

Penentuan Kadar Etanol Pada Sampel Minuman dengan Metoda HPLC Menggunakan Fasa Gerak Asetonitril dan Buffer Fosfat

Nailul Rahmi¹, Budhi Oktavia², Nazulis Z³

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia

¹nailulrahmi90@gmail.com, ²budhi_okt@yahoo.com

Abstract – Alcoholic beverage is a drink containing ethanol. Ethanol is a psychoactive substance and its consumption causes loss of consciousness. All types of alcohol are essentially toxic, especially if consumed in excess, such as ethanol. According to BPOM limit of the use of alcohol in drinks are $\pm 1\% - 5\%$. Ethanol content analysis in this study using HPLC method with condition UV-Vis using a mobile phase of acetonitrile: phosphate buffer (5: 95) pH 6 at 220nm wavelength detector and the use of stationary phase Zorbax Rx C18 ODS column. The result of this method is retention time for ethanol 1.68 minutes. The application of the method for determination of ethanol on the drinks from the market for 5 different samples was tested. The sample consists of 3 types of alcoholic beverage production factory/industrial, and 2 types of alcoholic beverages produced household. With addition standard techniques on samples was obtained ethanol adduct levels in 2 samples are 20.416% and 3.80%

Keywords – Ethanol, High Performance Liquid Chromatography, Acetonitril, Adisi Standar

I. PENDAHULUAN

Seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat, dewasa ini banyak produk dengan campuran alkohol yang beredar di pasaran terutama pada produk minuman. Penggunaan etanol atau alkohol sebagai minuman sudah dikenal luas, banyak minuman beralkohol yang tidak memiliki izin beredar di masyarakat⁽³⁾. Permasalahannya adalah karena jumlah pemakaian etanol pada minuman amat banyak maka tidak mengherankan keracunan akut maupun kronis sering terjadi dan lagi seringnya muncul para produsen ilegal yang membuat minuman dengan kadar alkohol yang tinggi atau menyalahi aturan batas kadar alkohol yang telah ditentukan⁽¹⁾.

Bila dikonsumsi berlebihan, minuman beralkohol dapat menimbulkan efek samping gangguan mental organik (GMO), yaitu gangguan dalam fungsi berpikir, merasakan, dan berperilaku. Timbulnya GMO itu disebabkan reaksi langsung alkohol pada sel-sel saraf pusat. Karena sifat adiktif alkohol itu, orang yang meminumnya lama-kelamaan tanpa sadar akan menambah takaran/dosis sampai pada dosis keracunan atau mabuk. Mereka yang terkena GMO biasanya mengalami perubahan perilaku, seperti misalnya ingin berkelahi atau melakukan tindakan kekerasan lainnya, tidak mampu menilai realitas, terganggu fungsi sosialnya, dan terganggu pekerjaannya. Perubahan fisiologis juga terjadi, seperti cara berjalan yang tidak mantap, muka merah, atau mata juling. Perubahan psikologis yang dialami oleh konsumen misalnya

mudah tersinggung, bicara ngawur, atau kehilangan konsentrasi.

Minuman beralkohol adalah minuman yang mengandung etanol. Etanol adalah bahan psikoaktif dan konsumsinya menyebabkan penurunan kesadaran. Di berbagai negara, penjualan minuman beralkohol dibatasi ke sejumlah kalangan saja, umumnya orang-orang yang telah melewati batas usia tertentu yang dapat membelinya. Semua jenis alkohol pada dasarnya beracun. Begitu pun dengan etanol, apalagi jika dikonsumsi secara berlebihan⁽²⁾.

Dalam melakukan pengujian kadar etanol pada minuman BPOM tidak bisa mengetahui langsung kadar alkohol yang terkandung didalamnya. Minuman tersebut diuji di laboratorium baru bisa diketahui apakah minuman tersebut layak beredar atau tidak⁽³⁾. Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap bahan tambahan pangan dalam minuman beralkohol, yaitu alkohol jenis etanol. Analisa bahan tambahan pangan tersebut dalam penelitian ini menggunakan metoda *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), karena analisa dengan HPLC ini dapat dilakukan dengan cepat, daya pisah baik, peka, penyiapan sampel mudah, dan dapat dihubungkan dengan detector yang sesuai⁽⁸⁾.

