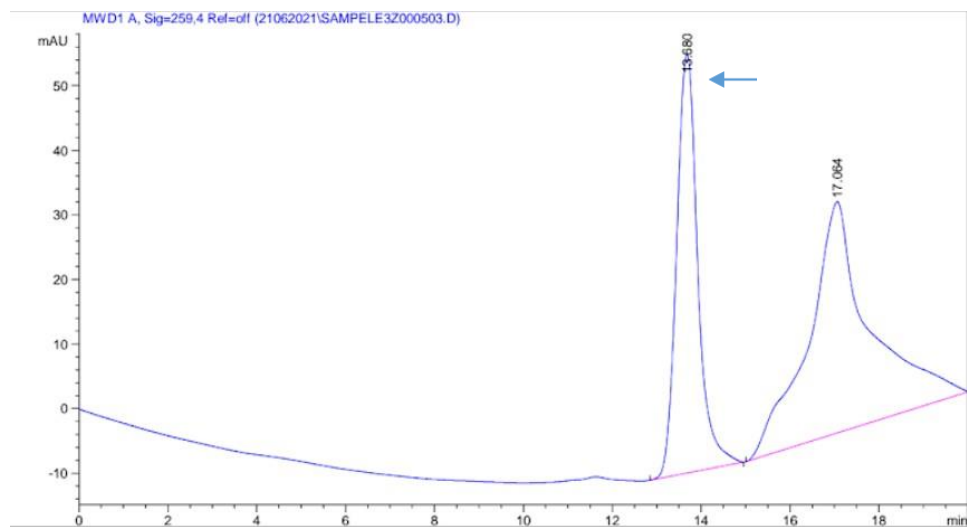
Ultrasonik Metanol  
- Replikasi 1



- Replikasi 2



- Replikasi 3

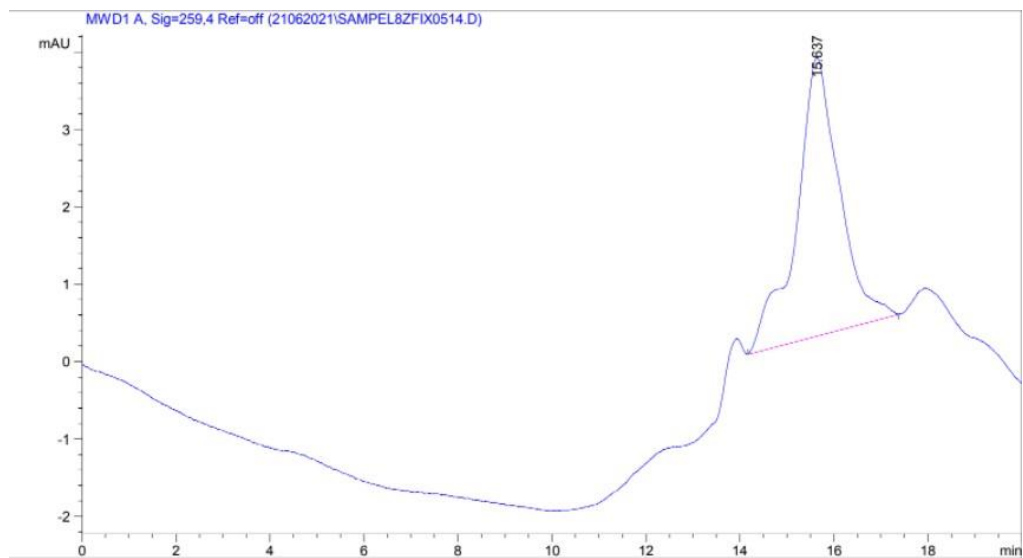


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	13.680	BB	0.5074	2140.97974	64.81780	38.3656
2	17.064	BBA	1.2848	3439.48950	35.80168	61.6344
Totals :				5580.46924		100.61948



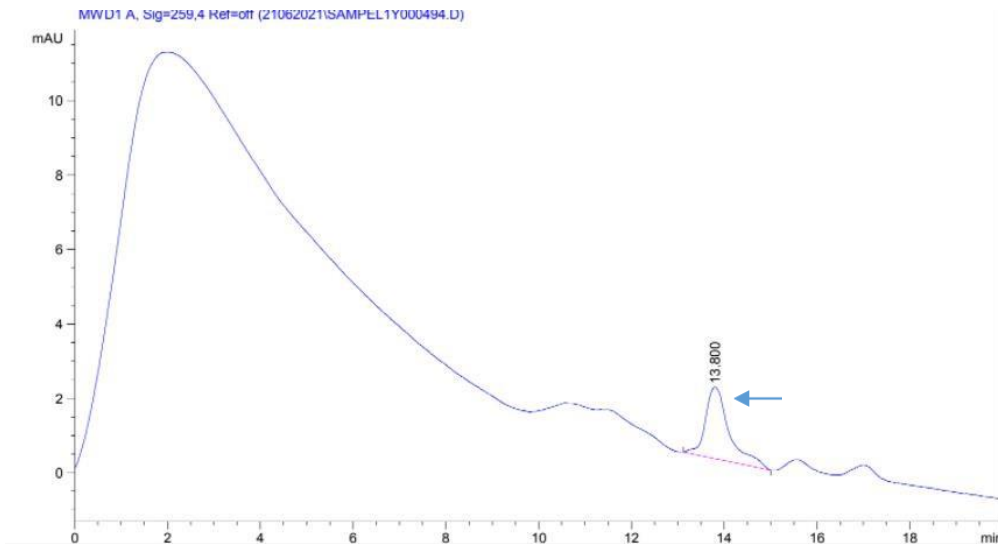
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	15.570	BB	0.6015	137.47882	2.85666	100.0000
Totals :				137.47882	2.85666	

## - Replikasi 3



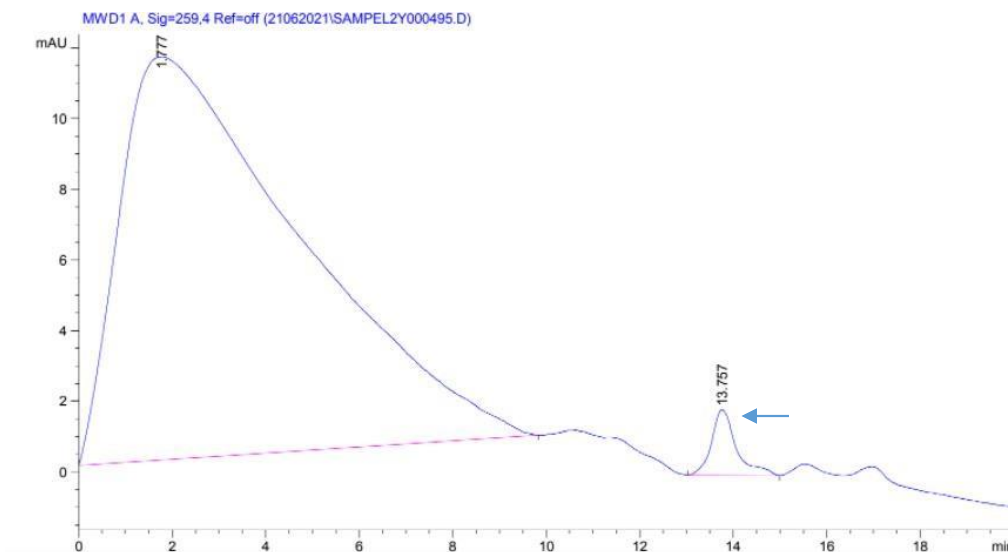
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	15.637	BB	0.8088	228.70465	3.60181	100.0000
Totals :				228.70465	3.60181	

