



**ANALISIS RESIDU PESTISIDA DIAZINON PADA SAWI HIJAU
MENGUNAKAN TEKNIK
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS - DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh
Aniesa Fithria
NIM 091810301029

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**ANALISIS RESIDU PESTISIDA DIAZINON PADA SAWI HIJAU
MENGUNAKAN TEKNIK
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS - DENSITOMETRI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

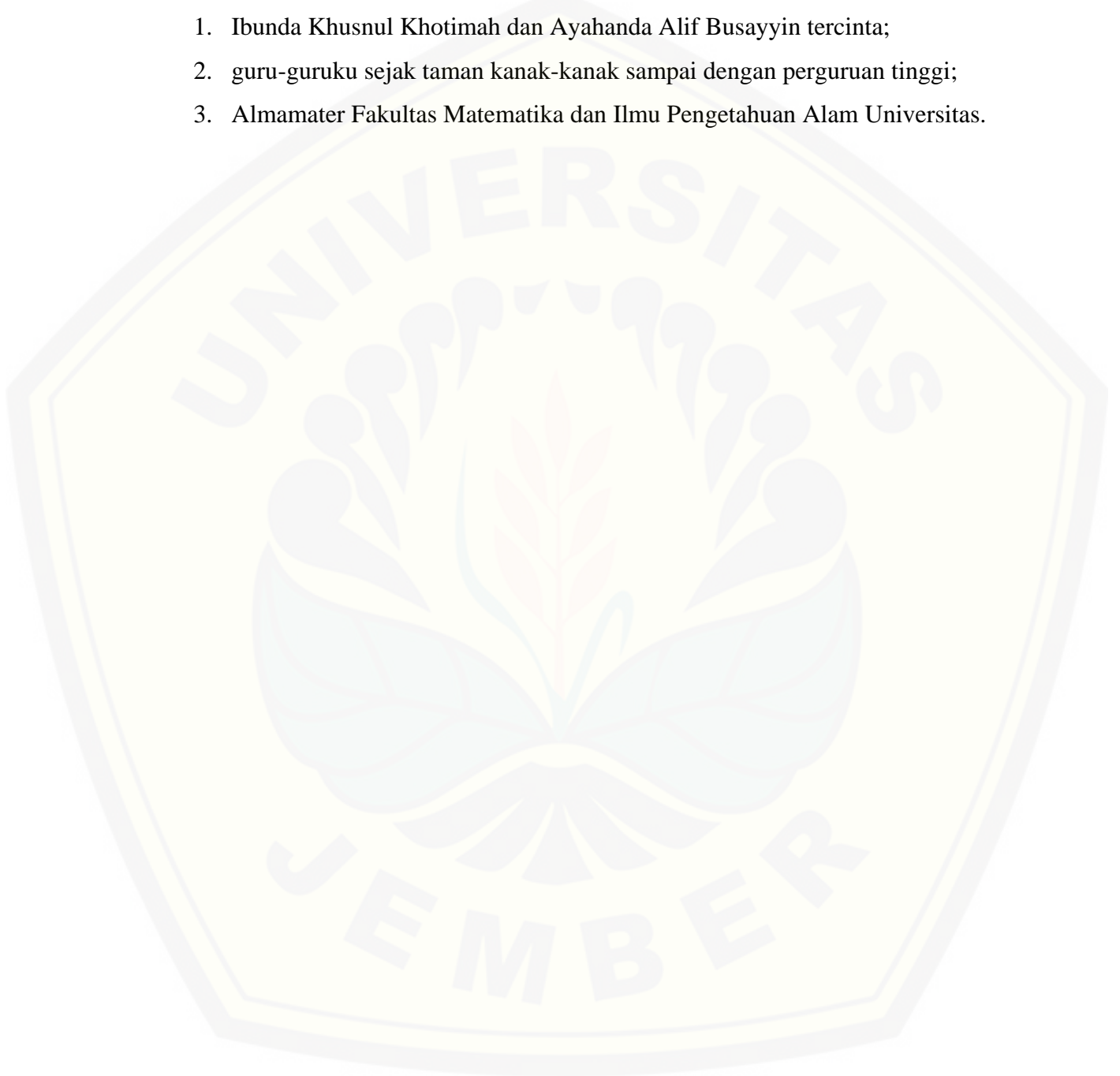
Oleh
Aniesa Fithria
NIM 091810301029

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Khusnul Khotimah dan Ayahanda Alif Busayyin tercinta;
2. guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas.