Beberapa pustaka seperti Majors dan Rohman dalam Ida Sundari (2010) juga telah menyatakan bahwa metode kromatografi cair kinerja tinggi fasa terbalik dengan fase diamnya kolom ODS C₁₈ merupakan metode terpilih untuk analisis alkohol tersebut, karena zat-zat tersebut bersifat polar

dan larut dalam air sehingga sulit dipisahkan menggunakan HPLC fasa normal yang menggunakan kolom polar dan fase gerak yang bersifat nonpolar.

Begitu juga dengan Xiaolei Li,dkk (2011) juga menunjukkan HPLC fasa terbalik dengan fasa diam ODS C₁₈ sebagai suatu metode yang baik dan pas dalam menganalisa suatu senyawa ekstrak etanol dari biji gandum berdasarkan beda kepolaran masing-masing fasa gerak dan fasa diamnya. Dimana fasa gerak yang digunakan adalah metanol, air dan asam formiat.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah HPLC Angilent 1120 dengan kolom ODS Zorbax Rx C₁₈, spektrofotometer UV-Vis, peralatan gelas, oven, kertas pH, kertas saring, neraca analitik, botol reagen, labu ukur, erlenmeyer, botol semprot, batang pengaduk, pipet tetes. Bahan yang digunakan adalah etanol, asetonitril, buffer fosfat, aquabidest, natrium fosfat dibasis.

B. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Secara Umum

Fasa gerak diinjeksikan dengan aliran 1 ml/menit, selanjutnya panjang gelombang dari detektor di set pada λ_{maks} etanol yang telah ditentukan terlebih dahulu dengan spektrofotometer UV-Vis hingga terlihat base line telah stabil. Setelah itu sampel diinjeksikan sebanyak 20 μ L kedalam kolom HPLC, selanjutnya akan diperoleh kromatogram yang kemudian di print dan diambil sebagai data untuk analisa.

2. Sampling minuman

Proses sampling minuman dilakukan berdasarkan merek yang beredar di pasaran. Pemilihan sampel berdasarkan atas informasi kandungan bahan-bahan yang ditambahkan ke dalam sampel tersebut.

3. Pembuatan larutan standar etanol dan buffer fosfat

a. Pembuatan larutan standar etanol 10%

Dibuat larutan standar etanol dari bahan baku pembanding dengan kadar 10% dengan memipet sebanyak 52,08 ml etanol. Kemudian diencerkan dalam labu ukur 500 mL menggunakan pelarut aquadest.

b. Pembuatan buffer fosfat

1. Larutan natrium fosfat monobasis 0.2 M

Larutkan 27.8 gram NaH₂PO₄.H₂O dengan air suling dan encerkan hingga 1 liter.

2. Larutan natrium fosfat dibasis 0.2 M

Larutkan 52.65 gram Na₂HPO₄.7H₂O atau 71.1 gram Na₂HPO₄.12H₂O dengan air suling dan encerkan hingga 1 liter. Campurkan x ml larutan natrium monobasis atau natrium dihidrogen fosfat 0.2 M dengan y ml larutan natrium dibasis atau dinatrium dihidrogen fosfat 0.2 M dan encerkan hingga 200 ml dengan air suling.

Tabel 1. Pembuatan buffer fosfat

ml NaH ₂ PO ₄ 0.2 M	ml Na ₂ HPO ₄ 0.2 M	ml air suling	pH buffer
98.9	1.1	100	5
87.8	12.3	100	6
39.0	61.0	100	7
5.3	94.7	100	8

(Tarmizi,2008)

4. Penetapan panjang gelombang pengukuran

Larutan etanol 10% tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 200-700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian ditentukan panjang gelombang untuk analisis.

