

**EVALUASI METODE ANALISIS 2,5-HEKSANADION
DALAM URIN DENGAN PENDEKATAN STANDAR
INTERNAL MENGGUNAKAN *GAS CHROMATOGRAPHY-
FLAME IONIZATION DETECTOR* (GC-FID)**

SKRIPSI

**CHANDRA YUDHA DWI CAHYANTO
A221049**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**EVALUASI METODE ANALISIS 2,5-HEKSANADION
DALAM URIN DENGAN PENDEKATAN STANDAR
INTERNAL MENGGUNAKAN *GAS CHROMATOGRAPHY-
FLAME IONIZATION DETECTOR* (GC-FID)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**CHANDRA YUDHA DWI CAHYANTO
A221049**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**EVALUASI METODE ANALISIS 2,5-HEKSANADION
DALAM URIN DENGAN PENDEKATAN STANDAR INTERNAL
MENGUNAKAN *GAS CHROMATOGRAPHY-
FLAME IONIZATION DETECTOR* (GC-FID)**

**CHANDRA YUDHA DWI CAHYANTO
A221049**

Juli 2026

Disetujui oleh:

Pembimbing



Sri Gustini, S.Si., M.Farm.

Pembimbing



apt. Wahyu Purwita Sari, M.Farm.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dengan penuh syukur kepada Allah SWT, skripsi ini ku persembahkan untuk diriku, Chandra Yudha Dwi Cahyanto, atas langkah teguh menapaki perjalanan yang panjang ini. Untuk ayah dan ibu tercinta, doa dan kasih kalian adalah pelita yang menuntun hingga ke titik ini. Tiada kekayaan yang lebih utama daripada akal, tiada kekayaan yang lebih menyedihkan daripada kebodohan, dan tiada warisan yang lebih baik daripada pendidikan.

ABSTRAK

N-heksana merupakan salah satu pelarut organik yang sering dimanfaatkan di berbagai sektor industri, namun penggunaannya sering kali berkaitan dengan risiko kesehatan yang serius. Paparan n-heksana di lingkungan kerja berisiko menyebabkan neuropati perifer akibat metabolit utamanya, 2,5-heksanadion yang diekskresikan melalui urin. Penelitian ini bertujuan mengembangkan dan memvalidasi metode analisis 2,5-heksanadion dalam urin menggunakan *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) dengan pendekatan standar internal untuk biomonitoring okupasional. Kuantifikasi dilakukan menggunakan *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) dengan penambahan standar internal yang difokuskan pada optimasi sistem kromatografi dan evaluasi linearitas, akurasi, presisi, *Limit of Detection* (LoD), *Limit of Quantitation* (LoQ), serta ketahanan (*robustness*). Hasil pengujian menunjukkan uji kesesuaian sistem memenuhi kriteria dengan %CV waktu retensi 0,00602%, jumlah lempeng teoritis (N) 329.716,881, dan resolusi (Rs) 4,275. Metode ini menghasilkan linearitas yang sangat baik pada rentang 0,05–1,6 ppm ($r = 0,9996$), akurasi (% *recovery*) 90,595%-99,101%, serta presisi (%RSD) 3,32%-7,15%. Nilai LoD sebesar 0,0575 mg/L dan LoQ sebesar 0,1742 mg/L berada di bawah batas biologis ACGIH, dengan suhu awal oven 30°C sebagai kondisi paling optimal pada uji ketahanan. Disimpulkan bahwa metode GC-FID berbasis standar internal sikloheksanon terbukti valid, akurat, presisi, dan sensitif untuk kuantifikasi 2,5-heksanadion dalam urin.

Kata kunci: 2,5-heksanadion, GC-FID, Sikloheksanon, Urin, Validasi

ABSTRACT

N-hexane is an organic solvent widely used across industrial sectors, but its use carries serious health risks. Occupational exposure to *n*-hexane can cause peripheral neuropathy due to its major metabolite, 2,5-hexanedione, excreted in urine. This study aimed to develop and validate a method for determining 2,5-hexanedione in urine using Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) with an internal standard approach for occupational biomonitoring. Quantification used GC-FID with an added internal standard, focusing on chromatographic system optimization and evaluation of linearity, accuracy, precision, Limit of Detection (LoD), Limit of Quantitation (LoQ), and robustness. Results showed the system suitability test met acceptance criteria, with a retention time %CV of 0.00602%, theoretical plate number (*N*) of 329.716,881, and resolution (*R_s*) of 4,275. The method showed excellent linearity over 0,05–1,6 ppm (*r* = 0,9996), accuracy (% recovery) of 90,595%–99,101%, and precision (%RSD) of 3,32%–7,15%. LoD and LoQ values were 0,0575 mg/L and 0,1742 mg/L, both below the ACGIH biological exposure index, with an initial oven temperature of 30°C as the optimal robustness condition. The cyclohexanone-based internal standard GC-FID method proved valid, accurate, precise, and sensitive for quantifying 2,5-hexanedione in urine.