MOTO

Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow. The important thing is
not to stop questioning

(Albert Einstein)^{*)}

I have not failed. I've just found 10.000 ways that won't work

(Thomas A. Edison)^{**)}

*) Tanpa Nama. 2015. "Albert Einstein Quotes". [Serial on line].
http://goodreads.com/author/quotes/9810.Albert_Einstein. 2 April 2015.

***) Tanpa Nama. 2015. "Thomas A. Edison Quotes". [Serial on line].
http://goodreads.com/author/quotes/9810.Albert_Einstein. 2 April 2015.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Aniesa Fithria

NIM : 091810301029

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Residu Pestisida Diazinon pada Sawi Hijau Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 April 2015
Yang menyatakan,

Aniesa Fithria
NIM 091810301029

SKRIPSI

**ANALISIS RESIDU PESTISIDA DIAZINON PADA SAWI HIJAU
MENGUNAKAN TEKNIK
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS - DENSITOMETRI**

Oleh
Aniesa Fithria
NIM 091810301029

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dwi Indarti, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Analisis Residu Pestisida Diazinon pada Sawi Hijau Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

Sekretaris,

Dwi Indarti, S.Si., M.Si.
NIP 197409012000032004

Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si.
NIP 198008302006042002

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si.
NIP 197107031997021001

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.
NIP 197105011998021002

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Kusno, DEA., Ph.D.
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Analisis Residu Pestisida Diazinon pada Sawi Hijau Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri; Aniesa Fithria, 091810301029; 2015; 31 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Diazinon 600 EC merupakan bahan aktif insektisida dari golongan organofosfat yang efektif membunuh hama pada tanaman. Penyemprotan pestisida ini akan meninggalkan residu pada tanaman sawi hijau dan menyebabkan berbagai gangguan kesehatan pada manusia.

Metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri digunakan pada penelitian ini untuk analisis residu pestisida diazinon pada sawi hijau. Eluen pada pemisahan dengan KLT yang digunakan adalah campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1. Eluen tersebut dapat memisahkan analit (diazinon) terhadap komponen lain dalam campuran dan menghasilkan nilai R_f larutan standar diazinon 0,267 dan densitogram yang memperlihatkan puncak area pemisahan diazinon terhadap komponen lainnya.

Proses validasi metode analisis residu pestisida diazinon secara KLT-Densitometri dilakukan untuk memastikan atau mengkonfirmasi bahwa metode tersebut sesuai untuk diterapkan sebagai metode analisis kadar residu insektisida diazinon dalam sawi hijau. Parameter validasi metode analisis yang dilakukan dalam penelitian ini diantaranya linieritas, LOD (*Limit of Detection*), LOQ (*Limit of Quantitation*), *recovery* (persen perolehan kembali), dan ketepatan (presisi).

Linieritas metode KLT-Densitometri dapat dilihat dari nilai koefisien korelasinya, yaitu 0,974. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi yang dihasilkan dari perhitungan yaitu sebesar 2,21 ppm dan 6,70 ppm. Persen perolehan kembali (*recovery*) ditentukan dengan penambahan standar diazinon ke dalam sampel yang menghasilkan nilai % perolehan kembali 100,25 %, 120 % dan 88,33 %. Ketepatan (*precision*) ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku dan

simpangan baku relatif. Nilai SBR hasil analisis yaitu sebesar 13 % sehingga presisinya sebesar 87 %.

Kadar diazinon dalam sawi hijau S₁, S₂, S₃, dan S₄ (29, 31, 33, dan 35 HST) setelah penyemprotan insektisida terakhir semakin berkurang yaitu sebesar 0,305; 0,256; 0,019; dan 0,0170 mg/kg. Kadar diazinon tersebut masih di bawah Batas Maksimum Residu (BMR) insektisida diazinon dalam sayur sawi hijau yaitu 0,5 mg/kg.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Residu Pestisida Diazinon pada Sawi Hijau Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dwi Indarti, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama serta Dosen Pembimbing Akademik dan Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota, serta Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si. dan I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I dan II;
2. kedua orang tua Ibu Khusnul Khotimah dan Ayah Alif Busayyin serta kakak dan adikku Alfin Warist Khoirunnisa dan Achmad Mun'im Ramadhan yang setia mendukung dan memberikan motivasi serta perhatian dalam penyusunan skripsi;
3. rekan-rekan: Rista dan Leli (*Vegetable Team*), Rega, Ferisa, Antin, Ayus, Lia, Ida, Hisyam, Yusril, Hasan, Dani, Yuda, serta teman-teman Boarkim 2009 tanpa terkecuali yang telah menemani, membantu, berbagi ilmu, serta memberikan semangat dan motivasi;
4. saudara kos 41 A yang telah memberikan motivasi dan dorongan semangat;
5. serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, April 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Batasan Masalah	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sawi Hijau	4
2.2 Pestisida	5
2.3 Residu pestisida dalam tanaman	6
2.4 Diazinon	7
2.5 Ekstraksi	8
2.6 Kromatografi Lapis Tipis	9
2.7 Densitometri	10
2.8 Validasi Metode	11