5. Penentuan kondisi optimum untuk penentuan alkohol jenis etanol secara HPLC

a. Penentuan pH optimum pada perbandingan eluen 5:95

Campuran asetonitril dan buffer fosfat dengan perbandingan 5:95 diberbagai kondisi pH buffer yaitu : pH 5, pH 6, pH 7, pH 8, kemudian dipilih kondisi pH yang memberikan luas atau tinggi puncak yang terbaik untuk etanol dan metanol.

b. Penentuan kondisi optimum pada pH optimum

Larutan baku etanol dan metanol disuntikkan sebanyak 20 μ L kedalam kolom menggunakan fasa gerak campuran asetonitril dan buffer fosfat dengan berbagai kondisi yaitu : 0:100, 5:95, 10:90, 15:85. Kemudian ditentukan yang memberikan pemisahan yang terbaik.

6. Penentuan kadar etanol pada sampel secara standar adisi

Dua buah sampel dilakukan penentuan kadar etanol dengan cara standar adisi yaitu :

a. *Sampel modern (hasil produksi pabrik)*

Diambil 2.5 ml sampel, diencerkan dalam labus ukur 10 ml menggunakan pelarut aquadest. Sebelumnya, dilakukan standar adisi etanol dengan menambahkan larutan standar etanol masing-masing 1 ml untuk larutan standar etanol 10%, 1.5 ml untuk 15% dan 2 ml untuk 20% pada masing-masing labu yang telah berisi 2.5 ml sampel.

b. *Sampel tradisional (hasil home industri)*

Diambil 1.5 ml sampel yaitu untuk pengenceran 75%, lalu diencerkan menggunakan pelarut aquadest hingga 2 ml. Sebelumnya, dilakukan standar adisi etanol dengan menambahkan larutan standar etanol masing-masing 0.2 ml untuk larutan standar etanol 10% dan 0.3 ml untuk larutan standar etanol 15% pada masing-masing labu yang telah berisi 1.5 ml sampel.

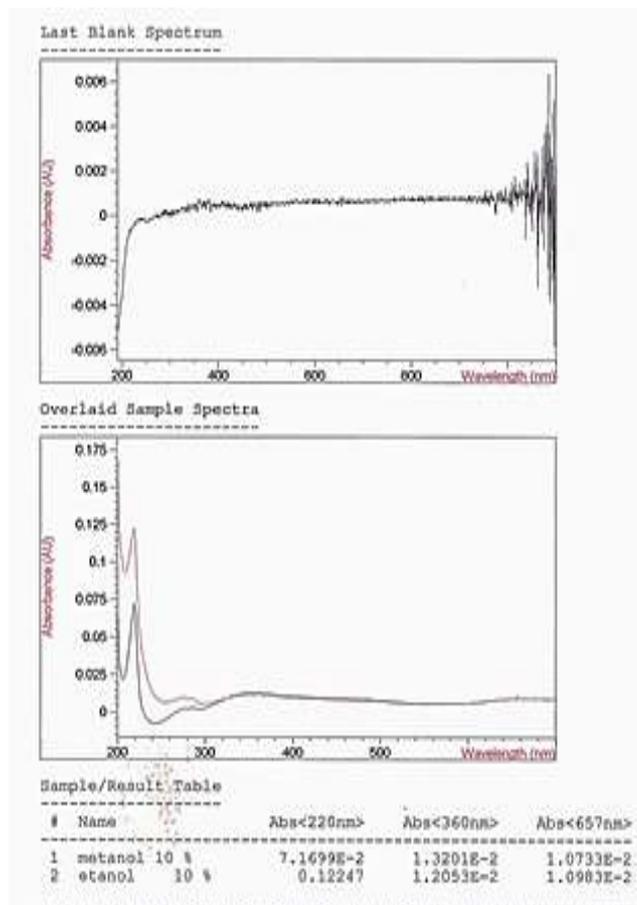
IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. *Sampling Minuman (Beralkohol)*

Sampling minuman beralkohol dilakukan terhadap 5 jenis merk minuman beralkohol yang dijual dipasaran di kota Padang. Sampling minuman dilakukan secara acak dimana diambil 3 jenis minuman beralkohol modern (produksi pabrik/industri) dan 2 jenis minuman beralkohol tradisional (home industri).

