**Lampiran 2.** Perhitungan preparasi larutan baku 2 ppm dan seri standart 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm

1. Pembuatan larutan induk nikotin 2 ppm

Pembuatan larutan induk 2 ppm dengan cara mengencerkan 0,25 ml larutan standart nikotin dengan 100 ml metanol ke dalam labu takar.

Perhitungan :

 V1 . N1 = V2 . N2

 V1 . 1000 ppm = 100 ml . 2 ppm

 V1 = 5 ml

1. Pembuatan larutan standart

Pembuatan larutan seri standart 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm dengan mengencerkan larutan induk nikotin 2 ppm dalam labu takar 100 ml ke dalam labu takar 50 ml.

 Perhitungan :

1. Pembuatan larutan standart 0,5 ppm

V1 . N1 = V2 . N2

V1 . 2 ppm = 50 ml . 0,5 ml

 V1 = 12,5 ml

1. Pembuatan larutan standart 1 ppm

V1 . N1 = V2 . N2

V1 . 2 ppm = 50 ml . 1 ppm

 V1 = 25 ml

**Lampiran 2** (lanjutan)

1. Pembuatan larutan standart 1,5 ppm

V1 . N1 = V2 . N2

V1 . 2 ppm = 50 ml . 1,5 ml

 V1 = 37,5 ml

1. Pembuatan larutan standat 2 ppm

V1 . N1 = V2 . N2

V1 . 2 ppm = 50 ml . 2 ppm

 V1 = 50 ml

1. Pembuatan larutan standart 2,5 ppm

V1 . N1 = V2 . N2

V1 . 2 ppm = 50 ml . 2,5 ppm

 V1 = 62,5 ml

Keterangan :

 V1 = volume sebelum pengenceran

 V2 = volume setelah pengenceran

 N1 = konsentrasi sebelum pengenceran

 N2 = konsentrasi setelah pengenceran

**Lampiran 3.** Perhitungan Nilai Retardation Factor (Rf)

**Lampiran 3.1** Nilai Rf pada kromatografi kertas

 Nilai Rf pada kromatografi kertas dihitung sebagai berikut :

Rf = Jarak rambat yang ditempuh bercak noda

Jarak yang ditempuh eluen

1. Untuk Larutan Pembanding (Nikotin)

Rf = 7,1

 16 cm

 = 0,44

1. Untuk Sampel Urin 20 G Cangkang Kerang

Rf = 7,1

 16 cm

 = 0,44

1. Untuk Sampel Urin 25 G Cangkang Kerang

Rf = 7,0

 16 cm

 = 0,43

1. Untuk Sampel Urin 30 G Cangkang Kerang

Rf = 7,0

 16 cm

 = 0,43

**Lampiran 3** (lanjutan)

1. Untuk Sampel Urin 35 G Cangkang Kerang

Rf = 70

 16 cm

 = 0,43

1. Untuk Sampel Urin 40 G Cangkang Kerang

Rf = 7,0

 16 cm

 = 0,43

Data kromatografi kertas selanjutnya dapat dilihat pada tabel 4.4

**Lampiran 4.**  Perhitungan Linearilitas

 Linearilitas dihitung menggunakan program mikrosoft excel 2010 dengan hasil sebagai berikut :

Nilai linearilitas nikotin

Konsentrasi larutan standart dan respon UV-Vis dapat di lihat pada tabel berikut :

|  |  |
| --- | --- |
| X | Y |
| 0,5 | 0,015 |
| 1,0 | 0,016 |
| 1,5 | 0,019 |
| 2,0 | 0,024 |
| 2,5 | 0,025 |

Keterangan :

X = Konsentrasi Larutan Standart

Y = Respon UV-Vis

Data Konsentrasi Larutan Standart

**Lampiran 4** (lanjutan)

 Data Perhitungan Regresi

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | X | Y |
| 1. | 0 | 0 |
| 2. | 0,5 | 0,015 |
| 3. | 1,0 | 0,016 |
| 4. | 1,5 | 0,019 |
| 5. | 2,0 | 0,024 |
| 6. | 2,5 | 0.025 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | x | Y | x2 | y2 | xy |
| 1. | 0,0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2. | 0,5 | 0,015 | 0,25 | 0,000225 | O,0074 |
| 3 | 1 | 0,016 | 1 | 0,000256 | 0,016 |
| 4 | 1,5 | 0,019 | 2,25 | 0,000361 | 0,0285 |
| 5 | 2 | 0,024 | 4 | 0,000576 | 0,048 |
| 6 | 2,5 | 0,025 | 6,25 | 0,000625 | 0,0625 |
| Ʃ | 7,5 | 0,099 | 13,75 | 0,002043 | 0,1625 |
| Rata-rata | 1,25 | 0,0165 | 2,291 | 0,00034 | 0,270 |