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.2.1 Alat	14
3.2.2 Bahan	14
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Persiapan Sampel.....	15
3.3.1.1 Penanaman Sawi Hijau	15
3.3.1.2 Preparasi Sampel.....	15
3.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Menggunakan Spektrofotometer UV	15
3.3.3 Aktivasi Plat KLT SilikaGel F ₂₅₄	16
3.3.4 Pemisahan dengan teknik KLT untuk standar diazinon	16
3.3.5 Parameter Validasi.....	16
3.3.5.1 Linieritas	16
3.3.5.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	17
3.3.5.3 Uji perolehan kembali (<i>recovery</i>).....	17
3.3.5.4 Ketepatan (presisi).....	18
3.3.6 Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Sawi Hijau	18

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Panjang Gelombang Maksimum Diazinon	20
4.2 Pemisahan diazinon menggunakan teknik KLT	21
4.3 Validitas Penentuan Diazinon Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri	22
4.3.1 Linieritas	22
4.3.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	23
4.3.3 Persen perolehan kembali (<i>recovery</i>).....	24
4.3.4 Ketepatan (presisi)	25
4.4 Kadar Residu Diazinon dalam Sawi Hijau	25

BAB 5. PENUTUP

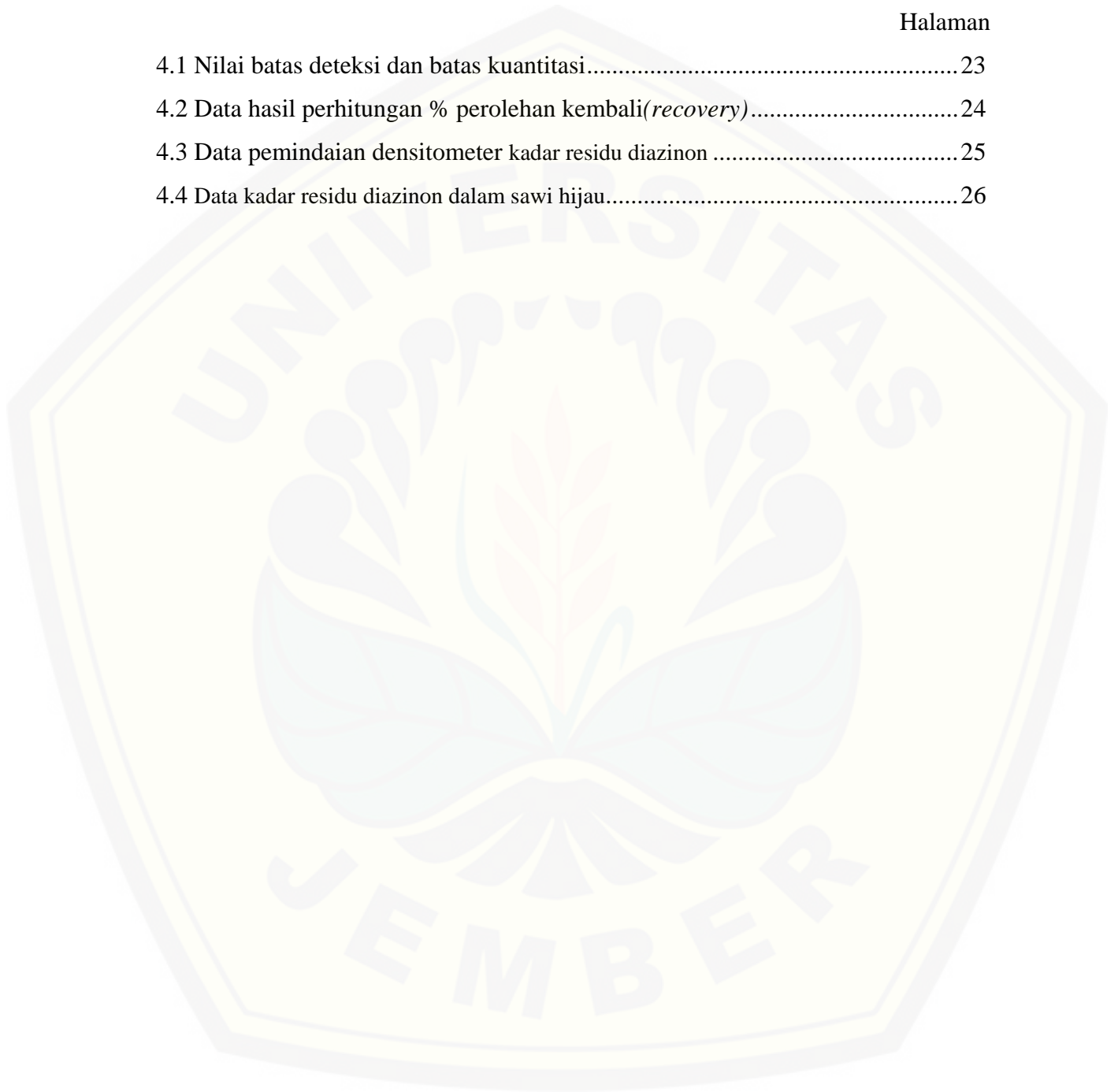
5.1 Kesimpulan	28
-----------------------------	----