B. *Penetapan Panjang Gelombang Pengukuran*

Dalam penentuan kadar alkohol jenis etanol pada minuman beralkohol dengan metoda HPLC terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang dari senyawa alkohol tersebut yaitu dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Hal ini disebabkan karena HPLC yang digunakan memakai detektor UV-Vis, jadi perlu diketahui terlebih dahulu berapa panjang gelombang dari senyawa etanol tersebut. Dari hasil pengukuran yang didapatkan adalah panjang gelombang maksimum (λ_{max}) dari senyawa alkohol jenis etanol dan metanol adalah 220 nm. Jadi pada pengukuran dengan HPLC digunakan panjang gelombang 220 nm untuk senyawa etanol, karena dipastikan senyawa etanol akan terdeteksi pada panjang gelombang tersebut. Dari hasil pengukuran panjang gelombang diperoleh hasil sebagai berikut:



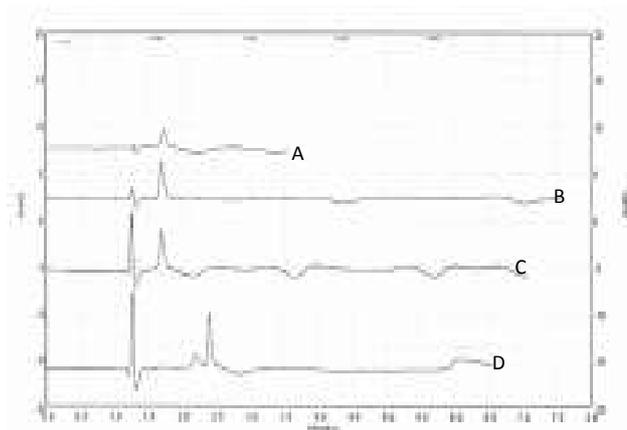
Gambar 1. Panjang gelombang etanol

C. *Penentuan Kondisi Optimum Untuk Penentuan Alkohol Jenis Etanol Secara HPLC*

1. *Variasi pH*

Dari variasi pH buffer fosfat yang digunakan pada pengukuran alkohol jenis etanol ini yaitu pada pH 5, 6, 7, dan 8, didapat pH optimum dari buffer fosfat yang baik untuk pemisahan etanol adalah pH 6. Hal ini dapat terlihat pada kromatogram yang dihasilkan yaitu pada pH 6 telah memberikan luas puncak yang maksimum atau menghasilkan luas puncak yang paling besar.

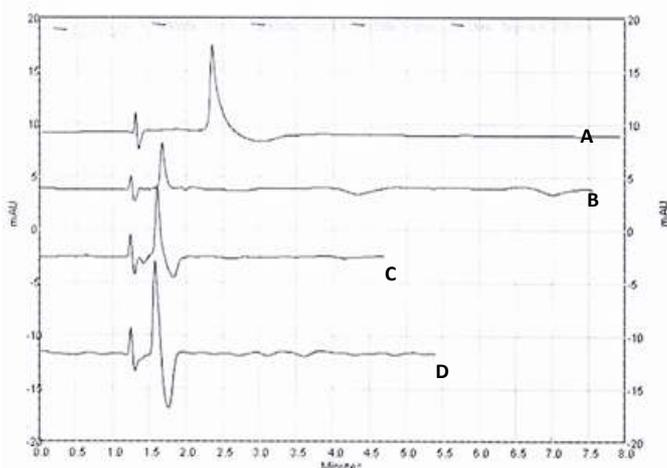
Selain itu, pada kromatogram juga dapat dilihat bahwa puncak etanol yang dihasilkan pada buffer fosfat pH 6 lebih baik dan bagus daripada buffer fosfat pH 5, 7 dan 8. Sehingga pH larutan buffer 6 merupakan kondisi yang optimum dalam pengukuran etanol menggunakan fasa gerak Asetonitril : Buffer fosfat. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada kromatogram berikut ini :