- Metanol 6 jam
- Replikasi 1



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	13.800	BB	0.5150	68.48030	1.91604	100.0000
Totals :				68.48030	1.91604	

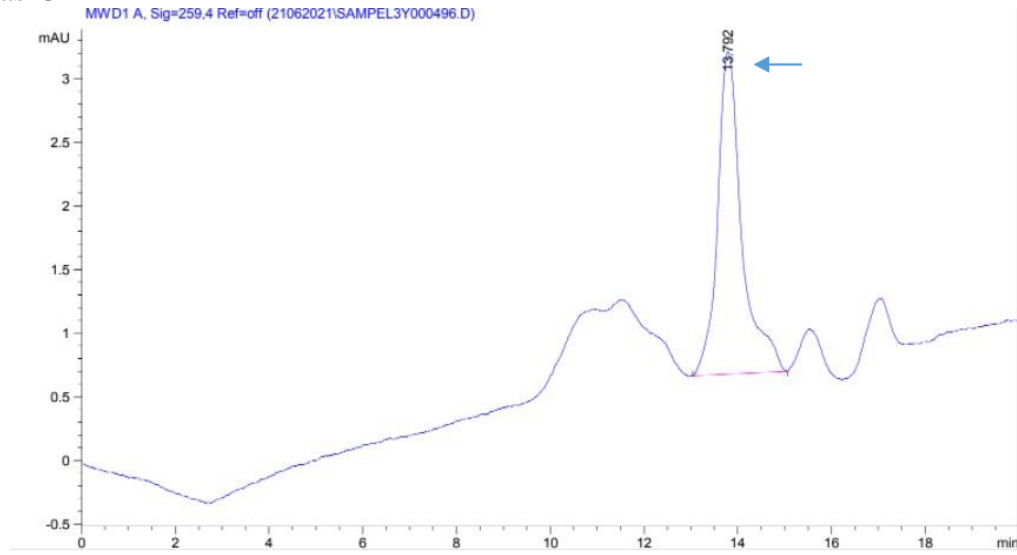
- Replikasi 2



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.777	BB	3.1316	3060.00439	11.41467	97.8176
2	13.757	BB	0.4920	68.27306	1.85244	2.1824

Totals : 3128.27746 13.26711

- Replikasi 3

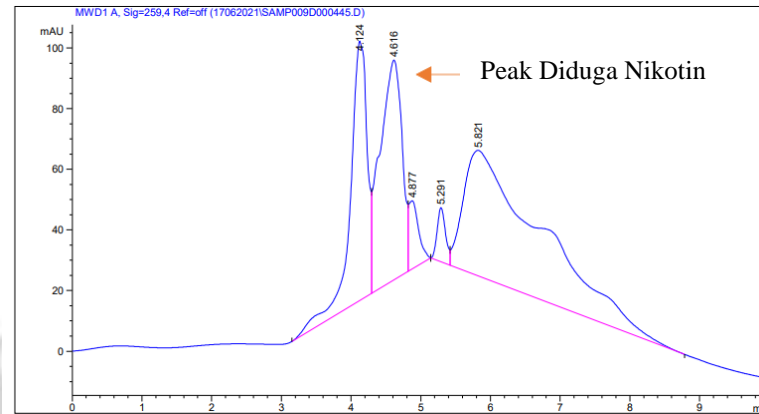


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	13.792	BB	0.4969	91.38584	2.53331	100.0000
Totals :				91.38584	2.53331	

## Kromatogram Sampel Limbah Batang Tembakau pada HPLC

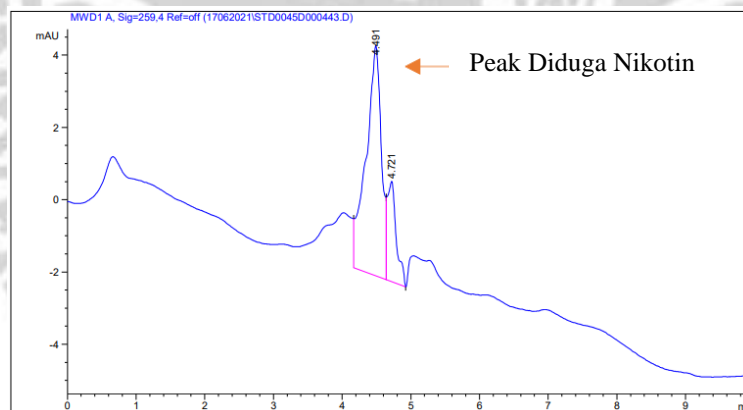
- Komposisi 25:50:25

Sampel + Standar 0,09 ppm



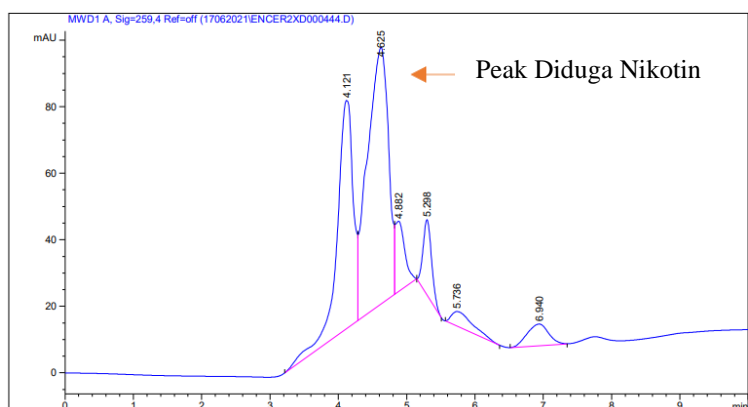
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.124	BV	0.2277	1434.47144	85.52160	21.4261
2	4.616	VV	0.3326	1606.98059	72.49978	24.0028
3	4.877	VB	0.1441	219.92650	22.49329	3.2850

Standar 0,045 ppm



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.491	VV	0.2086	98.71225	6.37504	79.6652
2	4.721	VB	0.1260	25.19658	2.77330	20.3348