5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32



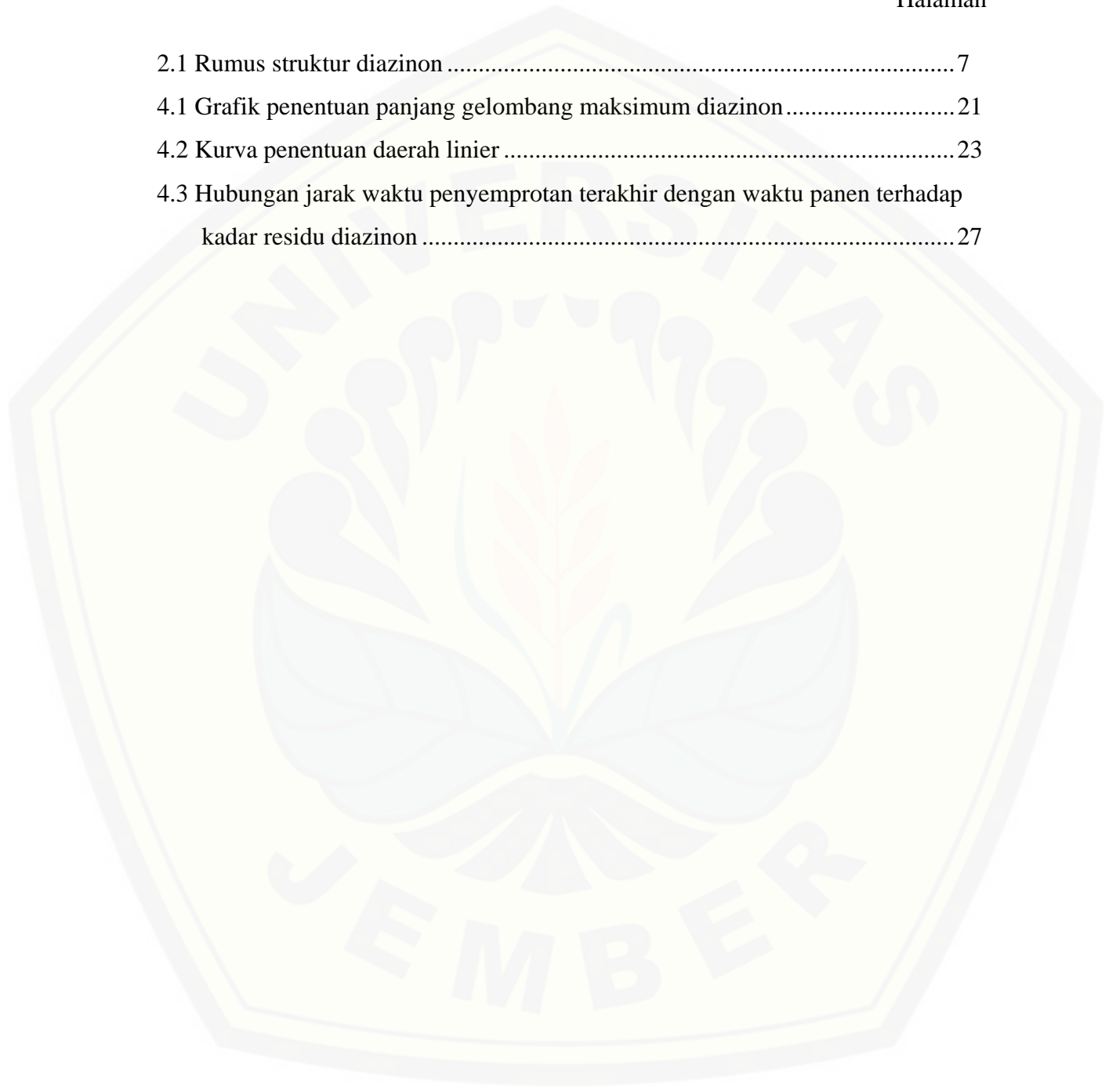
DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi.....	23
4.2 Data hasil perhitungan % perolehan kembali(<i>recovery</i>).....	24
4.3 Data pemindaian densitometer kadar residu diazinon	25
4.4 Data kadar residu diazinon dalam sawi hijau.....	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Rumus struktur diazinon	7
4.1 Grafik penentuan panjang gelombang maksimum diazinon	21
4.2 Kurva penentuan daerah linier	23
4.3 Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu diazinon	27