Gambar 2. Variasi pH buffer fosfat
Laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 220$ nm, kolom ODS Zorbax Rx C18, fasa gerak asetonitril : buffer fosfat (5:95) A (asetonitril:buffer fosfat pH 5), B (asetonitril:buffer fosfat pH 6), C (asetonitril:buffer fosfat pH 7), D (asetonitril:buffer fosfat pH 8)

2. Variasi fasa gerak

Dari variasi fasa gerak yang digunakan, didapatkan kondisi optimum fasa gerak untuk penentuan etanol adalah Asetonitril : Buffer fosfat (5:95). Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada kromatogram berikut ini :



Gambar 3. Variasi fasa gerak terhadap waktu retensi
Laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 220$ nm, kolom Zorbax Rx C18, fasa gerak asetonitril : buffer fosfat (5:95) A (asetonitril:buffer fosfat 0:100), B (asetonitril:buffer fosfat 5:95), C (asetonitril:buffer fosfat 10:90), D (asetonitril:buffer fosfat 15:85)

Berdasarkan gambar kromatogram diatas, terlihat bahwa pemisahan terbaik untuk etanol terapat pada variasi konsentrasi Asetonitril : Buffer fosfat (5:95). Pada kondisi ini, etanol memberikan waktu retensi 1,68 menit. Meskipun pada variasi konsentrasi Asetonitril : Buffer fosfat (15:85) dan (10:90) puncak etanol muncul lebih cepat yaitu pada menit ke 1,56 dan 1,61, namun puncak yang dihasilkan tidak bagus dan

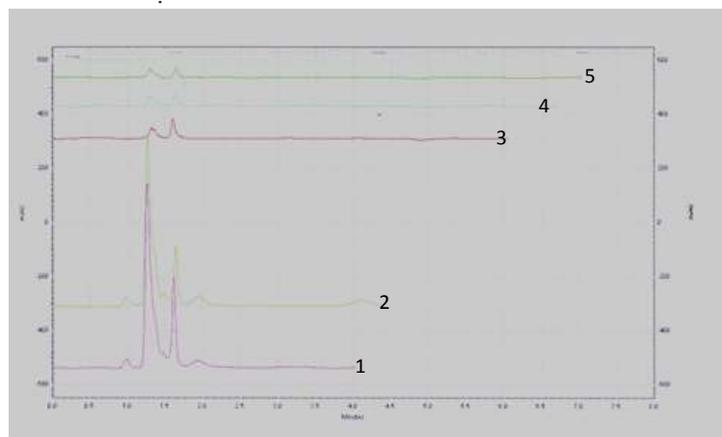
terdapat noise disekitar puncak etanol. Oleh karena itu, konsentrasi fasa gerak Asetonitril : Buffer fosfat (15:85) dan (10:90) belum memberikan pemisahan yang baik.

Begitu juga dengan konsentrasi Asetonitril : Buffer fosfat (0:100) belum memberikan pemisahan terbaik karena waktu retensi yang keluar untuk etanol terlalu lama. Jadi berdasarkan data yang dihasilkan, maka dipilih variasi konsentrasi fasa gerak Asetonitril : Buffer fosfat (5:95) untuk penentuan kadar etanol secara HPLC.

D. Penentuan Kadar Etanol Pada Minuman Beralkohol Secara HPLC

Setelah didapatkan kondisi optimum untuk pemisahan etanol menggunakan HPLC, maka dilakukan pengukuran pada beberapa macam sampel minuman beralkohol yang beredar di pasaran menggunakan kondisi optimum yang telah ditentukan untuk mengetahui kadar etanol yang terapat pada beberapa sampel minuman beralkohol tersebut.