### Sampel Pengenceran 2x



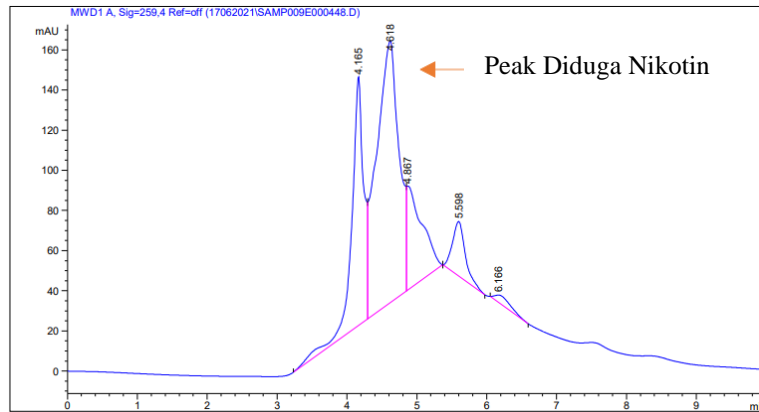
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.121	BV	0.2415	1126.28003	68.63000	32.7085
2	4.625	VV	0.3222	1669.17566	77.21514	48.4749
3	4.882	VB	0.1425	204.33141	21.18276	5.9340





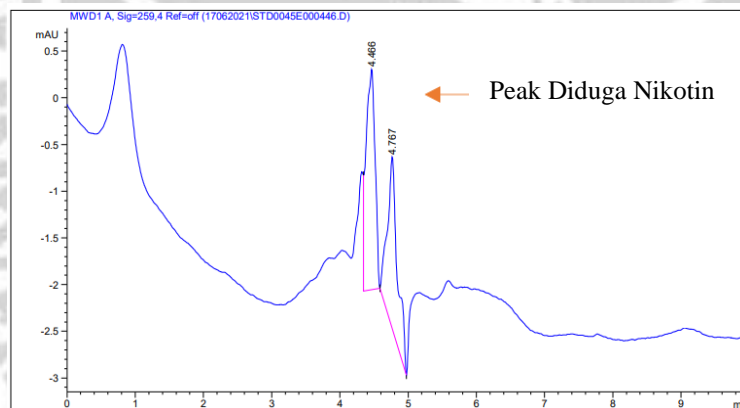
- Komposisi 30:50:20

Sampel + Standar 0,09 ppm



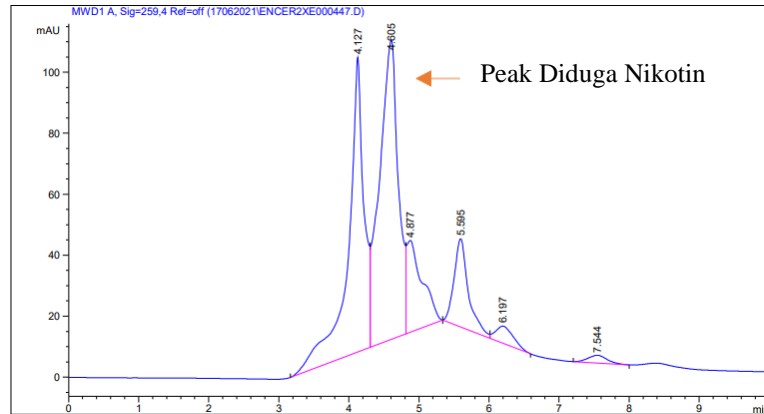
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.165	BV	0.1587	1450.53479	123.82591	26.0177
2	4.618	VV	0.3250	2936.78418	130.25754	52.6760
3	4.867	VB	0.2054	779.17072	51.81829	13.9757

Standar 0,045 ppm

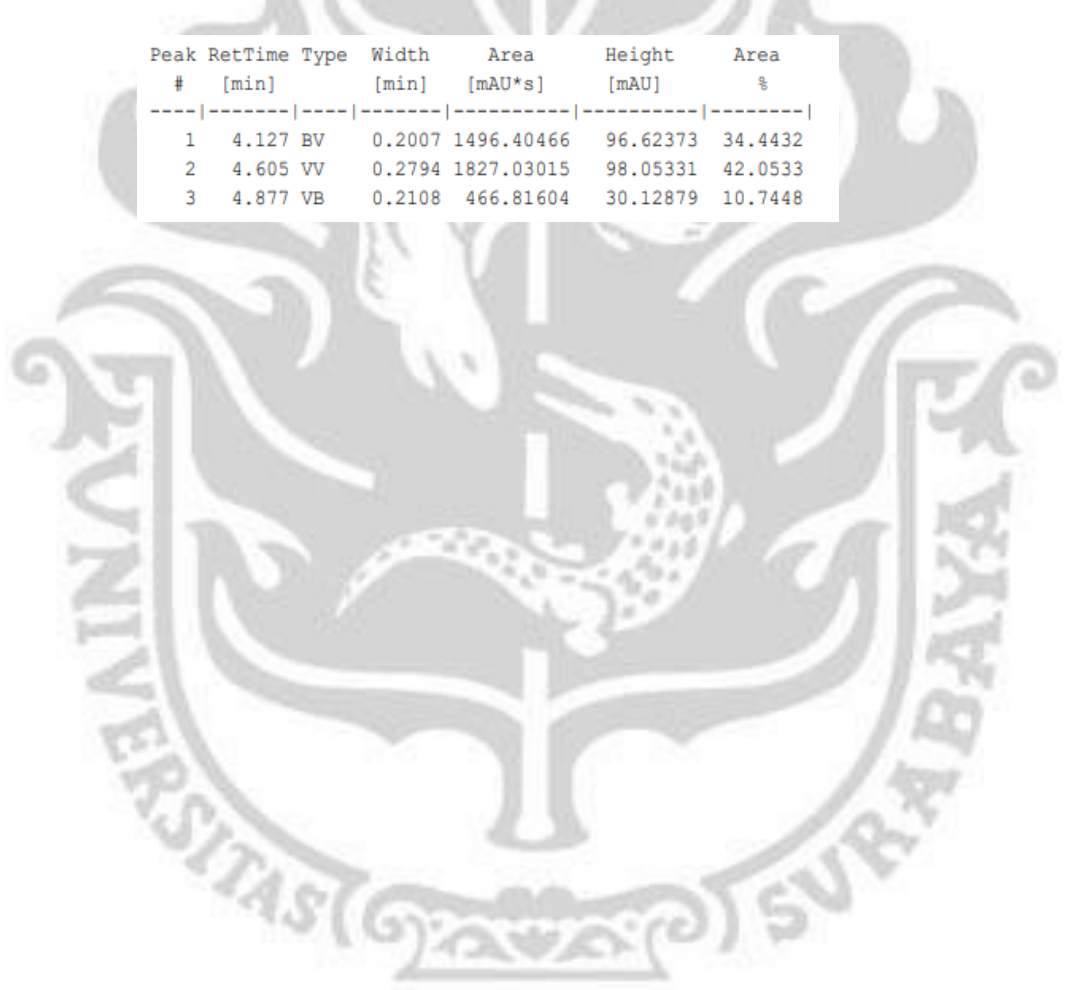


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.466	VB	0.1210	21.63819	2.35899	53.7853
2	4.767	BB	0.1381	18.59251	1.83719	46.2147