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Pembuatan larutan standar diazinon.....	32
B. Data penentuan panjang gelombang maksimum	34
C. Analisis eluen pada KLT menggunakan densitometer	35
D. Data validasi metode	37
D.1 Linieritas.....	37
D.2 Batas deteksi dan batas kuantitasi	41
D.3 Persen perolehan kembali (<i>recovery</i>)	43
D.4 Ketepatan (presisi).....	48
E. Data penentuan kadar residu diazinon dalam sawi hijau.....	51
E.1 Data dan densitogram hasil pemindaian dengan densitometer	51
E.2 Contoh perhitungan kadar residu diazinon	51
E.3 Foto sampel hasil ekstraksi	59

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sawi hijau merupakan salah satu komoditas pertanian yang banyak digemari oleh masyarakat. Selama masa penanamannya, sawi hijau sangat rentan terhadap hama dan penyakit. Hama yang menyerang antara lain ulat tanah (*Agrotis sp.*), ulat grayak (*Spodoptera litura*) dan ulat perusak daun (*Plutella xilostella*). Penyakit yang biasa menyerang antara lain penyakit busuk daun yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora sp.* dan penyakit akar gada, yaitu tanaman tampak layu pada siang hari cerah yang disebabkan oleh jamur *Plasmodiophora brassicae* (Wahyudi, 2010).

Serangan hama dan penyakit dapat diatasi dengan penyemprotan pestisida. Penyemprotan pestisida dapat meninggalkan residu yang menempel pada tanaman dan akan terakumulasi pada hasil pertanian. Tinggi rendahnya residu pestisida pada tanaman ditentukan oleh jenis pestisida, dosis, frekuensi, dan waktu aplikasi. Afriyanto (2008) menyatakan bahwa semakin jauh rentang waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen akan semakin baik. Hal ini dikarenakan residu yang tertinggal pada tanaman sebagian besar telah terurai.

Sayuran yang mengandung residu pestisida jika dikonsumsi oleh manusia akan menimbulkan gangguan sistem saraf. Gangguan seperti ini salah satunya disebabkan oleh pestisida golongan organofosfat. Diazinon merupakan salah satu senyawa golongan organofosfat yang biasa digunakan sebagai pestisida untuk racun serangga. Diazinon sangat efektif untuk memberantas, membasmi ataupun membunuh serangga sasaran bila pestisida tersebut masuk ke dalam organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding saluran pencernaan (Jumbriah, 2006).

Metode yang pernah digunakan untuk menganalisis residu pestisida diantaranya metode Kromatografi Gas (*Gas Chromatography*) untuk analisis residu diazinon dan carbosulfan pada buncis (Kabir *et al.*, 2008) serta biosensor berbasis imobilisasi untuk analisis residu diazinon dalam kubis (Azis, 2012). Metode lain yang dapat digunakan adalah metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang lebih sederhana dan relatif murah dalam pengadaan alatnya dibanding GC dan biosensor. Pemisahan dengan KLT dapat digunakan untuk melihat kemurnian sampel dari jumlah noda (*spot*) yang terpisah. Selain itu, metode KLT dapat dilakukan untuk sampel dengan konsentrasi sangat kecil (dalam satuan mikro/semimikro) (Wonorahardjo, 2013).