Keywords: 2,5-hexanedione, GC-FID, Cyclohexanone, Urine, Validation

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Evaluasi Metode Analisis 2,5-Heksanadion dalam Urin dengan Pendekatan Standar Internal Menggunakan Gas Chromatography Flame Ionization Detector (GC-FID)”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Sri Gustini, S.Si., M.Farm. dan apt. Wahyu Purwita Sari, M.Farm. atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah WS., M.Farm. selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Serta sahabat-sahabat angkatan 2022 yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Juli 2026
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 N-heksana	4
2.2 Urin	5
2.3 2,5-heksanadion	6
2.4 Pemantauan Biologis Paparan N-Heksana	9
2.5 Metode Analisis 2,5-heksanadion	10
2.5.1 <i>Gas Chromatography</i>	10
2.5.2 Standar Internal	11
2.5.3 Sikloheksanon	14
2.6 Validasi Metode Analisis	14
2.6.1 Jenis Validasi Metode Analisis	14
2.6.2 Parameter Validasi Metode Analisis	15
2.7 Akreditasi Validasi Metode Analisis	21
BAB III TATA KERJA	23
3.1 Alat	23
3.2 Bahan	23
3.3 Metode Penelitian	23
3.3.1 Uji Kesesuaian Sistem	23
3.3.2 Preparasi Larutan Stock Standar Internal	24
3.3.3 Preparasi Larutan Desorpsi	24
3.3.4 Preparasi Larutan Standar 2,5-heksanadion	24
3.3.5 Preparasi Larutan <i>Control spike</i>	24
3.3.6 Validasi Metode Analisis	24

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
4.1	Uji Kesesuaian Sistem	26
4.2	Linearitas.....	27
4.3	Akurasi	29
4.4	Presisi	30
4.5	<i>Limit of Detection</i> (LoD) dan <i>Limit of Quantitation</i> (LoQ).....	31
4.6	<i>Robustness</i>	33
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	36
5.1	Simpulan	36
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya	36
DAFTAR PUSTAKA		37
LAMPIRAN		40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Uji Kesesuaian Sistem	26
4.2 Uji Akurasi 2,5-heksanadion	29
4.3 Uji Presisi 2,5-heksanadion	31
4.4 Uji <i>Robustness</i> 2,5-heksanadion.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur N-heksana	4
2.2 Struktur 2,5-heksanadion.....	7
2.3 Pola Metabolisme N-Heksana dan Mekanisme Neurotoksisitas.....	8
2.4 Komponen Sistem <i>Gas Chromatography</i>	11

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Certificate of Analysis</i>	40
2. Validasi Metode Analisis	43
3. Kromatogram 2,5-heksanadion	50

DAFTAR PUSTAKA

- Alwiyah, F., Rudiyanto, W., Indria Anggraini, D., & Windarti, I. (2024). Anatomi dan Fisiologi Ginjal: Tinjauan Pustaka. *Medula*, 14, 285.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists. (2020). *Operations manual: Threshold Limit Values (TLV) for Chemical Substances Committee*. United States.
- Cantwell, H. (2025). The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. *Eurachem*.
- Cravotto, C., Fabiano-Tixier, A. S., Claux, O., Abert-Vian, M., Tabasso, S., Cravotto, G., & Chemat, F. (2022). Towards Substitution of Hexane as Extraction Solvent of Food Products and Ingredients with No Regrets. *Foods*, 11(21).
- Latimer. (2023). Official Methods of Analysis of AOAC International (22nd Edition). *AOAC International*, 1-18.
- Garcia, H. D. (2021). Acceptable Limits for n-Hexane in Spacecraft Atmospheres. *Aerospace Medicine and Human Performance*, 92(12), 956–961.
- Guirette, B., Durán-Muñoz, H. A., Cruz-Domínguez, O., Carrera-Escobedo, J. L., Celaya-Padilla, J. M., & Castañeda-Burciaga, S. (2024). Management System According to ISO/IEC 17025: Method Validation. *Applied Sciences Switzerland*, 14(10).
- Hasibuan, N. H., Karolina, R., Irma, M., & Martinni, M. (2022). *Kromatografi Gas*. Pena Persada Kerta Utama.
- Hassan, H., Othman, M. F., Zakaria, Z. A., Saad, F. F. A., & Abdul Razak, H. R. (2020). Analytical GC-FID Method for the Determination of Organic Solvents in Radiopharmaceuticals. *Current Radiopharmaceuticals*, 14(2), 131–144.
- International Council Harmonisation. (2023). *ICH Q2(R2) Guideline on validation of analytical procedures*. European Medicines Agency.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2016). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 70 Tahun 2016 tentang Standar dan Persyaratan Laboratorium Kesehatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan
- Kumar, B., & Deak, C. (2025). Occupational and Environmental Risks of N-Hexane in Industries: a Review on Risk and Regulatory Perspectives. *Chemical Engineering Transactions*, 115, 37–42.
- Kumar Bhardwaj, S., Dwivedi, K., & Agarwal, D. D. (2016a). A Review: GC Method Development and validation. *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 6(1), 1–7.
- LoPachin, R. M., & Gavin, T. (2015). Toxic neuropathies: Mechanistic insights based on a chemical perspective. *Neuroscience Letters*, 596, 78–83.
- Lou, J., Rao, S., Zhang, M., & Su, S. (2023). Occupational health risk assessment of workplace solvents and noise in the electronics industry using three comprehensive risk assessment models. *Frontiers in Public Health*.