# Sampel

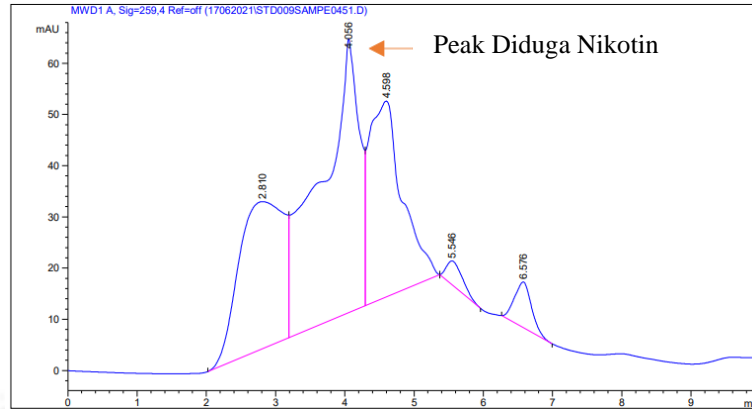


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.127	BV	0.2007	1496.40466	96.62373	34.4432
2	4.605	VV	0.2794	1827.03015	98.05331	42.0533
3	4.877	VB	0.2108	466.81604	30.12879	10.7448



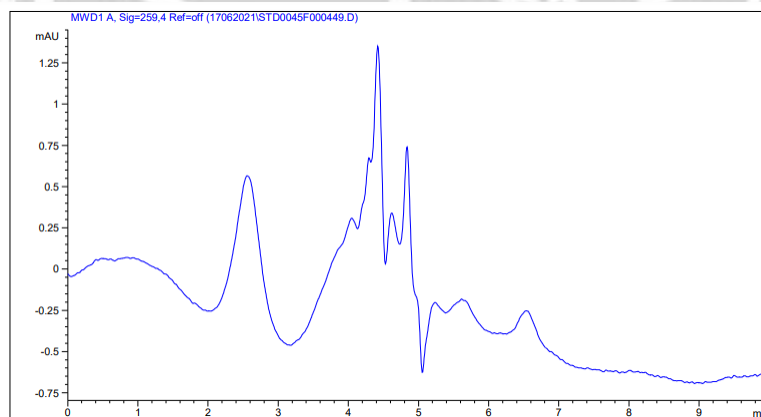
## Komposisi 40:40:20

Sampel + Standar 0,09 ppm

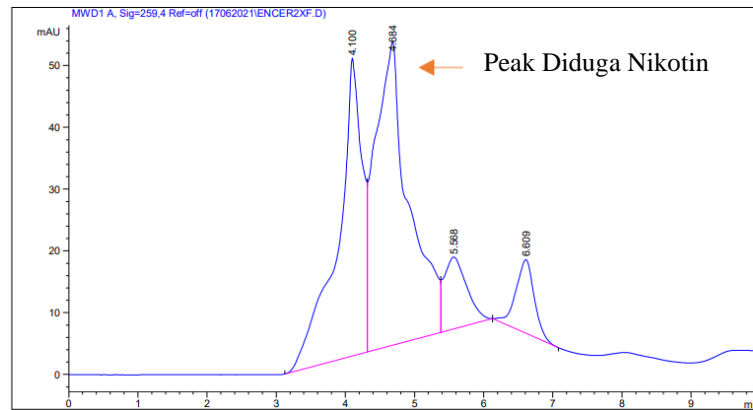


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.810	BV	0.6866	1302.11475	28.74088	26.4762
2	4.056	VV	0.4765	2101.94116	53.48798	42.7393
3	4.598	VB	0.4435	1283.20862	38.24369	26.0918