Perhitungan Intersep (a)

**Lampiran 4** (lanjutan)

slope (a)

b = ȳ ‒ a x̄

 = 0,0165 ‒ 0,0088 . 1,25

 = 0,0165 – 0,011

 = 0,0055

Maka, persamaan regresi nya adalah :

y = ax + b

 = 0,0088 x + 0,0055

r2 = 

 =

**Lampiran 4** (lanjutan)

==

=

 =

= 0,94

**Lampiran 4** (Lanjutan)

untuk mencari persamaan regresi linear digunakan persamaan Y= a + bx

1. absorbansi sampel urin (cangkang kerang 20 g) adalah 0,013

Y = a + bx

0,013 = 0,0088 + 0,0055. x

0,0055 = 0,013 – 0,0088

0,0055x = 0,0042

 x = 0,0042

 0,0055

 = 0,7 mg

1. absorbansi sampel urin (cangkang kerang 25 g) adalah 0,022

Y = a + bx

0,022 = 0,0088 + 0,0055. x

0,0055 = 0,022 – 0,0088

0,0055x = 0,0132

 x = 0,0132

 0,0055

 = 2,4 mg

1. absorbansi sampel urin (cangkang kerang 30 g) adalah 0,024

Y = a + bx

0,024 = 0,0088 + 0,0055. x

0,0055 = 0,024 – 0,0088

0,0055x = 0,0152

**Lampiran 4** (lanjutan)

 x = 0,0152

 0,0055

 = 2,7 mg

1. absorbansi sampel urin (cangkang kerang 35 g) adalah 0,023

Y = a + bx

0,023 = 0,0088 + 0,0055. x

0,0055 = 0,023 – 0,0088

0,0055x = 0,0142

 x = 0,0142

 0,0055

 = 2,5 mg

1. absorbansi sampel urin (cangkang kerang 40 g) adalah 0,023

Y = a + bx

0,023 = 0,0088 + 0,0055. x

0,0055 = 0,023 – 0,0088

0,0055x = 0,0142

 x = 0,0142

 0,0055

 = 2,5 mg

**Lampiran 5**. Hasil Uji Spektrofotometri UV-Vis



**Lampiran 6.** Urin Perokok Dan Cangkang Kerang

 

1. sampel urin perokok

 

1. proses pengeringan cangkang kerang

**Lampiran 7**. *Solit Phase Extraction* Dan Maserasi *Elektrosintesis Coupling*



1. Proses Solit Phase Ekstraction



1. Proses Maserasi Elektrosintesis Coupling

**Lampiran 8. Skema Kerja Penelitian**

**8.1 Preparasi Urin**

URIN PEROKOK

* Di ambil 15 ml urin
* Di tambah 15 ml klorofm
* Di masukkan kedalam beaker glas
* Di gojrok hingga di dapat dua lapisan
* Di ukur hingga pH 9

 Urin dengan pH 9

**8.2 Aktivasi fase diam kulit kerang**

Fase diam kulit kerang

* Cangkang kerang di aktivasi di dalam oven dengan suhu 120ºC selama 3 jam
* Setelah itu didinginkan di dekikator selama 1 jam
* Kemudian siap digunakan

Pengaktipan absorben fase diam

**8.3  *Ekstraksi solid phase extraction* (SPE**)

Solit phase extraction (SPE)

* Variasi cangkang kerang 20, 25, 30, 35, dan 40 gram
* Sampel urin 15 ml + 15 ml kloroform
* Kemudian di analit secara kualitatif dan kuantitatif

Di analisis secara kualitatif dan kuantitatif

**8.4 Analisis kualitatif *cyanogen bromide***

Hasil ekstrak fase padat

* Hasil ekstraksi diteteskan sebanyak 2 tetes
* Di masukkan ke dalam spot plate
* Di tetesin 2-3 tetes cyanogen bromide
* Diamati warna kuning

Di dapatkan hasil cyanogen bromida

**8.5 Analisa kualitatif kromatografi kertas (KKt)**

Identifiikasi nikotin

* Di totolkan plat KKt dengan larutan uji dan larutan baku (pembanding)
* Dibiarkan dan diamati sampai bercak naik
* Setelah naik plat di keluarkan lalu di keringkan
* Diamati penampakan bercak
* Di hitung Rf

Hasil nilai Rf dari masingg-masing penotolan

**8.6 Analisa kuantitatif menggunakan *spektrofometri* UV-Vis**

Hasil ekstrasi fase padat untuk urin positif nikotin, urin negatif nikotin dan nikotin 100%

* Di tambah pelarut metanol
* Di analisis menggunakan *spektrofometri* UV-Vis

Di peroleh hasil gugus urin untuk positif nikotin, negative nikotin dan nikotin 100%