Pada gambar 7 adalah kromatogram dari sampel yang dijual dipasaran yang telah dianalisa dengan menggunakan HPLC. Disini sampel minuman beralkohol yang digunakan ada 5 macam, yang diberi label 1, 2, 3, 4 dan 5. Dari kelima sampel minuman beralkohol tersebut 3 sampel merupakan minuman beralkohol jenis modern (hasil produksi pabrik/industri) yaitu 3, 4 dan 5. Sedangkan 2 yang lainnya merupakan sampel minuman beralkohl jenis tradisional (hasil home industri) yaitu label 1 dan 2



Gambar 4. Kromatogram sampel dan larutan standar etanol
Laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 220$ nm, kolom Zorbax Rx C18, fasa gerak asetonitril : buffer fosfat (5:95)

Dari data kromatogram di atas, terlihat bahwa semua sampel minuman beralkohol tersebut (1, 2, 3, 4 dan 5) mengandung etanol. Ini dapat dilihat dari waktu retensi puncak yang sama dengan kromatogram standar etanol. Pada sampel 5 dan 4 puncak etanol terlihat jelas, sedangkan pada sampel 3, 2 dan 1 puncak etanol tidak terlihat bagus karena banyaknya terapat noise-noise

disekitar puncak etanol. Dimana noise-noise ini dapat berasal dari matriks lain yang terkandung dalam sampel minuman beralkohol tersebut.

Setelah didapatkan kromatogram untuk sampel, maka dilakukan perhitungan luas puncak dari masing-masing komponen untuk etanol. Dimana puncak kromatogram yang muncul pada waktu retensi yang sama dengan etanol, merupakan etanol. Namun dari data kromatogram yang didapat tidak sesuai dengan dengan standar pengukuran dengan HPLC. Dimana banyaknya terdapat noise disekitar puncak etanol pada kromatogram sampel dan puncak etanol yang didapat juga belum memenuhi standar sehingga tidak bisa ditentukan luas puncaknya untuk pengukuran kadar etanol dari sampel.

E. Penentuan Kadar Etanol Pada Sampel Secara Standar Adisi

Berdasarkan data yang diperoleh, untuk mendapatkan puncak etanol pada kromatogram sampel dilakukan standar adisi etanol terhadap sampel. Sehingga puncak yang dihasilkan lebih baik dan lebih tajam. Dengan dilakukan standar adisi etanol pada satu sampel minuman beralkohol didapatkan luas puncak etanol dari sampel untuk menghitung kadar etanol yang terdapat pada sampel tersebut.

Pada pengukuran ini, dilakukan standar adisi etanol pada satu sampel dengan variasi konsentrasinya yaitu standar adisi etanol 10%, 15% dan 20% untuk sampel modern dan standar adisi etanol 10% dan 15% untuk sampel tradisional. Tujuan dari adisi standar etanol ini yaitu untuk lebih memudahkan dalam menghitung kadar suatu sampel, karena menghasilkan data kromatogram yang lebih bagus yaitu puncak etanol yang lebih tajam, tinggi dan bagus sehingga diperoleh luas puncak etanol yang baik. Jadi untuk penentuan kurva regresi linear dari larutan standar etanol, data diperoleh dari pengukuran adisi standar etanol dengan variasi adisi 10%, 15% dan 20% terhadap sampel.

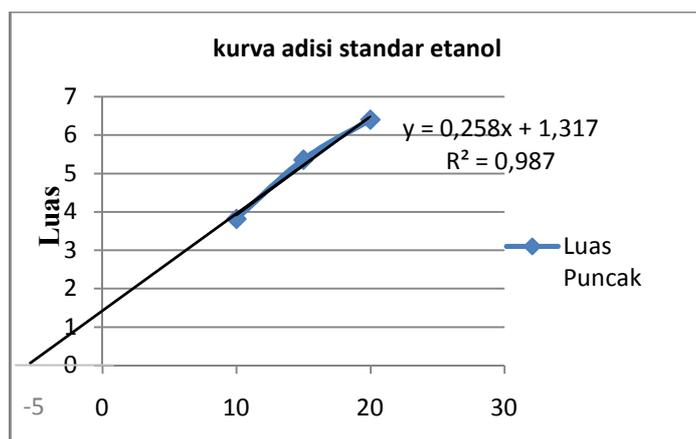
Tabel 2. Variasi konsentrasi adisi standar etanol terhadap luas puncak pada sampel modern (produksi pabrik) dengan pengenceran 25% laju alir 1 ml/menit, λ=220 nm, kolom Zorbax Rx C18, fasa gerak Asetonitril : Buffer fosfat (5:95)