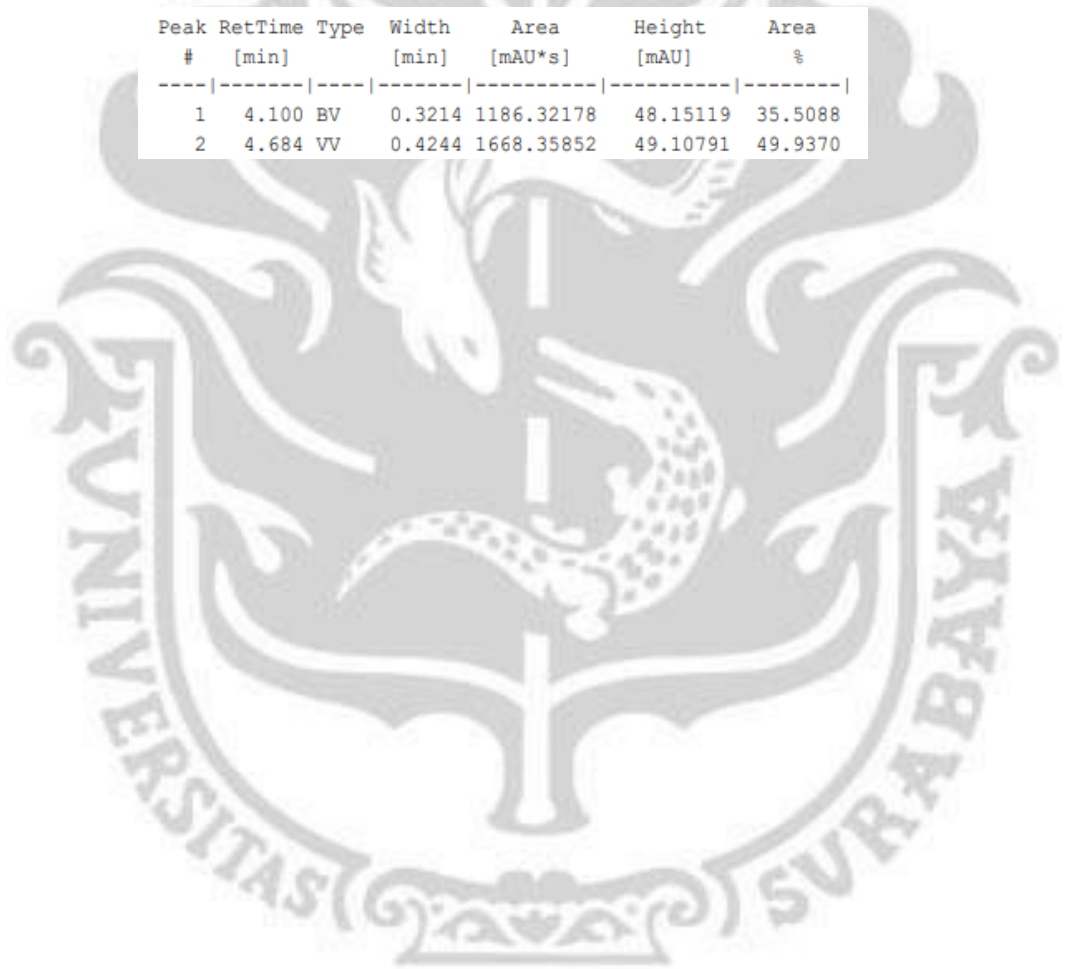
Standar 0,045 ppm



## Sampel

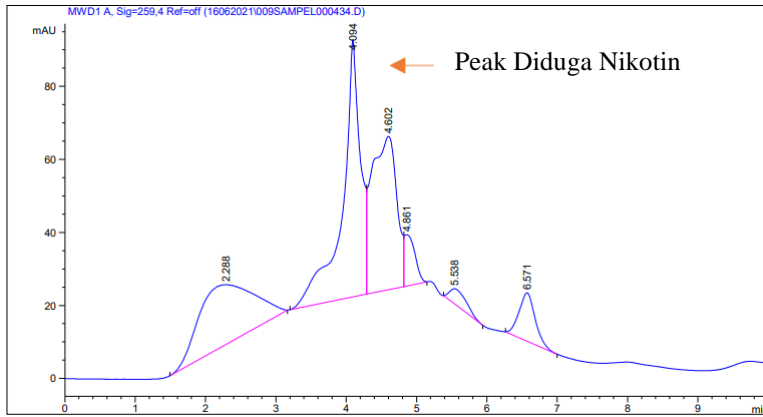


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.100	BV	0.3214	1186.32178	48.15119	35.5088
2	4.684	VV	0.4244	1668.35852	49.10791	49.9370



## Komposisi 40:45:15

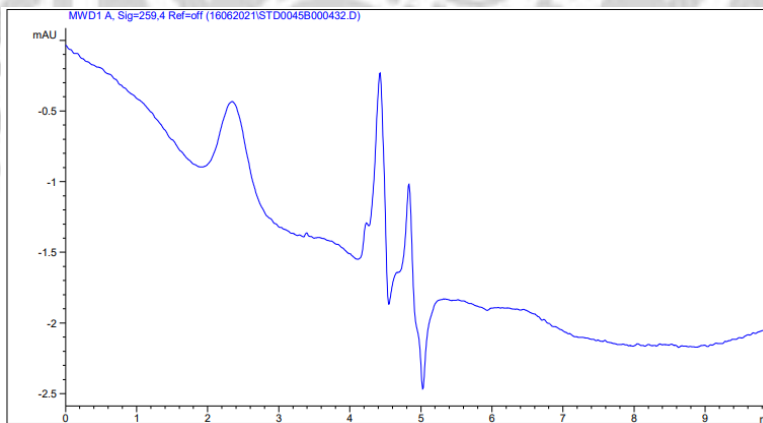
### Sampel + Standar 0,09 ppm



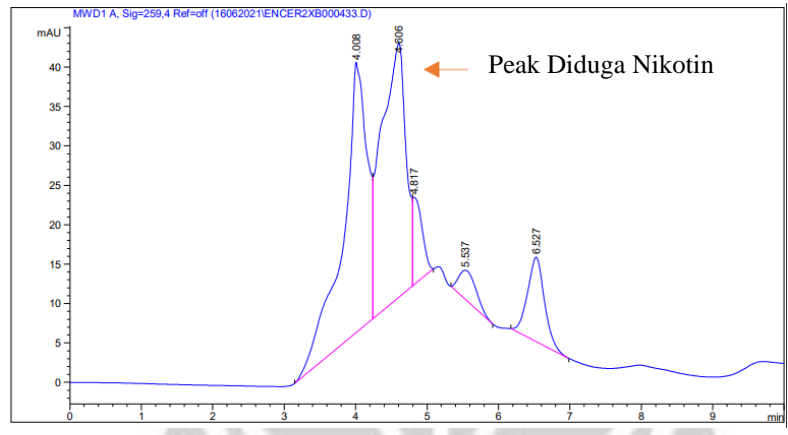
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.288	BB	0.8150	908.74396	16.38616	25.0316
2	4.094	BV	0.2268	1256.89587	70.24223	34.6216
3	4.602	VV	0.3351	1032.56995	41.95598	28.4425

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
4	4.861	VB	0.1676	146.14394	14.02239	4.0256
5	5.538	BB	0.2948	74.65500	4.17202	2.0564
6	6.571	BB	0.2366	211.37418	13.21548	5.8224

### Standar 0,045 ppm



# Sampel

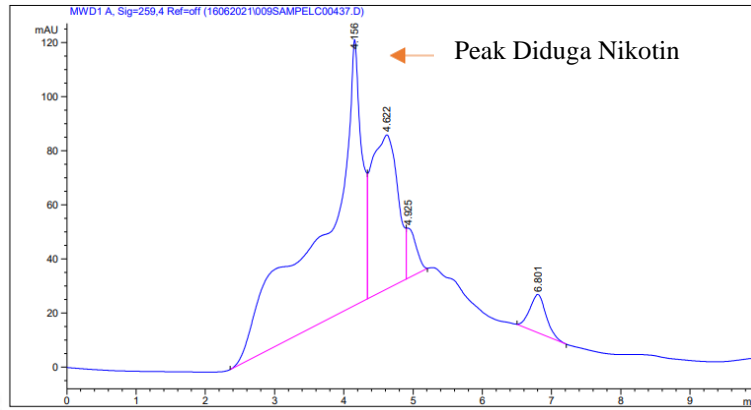


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.008	BV	0.2893	802.25073	34.25093	41.7588
2	4.606	VV	0.3285	780.46490	32.23340	40.6248
3	4.817	VB	0.1418	98.61658	11.08555	5.1332