- Mariana, E., Cahyono, E., Rahayu, E. F., & Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *J. Chem. Sci*, 7(3).
- McKee, R. H., Adenuga, M. D., & Carrillo, J. C. (2015a). Characterization of the toxicological hazards of hydrocarbon solvents. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(4), 273–365.
- Megawati, K., & Herdiana, Y. (2016). Review Studi 2,5-Heksanadion Sebagai Molekul Toksik dan Biomarker Paparan N-heksana. *Farmaka*, 14(3).
- Mondal, R., Mukherjee, A., Biswas, S., & Kole, R. K. (2018). GC-MS/MS determination and ecological risk assessment of pesticides in aquatic system: A case study in Hooghly River basin in West Bengal, India. *Chemosphere*, 206, 217–230.
- Moretto, A. (2015). Exposure assessment for chemical and physical agents. In *Handbook of Clinical Neurology*, 131, 47-59
- Muchtaridi, M., Megawati, K., Saputri, F. A., & Mulyana, M. (2019). Validation of analytical method of 2,5-hexanedione on urine by gas chromatography. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(4), 320–324.
- National Institute for Occupational Safety and Health. (2017). *2,5-Hexanedione in urine*. Centers for Disease Control and Prevention.
- Panagiotidou, E., Chountalas, P. T., Magoutas, A. I., Georgakellos, D. A., & Lagodimos, A. G. (2025). Systematic Identification and Validation of Critical Success Factors for ISO/IEC 17025 Implementation. *Administrative Sciences*, 15(2).
- Pearce, D. (2018). *Cyclohexane*. United States: Department of Labor Occupational Safety and Health Administration.
- Puspa Dwiyantri, S., Hanifa Irawan, A., Abbas, Z. A., Utami, M. R., & Nurfadhila, L. (2023). Validation of Drug Compound Analysis Methods in Biological Samples (Urine). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6.
- Scheepers, P. T. J., & Cocker, J. (2019). Progress in the analysis of biomarkers of xenobiotics and some opportunities for improved interpretation. *Trends in Analytical Chemistry*. 113, 116-123.
- Sofronievska, I., Stanoeva, J. P., Bogdanov, J., & Stefova, M. (2024). Establishment, evaluation and application of a gas chromatography-mass spectrometry method for quantification of volatile organic compounds in ambient air using anisole as an internal standard. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 43(2), 181–193.
- United States Pharmacopeial Convention. (2024). *General Chapter 621 Chromatography*. The United States Pharmacopeia.
- Valentine, W. M. (2020). Toxic Peripheral Neuropathies: Agents and Mechanisms. *Toxicologic Pathology*, 48(1), 152–173.
- Vetal, K. (2025). Method Development and Validation of Gas Chromatography. *Int. J. of Pharm. Sci*, 3(11), 3735.

- Zain Athaayaa, A., Pasha Sihaloho, M., Tri Apriliani, D., Bahari, A., & Aulia Qisthi, H. (2025). Inovasi Metode Kromatografi Gas (GC) dalam Analisis Obat Analgesik. *Journal Pharmacy of Tanjungpura*, 2(2).
- Zanella, D., Focant, J. F., & Franchina, F. A. (2021). Anniversary of Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography. *Analytical Science Advances*, 2(3–4), 213–224.