**Lampiran:**

1. Spesifisitas – selektivitas

Scaning panjang gelombang maksimum pada larutan jernih glukosa (tanpa metode kolorimetri). Scanning dilakukan pada rentang panjang gelombang 200 – 800 nm. Panjang gelombang maksimum 272 nm, dengan sepan 0,449. Oleh karena itu diperlukan derivatisasi agar glukosa dapat terbaca pada panjang gelombang visibel.



1. Linearitas
2. Pembuatan seri konsentrasi larutan glukosa untuk uji linearitas

Larutan stok yang digunakan dalam uji linearitas adalah D-glukosa (Dextrosa) 50 mM atau 9008 ppm dalam akuades steril. Berikut bobot penimbangan glukosa :

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. Larutan stock
 |  |  |
| Bobot Glukosa | 225,2 | mg |
| BM glukosa | 180,16 | gr/mol |
| Volume | 25 | mL |
| Konsentrasi | 50 | mM |
|  |  9008 |  ppm |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1. Kons setelah perlakuan\*
 |   |   |   |
| Kons setelah perlakuan  | = M2 \* total pengenceran |   |   |
|   | = M2\*0,0298 |   |   |
| Pengenceran |   |   |   |   |
| Pengenceran 1 | = 400/840 |   |   |   |
|   | Uji kapasitas glukosa saat inkubasi |   |
|   | 400 μL seri kons glukosa + 400 μL seri kons senyawa + 40 μL akuades |
| Pengenceran 2 | = 25/400 |   |   |   |
|   | Derivatisasi metode Dubois |   |
|   | 25 μL larutan yang akan divalidasi + 375 uL akuades + 400 uL phenol 5% + 2 mL asam sulfat 98% |
|   | Larutan glukosa yang diuji ke metode dubois = 25/(25+375) |
| Total pengenceran | = 400/840 \* 25/(25+375) = 0,0298 |   |

1. Perhitungan

V1. M1 = V2. M2

V1. 9008 = 1200 . 281,5

V1 = 37,5 μL

VA = V2 – V1

 = 1200 – 37,5

 = 1162,5 μL

V1 = Volume larutan stok glukosa (μL)

M1 = Konsentrasi larutan glukosa (mM atau ppm)

V2 = Volume total (μL)

M2 = Konsentrasi larutan seri glukosa (mM atau ppm)

VA = Volume akuades yang ditambahkan (μL)



1. Kurva linearitas

Kurva linearitas diperoleh dengan membuat regresi linier yang diperoleh dari konsentrasi setelah perlakuan (X) vs absorbansi (Y).



1. LOD dan LOQ
2. Perhitungan tabel

X = Konsentrasi teoritis (ppm)

Y = Absorbansi yang diperoleh di laboratorium

X’ = Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi, dengan mengganti

Y menjadi nilai rata-rata absorbansi (ppm)

Contoh :

Y = 0,0094X’ + 0,0788

X’ = $\frac{Y-0,0788}{0,0094}$

 = $\frac{0,108 -0,0788}{0,0094}$

 = 3,18 ppm

Y’ = Absorbansi teoritis yang diperoleh dari persamaan regresi linier,

 dengan mengganti X menjadi nilai konsentrasi teoritis

Contoh :

Y’ = 0,0094X’ + 0,0788

Y’ = 0,0094 . 3,18 + 0,0788

 = 0,157

Y-Y’ = Selisih absorbansi actual laboratorium dengan absorbansi perhitungan



1. Penetapan LOD dan LOQ dilakukan sesuai perhitungan berikut:

LOD = $\frac{3,3 × SD\_{residual}}{slope}$

LOQ = $\frac{10 × SD\_{residual}}{slope}$

|  |  |
| --- | --- |
| Keterangan |   |
| y = bx + a |   |
| Y = 0,0094 X + 0,0788 |
|   |   |
| jumlah data (n) | 6 |
| n-1 | 5 |
| SD | 0,042 |
| Slope (b) | 0,0094 |
| Intercept (a) | 0,0784 |
| LOD (3SD/b) | 13,37 |
| LOQ (10SD/b) | 44,55 |

1. Akurasi dan Presisi
2. Tabel kriteria keberterimaan akurasi berdasarkan AOAC

Kriteria keberterimaan akurasi didasarkan pada nilai perolehan Kembali atau recovery. Akurasi dilakukan pada rentang konsentrasi glukosa 8,38 – 268,1 ppm sehingga pada tabel harapan perolehan kembali berdasarkan konsentrasi analit, akurasi yang dilakukan di laboratorium berada pada rentang 1 – 1000 ppm. Persentase perolehan kembali mengikuti nilai perolehan kembali terbesar berdasarkan rentang tersebut yaitu 95 – 105%. Hal tersebut dimaksudkan agar mendapatkan data yang representatif.



1. Tabel kriteria keberterimaan presisi berdasarkan AOAC

Kriteria keberterimaan presisi didasarkan pada nilai RSD. Presisi dilakukan pada rentang konsentrasi glukosa 8,38 – 268,1 ppm sehingga pada tabel presisi berdasarkan konsentrasi analit, akurasi yang dilakukan di laboratorium berada pada rentang 1 – 1000 ppm. Nilai RSD mengikuti nilai RSD terbesar berdasarkan rentang tersebut yaitu 3,7%. Hal tersebut dimaksudkan agar mendapatkan data yang representatif.