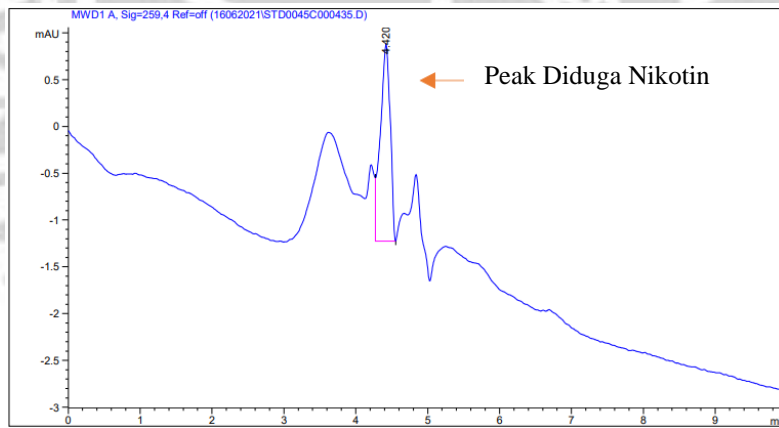
## Komposisi 40:50:10

Sampel + Standar 0,09 ppm



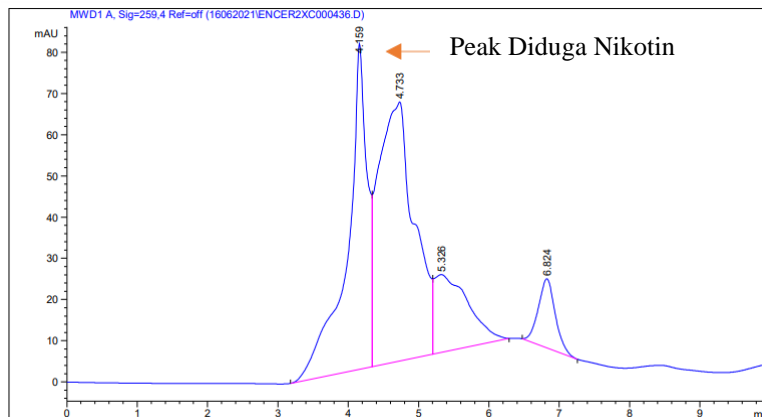
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.156	BV	0.4605	3713.66260	98.34643	65.8943
2	4.622	VV	0.3713	1520.13623	56.96967	26.9729
3	4.925	VB	0.1427	172.24538	18.49370	3.0563

Standar 0,045 ppm



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.420	VB	0.1337	20.12914	2.10253	100.0000

# Sampel



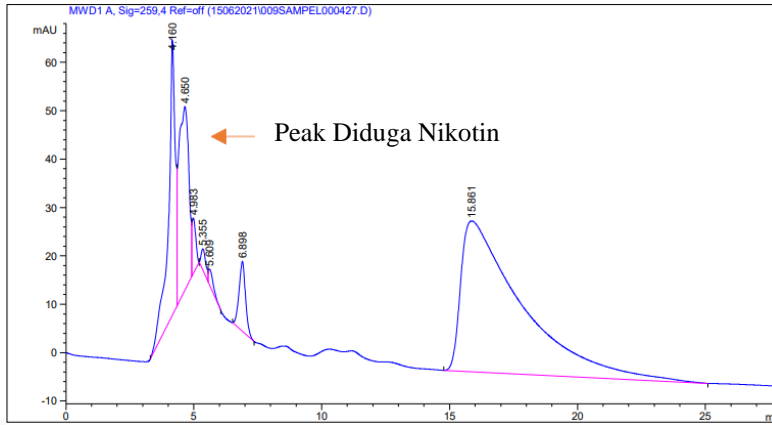
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.159	BV	0.2560	1557.18604	79.00087	33.1592
2	4.733	VV	0.4420	2231.68262	62.88420	47.5221
3	5.326	VB	0.4355	626.81665	18.86959	13.3476





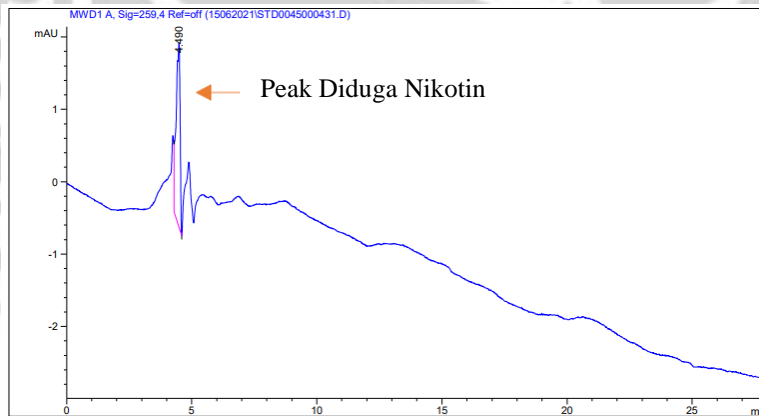
- Komposisi 40:54:6

Sampel + Standar 0,09 ppm



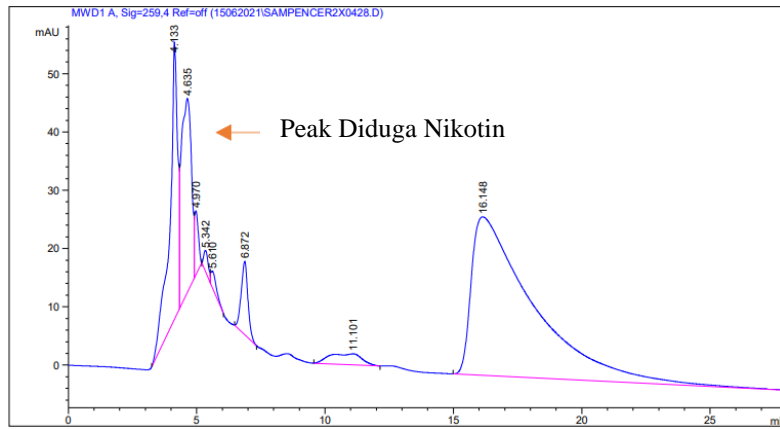
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.160	BV	0.2469	1046.06396	56.79644	13.5608
2	4.650	VV	0.3809	1039.17725	38.01718	13.4715

Standar 0,045 ppm



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.490	VB	0.1534	27.73118	2.53990	100.0000