No	Konsentrasi adisi standar etanol (%)	Tinggi Puncak (mAU)	Lebar Puncak (menit)	Luas Puncak (mAU×mnt)
1.	10%	36,20	0,19	3,818
2.	15%	51,67	0,19	5,357
3.	20%	71,13	0,18	6,401

Dari data tabel yang terlihat di atas, telah dilakukan adisi standar etanol terhadap sampel minuman beralkohol jenis modern (hasil produksi pabrik/industri) dan sampel minuman beralkohol jenis tradisional (home industri) yaitu sampel 4 dengan variasi konsentrasi adisi standar etanol 10%, 15% dan 20% dan sampel 2 dengan

variasi konsentrasi adisi standar etanol 10%, dan 15%. Dimana pada sampel modern dilakukan pengenceran sampel 25% sedangkan pada sampel tradisional 75%.

Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mendapatkan kurva linear dan persamaan regresi linear seperti pada kurva dibawah ini. Luas puncak tersebut didapat dengan menggunakan rumus segitiga (Luas alas×tinggi/2) karena puncak kromatogram yang dihasilkan berupa segitiga.



Gambar 5. Kurva adisi standar etanol pada sampel modern Laju alir 1 ml/menit, λ= 220 nm, kolom Zorbax Rx C18, fasa gerak Asetonitril : Buffer fosfat (5:95)

Berdasarkan kurva regresi linear yang diperoleh untuk kedua sampel yaitu penentuan kurva regresi linear dari adisi standar etanol, didapat persamaan regresi linear untuk sampel modern (sampel 4) yaitu $y = 0,2583x + 1,3177$ dengan memotong sumbu x pada $y=0$ dengan linearitas $R^2 = 0,987$ sedangkan untuk sampel tradisional (sampel B) $y = 1,3664x + 3,907$ dengan linearitas $R^2 = 1$. Maka kadar etanol dari kedua sampel dapat dihitung seperti berikut :

Tabel 3. Kadar etanol dari masing-masing sampel laju alir 1 ml/menit, λ= 220 nm, kolom Zorbax Rx C18, fasa gerak asetonitril : buffer fosfat (5:95)

No	Sampel Minuman Beralkohol	Kadar Etanol (%)
1	2 (home industri)	20,416
2	4 (produksi pabrik)	3,80

Dari hasil perhitungan kadar etanol pada masing-masing sampel yang terlihat dalam tabel diatas, dapat kita lihat bahwa sampel minuman beralkohol yang beredar dipasaran mengandung etanol dengan berbagai konsentrasi, namun pada pengukuran kadar etanol sampel hanya 2 sampel yang diukur dimana masing-masing sampel mewakili jenis sampel dipasaran yaitu

sampel modern (minuman beralkohol hasil produksi pabrik) dan sampel tradisional (produksi home industri). Untuk sampel modern (4) dengan pengenceran 25% didapat kadar etanol yang terkandung dalam sampel yaitu sekitar 20,416% dimana kadar etanol yang didapat tersebut mendekati kadar etanol yang tertera pada label sampel modern yaitu $\pm 19,5\%$ dan termasuk kepada minuman keras golongan B (kadar alkohol 5%-20%). Sementara untuk sampel tradisional (2) dengan pengenceran 75% didapat kadar etanolnya yaitu sekitar 3,80% dan termasuk pada minuman keras golongan A (kadar alkohol 1%-5%).

V. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan :

1. Etanol menyerap pada panjang gelombang maksimum 220 nm. Analisa dengan menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 220 nm, laju alir 1 ml/menit, fasa gerak asetonitril : buffer fosfat (5:95), dan kolom ODS Zorbax Rx C18.
2. Pada 2 jenis minuman beralkohol yang beredar dipasaran yaitu minuman beralkohol jenis modern (yang diproduksi pabrik) dan jenis tradisional (yang diproduksi home industri) didapatkan 2 data yang mewakili masing-masing jenis minuman tersebut. Yaitu pada jenis minuman beralkohol modern didapat konsentrasi etanol yang terkandung adalah 20.416%. Sedangkan untuk minuman beralkohol jenis tradisional didapatkan kadar etanolnya yaitu sekitar 3.80%.
3. Kadar kandungan etanol pada minuman beralkohol tersebut, untuk sampel 4 termasuk jenis minuman beralkohol golongan B (kadar alkohol 5%-20%), sedangkan untuk sampel 2 termasuk jenis minuman beralkohol golongan A (kadar alkohol 1%-5%).

VI. REFERENSI

- [1]. Adiprabowo, Danang Sulisty,dkk.(2010). *Pendeteksi Kadar Alkohol Jenis Etanol Pada Cairan Dengan Menggunakan Mikrokontroler ATMEGA8535*. Universitas Diponegoro
- [2]. Anneahira.(2008).[http://www.anneahira.com/minuman-keras/minuman-beralkohol .htm](http://www.anneahira.com/minuman-keras/minuman-beralkohol.htm). Diakses tanggal 28 april 2012
- [3]. Budiastira, Nyoman.2009. *Rancang Bangun Alat Ukur Kadar Alkohol Pada Minuman Berbasis Mikrokontroler AT8951*. Bali : Universitas Udayana
- [4]. Effendy.(2004). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara
- [5]. Fessenden, Ralph.J., Joan S. Fessenden.(1986). *Kimia Organik Edisi Ketiga* . Jakarta : Erlangga
- [6]. Hart, Harold.(1983). *Organic Chemistry, a Short Course, Sixth Edition* (Suminar Achmadi.Terjemahan). Houghton Mifflin : Michigan State University
- [7]. Indharini, Ulfah.2010. *Penetapan Kadar α -Mangostin Pada Infusa Kering Kulit Buah Manggis(*Garcinia mangostana L.*)*. Skripsi UMS: Surakarta
- [8]. Johnson, E. L., Robert Stevenson.1991.*Dasar Kromatografi Cair*.Bandung : Institiut Taknologi Bandung
- [9]. Kuo, Chia-Chi,dkk.2002. *A Removable Derivatization HPLC for Analysis of Methanol in Chinese Liquor Medicine*. Republic of China: graduate Institute of Pharmaceutical Sciences and School of Pharmacy. Kaohsiung Medical University. Vol 10, No.2, Pages.101-106
- [10]. Li, Xiaolei,dkk. 2011. *Antioxidative properties of Hydrated ethanol extracts from tartary buckwheat grains as affected by the changes of rutin and quercetin during preparations*. Republic China: Laboratory of Agricultural Product Processing. Changchun University. Vol 5(4), pp. 572-578
- [11]. Sundari, Ida.2010. *Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*)*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret
- [12]. Tarmizi.2008. *Pembuatan Pereaksi Kimia*. Padang: UNP Press Padang
- [13]. Wang, Mei-Ling,dkk.2003. *A rapi Method for Determination of Ethanol in Alcoholic Beverages Using Capillary as Chromatography*. Taiwan: Departement of Food Health. Chia-Nan University of Pharmacy and Science. Vol 11, No.2, Pages 133-140.
- [14]. Wibowo, Suharto, M.Y. Nadzif. 2009. *Kajian Kinerja Media Kondensasi Untuk Pemurnian Ethanol*. Jawa Timur : Universitas Pembangunan Nasional Veteran
- [15]. Wikipedia.<http://www.wikipedia.com/minuman-keras/beralkohol-ethanol/>. Diakses tanggal 28 April 2012