### Sampel Pengenceran 2x

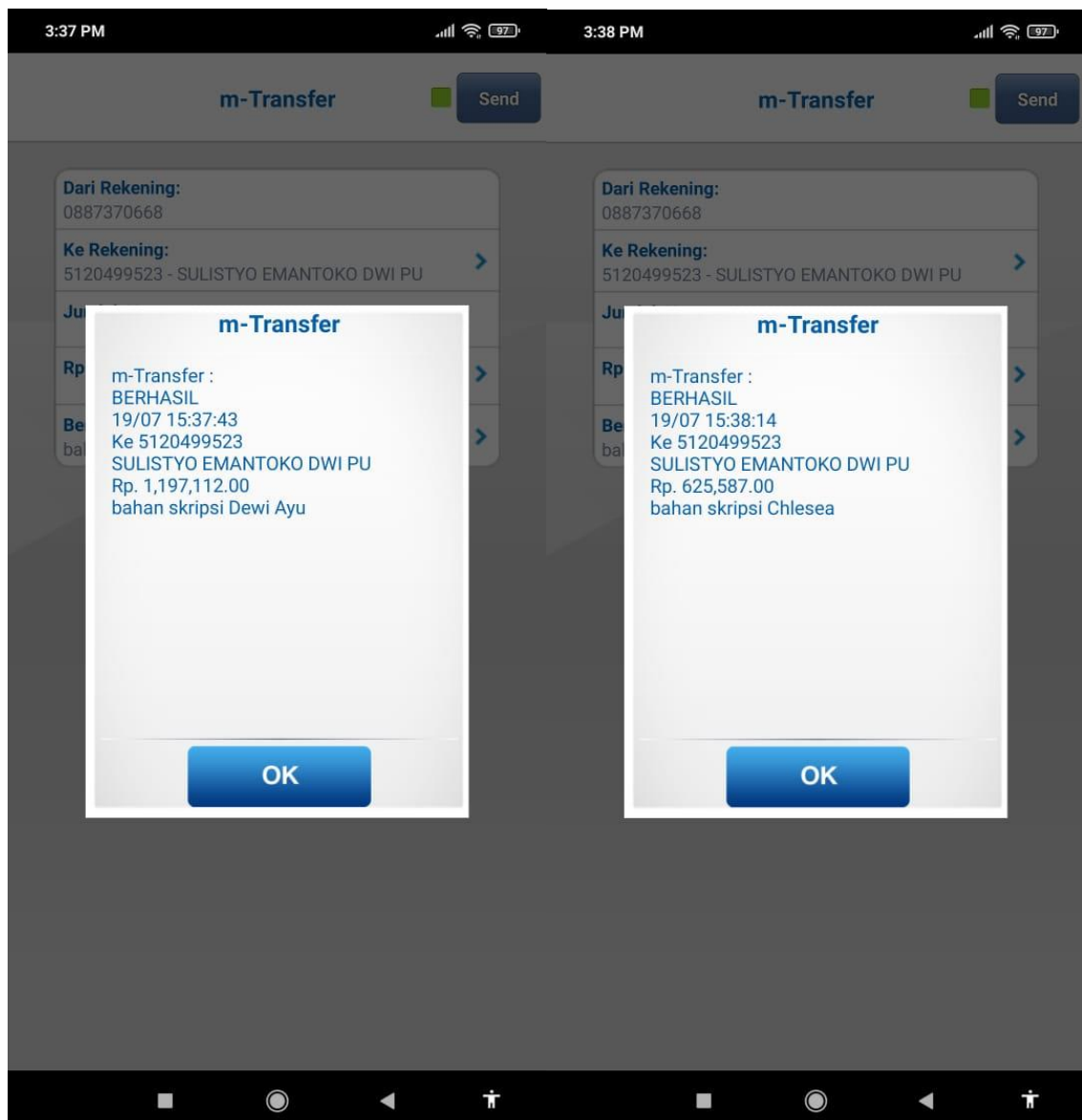


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.133	BV	0.2821	1010.41724	47.51969	14.2784
2	4.635	VV	0.3833	912.99115	33.36050	12.9016
3	4.970	VB	0.1564	113.16286	10.96434	1.5991



## Lampiran Penggunaan Dana Penelitian

No.	Tanggal	Keterangan	Total	Pajak
1	19-07-2021	Bahan skripsi Dewi Ayu	1,197,112	
2	19-07-2021	Bahan skripsi Chelsea	625,587	
3	17-09-2021	Sumber Utama Kimia Murni	2,400,000	240,000
4	11-10-2021	Erlenmeyer flask 250 mL - Phoenix	4,275,000	
			8,497,699	240,000





## Rincian Habis Pakai Bahan Laboratorium

Pelanggan : 170117032 - CHELSEA TRANKU

Keperluan : Skripsi

Periode : Ganjil 2020/2021

Kode	Nama Bahan	Harga	Jumlah	Total
0001B	Acetic Acid Glacial 100%	Rp. 140	50 ml	Rp. 7.000
0003	Acetonitril	Rp. 1.200	250 mL	Rp. 300.000
0021A	Metanol	Rp. 113	450 mL	Rp. 50.850
0021B	Methanol PA	Rp. 125	300 mL	Rp. 37.500
0039A	Methanol (PRO HPLC)	Rp. 173	920 mL	Rp. 159.160
0040A	Acetonitrile for HPLC	Rp. 188	174 mL	Rp. 32.712
2012	Kertas saring kasar	Rp. 3.860	2 lembar	Rp. 7.720
2013B	DISPOSABLE CUVETTES	Rp. 4.170	3 buah	Rp. 12.510
A005	Ammonium acetate	Rp. 5.000	3,06 gram	Rp. 15.300
S009	Sodium acetate	Rp. 794	3,57 gram	Rp. 2.835
<b>Subtotal</b>				Rp. 625.587
<b>Institutional Fee</b>				Rp. 0
<b>Total</b>				Rp. 625.587

Pembayaran ditransfer ke rek BCA no **512 049 9523** a.n. Sulistyono Emantoko Dwi Putra atau Popy Hartatie Harjo

01 Juli 2021

Petugas Lab

Pandu Salim Hanafi, S. TP.

Kepala Laboratorium

Dr. rer.nat. Theresia Desy Askitosari, S.Si., M.Biotech.

Koordinator

Fenny Irawati, S.Si., M.Si.

19/7.'21



### Rincian Habis Pakai Bahan Laboratorium

Pelanggan : 170117036 - DEWI AYU

Keperluan : Skripsi

Periode : Genjil 2020/2021

Kode	Nama Bahan	Harga	Jumlah	Total
0007	Chloroform	Rp. 256	2.000 mL	Rp. 512.000
0016A	Hydrochloric acid MERCK	Rp. 330	25 mL	Rp. 8.250
0021A	Metanol	Rp. 113	400 mL	Rp. 45.200
0021B	Methanol PA	Rp. 125	600 mL	Rp. 75.000
0038	Water for irrigation	Rp. 31	275 mL	Rp. 8.525
0039A	Methanol (PRO HPLC)	Rp. 173	1.600 mL	Rp. 276.800
0040A	Acetonitrile for HPLC	Rp. 188	500 mL	Rp. 94.000
2011	TLC ALLUMINIUM SHEET 20X20 (60F254)	Rp. 70.800	1 lembar	Rp. 70.800
2012	Kertas saring kasar	Rp. 3.860	2 lembar	Rp. 7.720
2017A	MEMBRAN FILTER NYLON 0,2 UM	Rp. 5.125	11 buah	Rp. 56.375
2021	Disposable Syringe 1 ml	Rp. 3.000	11 buah	Rp. 33.000
2044	Kertas Lensa	Rp. 150	2 lembar	Rp. 300
N002	Nicotinic acid	Rp. 0	2,6 gram	Rp. 0
S023	Sodium hydroxide	Rp. 453	20,18 gram	Rp. 9.142
<b>Subtotal</b>				Rp. 1.197.112
<b>Institutional Fee</b>				Rp. 0
<b>Total</b>				Rp. 1.197.112

Pembayaran ditransfer ke rek BCA no 512 049 9523 a.n. Sulistyio Emantoko Dwi Putra atau Popy Hartatie Hardjo

17 Juli 2021

Petugas Lab

Akhmed Subhkan, S. TP.

Kepala Laboratorium

  
JUL 2021

Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.

Koordinator

  
19/7-'21

Fenny Irawati, S.Si., M.Si.

**FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**  
**Universitas Surabaya**  
**Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya 60293**

**No. : 032a/KWI/FTb/VII/2021**

Telah terima dari : Dewi Ayu (Nrp. 170117036)  
Alamat : Fakultas Teknobiologi Ubaya  
Telp/HP : -

Deskripsi

Tujuan pembayaran	: Biaya pembelian bahan laboratorium untuk keperluan skripsi (Rincian bahan terlampir)
Jumlah total pembayaran	: Rp. 1.197.112,-
Terbilang huruf	: Satu Juta Seratus Sembilan Puluh Tujuh Ribu Seratus Dua Belas Rupiah
Status Pembayaran	: Lunas
Keterangan	: -

Surabaya, 17 Juli 2021

Wakil Dekan,



Dr.Ir. Popy Hartatie Hardjo, M.Si

**FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**  
**Universitas Surabaya**  
**Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya 60293**

**No. : 030a/KWI/FTb/VII/2021**

Telah terima dari : Chelsea Tranku (Nrp. 170117032)  
Alamat : Fakultas Teknobiologi Ubaya  
Telp/HP : -

Deskripsi

Tujuan pembayaran	: Biaya pembelian bahan laboratorium untuk keperluan skripsi (Rincian bahan terlampir)
Jumlah total pembayaran	: Rp. 625.587,-
Terbilang huruf	: Enam Ratus Dua Puluh Lima Ribu Lima Ratus Delapan Puluh Tujuh Rupiah
Status Pembayaran	: Lunas
Keterangan	: -

Surabaya, 19 Juli 2021

Wakil Dekan,



Dr.Ir. Popy Hartatie Hardjo, M.Si



PT Sumber Utama Kimiamurni  
Ruko Klampis Square C-29, Jl. Klampis Jaya Madya 9A  
Klampis Ngasem, Sukolilo-Surabaya  
NPWP : 02.175.569.9-606.000  
No. Faktur Pajak : 010.007-21.22044288

Surabaya, 17 September 2021

Yth : UNIVERSITAS SURABAYA  
JL NGAGEL JAYA SELATAN 169  
SURABAYA

### FAKTUR PENJUALAN

No : 0001383

No PO :

No	No Catalog	Uraian	FULTM	A6531BQ2	Jml	Satuan	Marga(Rp)	Jumlah (Rp)
1	A6531-04	ETHANOL ABSOLUTE 99,9% AR, 4LTR		0	3	BOTOL	800.000	2.400.000,00

Terbilang : Dua juta enam ratus empat puluh ribu rupiah

Barang yang sudah dibeli tidak dapat ditukar atau dikembalikan  
Pembayaran dengan Cek / BG dianggap lunas apabila sudah dapat diuangkan  
Pembayaran bisa di transfer ke :  
BCA A/C 464-310-8031 A/N: PT. Sumber Utama Kimiamurni

Hormat Kami,



Bruto : Rp 2.400.000,00  
Disc : Rp 0,00  
DPP : Rp 2.400.000,00  
PPN : Rp 240.000,00  
Materai : Rp 0,00  
TOTAL: Rp 2.640.000,00

(Margareth Chondro)

PT Sumber Utama Kimiamurni  
Ruko Klampis Square C-29, Jl. Klampis Jaya Madya 9A  
Klampis Ngasem, Sukolilo-Surabaya  
NPWP : 02.175.569.9-606.000  
No. Faktur Pajak : 010.007-21.22044288

Surabaya, 17 September 2021

Yth : UNIVERSITAS SURABAYA  
JL NGAGEL JAYA SELATAN 169  
SURABAYA

### SURAT JALAN

No : 0001383

No PO :

No Catalog	Uraian	FULTM	A6531BQ20	Jumlah	Satuan
A6531-04	ETHANOL ABSOLUTE 99,9% AR, 4LTR			3	BOTOL

Penerima,

Nama Terang dan Cap Perusahaan

Hormat Kami

(Margareth Chondro)



## Faktur Pajak

Kode dan Nomor Seri Faktur Pajak : 010.007-21.22041288		
Pengusaha Kena Pajak		
Nama : PT SUMBER UTAMA KIMIAMURNI Alamat : RUKO KLAMPIS SQUARE C-29 (KLAMPIS JAYA MADYA NO.9A) , KOTA SURABAYA NPWP : 02.175.569.9-606.000		
Pembeli Barang Kena Pajak / Penerima Jasa Kena Pajak		
Nama : YAY. UNIVERSITAS SURABAYA Alamat : JL. NGAGEL JAYA SELATAN Blok 000 No.169 RT:000 RW:000 Kel.PUCANG SEWU Kec.GUBENG Kota/Kab.SURABAYA JAWA TIMUR 00000 NPWP : 01.211.137.3-631.000		
No	Nama Barang Kena Pajak / Jasa Kena Pajak	Harga Jual/Penggantian/Uang Muka/termin
1	ETHANOL ABSOLUTE 99,9% AR,4LTR Rp.800.000 x 3	2.400.000,00
Harga Jual / Penggantian		2.400.000,00
Dikurangi Potongan Harga		0,00
Dikurangi Uang Muka		0,00
Dasar Pengenaan Pajak		2.400.000,00
PPN = 10% x Dasar Pengenaan Pajak		240.000,00
Total PPnBM (Pajak Penjualan Barang Mewah)		0,00

Sesuai dengan ketentuan yang berlaku, Direktorat Jenderal Pajak mengakui bahwa Faktur Pajak ini telah dilandatanganinya secara elektronik sehingga tidak diperlukan tanda tangan basah pada Faktur Pajak ini.

KOTA SURABAYA, 17 September 2021



MARGARETH CHONDRO

0001383

PERHATIAN! AMU/ke Faktur Pajak ini telah ditetapkan ke Direktorat Jenderal Pajak dan telah mengalami persetujuan sesuai dengan ketentuan peraturan perpajakan yang berlaku. PERINGATAN: PKP yang menerbitkan Faktur Pajak yang tidak sesuai dengan ketentuan yang sebenarnya ditetapkan sesungguhnya sebagaimana dimaksud Pasal 13 ayat (b) UU PPN diteliti sanksi sesuai dengan Pasal 14 ayat (4) UU KUP

1 dan

1