Rista (2014) melakukan analisis residu diazinon dalam tomat dengan metode KLT – Densitometri dengan variasi pemetikan tomat pada hari ke-1, 2, 3, 4 dan 5 setelah penyemprotan diazinon terakhir. Eluen campuran heksana-etilasetat 18:1 digunakan untuk analisisnya. Eluen tersebut dapat memisahkan analit (diazinon) terhadap komponen lain dalam campuran dan menghasilkan nilai R_f larutan standar diazinon 0,29 dan hasil pemindaian densitometer yang memperlihatkan puncak area pemisahan diazinon terhadap komponen lainnya. Berdasarkan hal tersebut, maka digunakan eluen campuran heksana-etilasetat dengan komposisi 18:1 untuk penentuan kadar residu diazinon dalam sawi hijau menggunakan teknik KLT-Densitometri.

Validasi metode analisis dalam penelitian dilakukan untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan penggunaannya. Beberapa parameter analisis yang digunakan dalam validasi meliputi linearitas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*), persen perolehan kembali (*recovery*) dan ketepatan (presisi). Parameter-parameter tersebut akan menghasilkan data yang mendekati harga sebenarnya dan apabila diulang akan memberikan hasil yang sama sehingga data yang diperoleh dapat dipertanggungjawabkan (Gritter, *et al.* 1991).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh jarak waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu pestisida diazinon dalam sawi hijau?
2. Bagaimana validitas penentuan diazinon menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh jarak waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu pestisida diazinon dalam sawi hijau.
2. Mengetahui validitas penentuan diazinon menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh jarak waktu penyemprotan pestisida diazinon terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residunya dalam sawi hijau menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis - Densitometri dan sebagai alternatif teknik analisis.

1.5 Batasan Masalah

1. Penanaman sawi hijau dalam polibag berlokasi di *Green House* Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Standar diazinon yang digunakan adalah diazinon 600 EC (*Emulsifiable Concentrate* atau pestisida bentuk cair) produksi PT. Petrokimia Kayaku (Petrokimia Gresik Group).
3. Eluen yang digunakan pada KLT adalah campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1.
4. Parameter validasi metode yang digunakan diantaranya linieritas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), % perolehan kembali (*recovery*), dan ketepatan (presisi).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sawi Hijau

Sawi hijau (*Brassica juncea L.*) merupakan tanaman hortikultura dengan klasifikasi tanaman seperti berikut

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Sub kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Papavorales
Famili	: Brassicaceae
Genus	: Brassica
Spesies	: Brassica juncea L.

(Haryanto, *et al.*, 2001).

Sawi hijau memiliki daun panjang dan halus. Biasanya tanaman sawi hijau dibudidayakan di daerah ketinggian 100-500 m di atas permukaan laut, dengan kondisi tanah gembur, banyak mengandung humus, subur dan drainase yang baik. Tanaman sawi terdiri dari dua jenis yaitu sawi putih dan sawi hijau. Umur panen sawi 30-35 hari setelah tanam sedangkan umur bunga 55-65 HST sehingga panen dapat ditunda dengan memperhatikan fisik tanaman seperti warna, bentuk dan ukuran daun (Edi, 2010).

Sawi hijau merupakan komoditas yang memiliki nilai komersial dan digemari masyarakat Indonesia. Konsumen menggunakan daunnya baik sebagai bahan pokok maupun sebagai pelengkap masakan tradisional dan masakan cina. Tanaman sawi pada umumnya banyak ditanam di dataran rendah. Tanaman ini selain tahan terhadap suhu panas juga mudah berbunga dan menghasilkan biji secara alami pada kondisi iklim tropis Indonesia (Haryanto *et al.*, 2001).

Pencegahan serangan hama dan penyakit yang perlu diperhatikan adalah sanitasi dan drainase lahan. Jika perlu menggunakan pestisida yang aman dan mudah terurai seperti pestisida biologi, pestisida nabati atau pestisida piretroid sintetik. Penggunaan pestisida tersebut harus dilakukan dengan benar baik pemilihan jenis, dosis, volume semprot, cara aplikasi, interval dan waktu aplikasinya (Edi, 2010).

2.2 Pestisida

Pestisida berasal dari kata *pest* yang berarti hama dan *sida* berasal dari kata *caedo* berarti pembunuh. Pestisida dapat diartikan secara sederhana sebagai pembunuh hama yaitu tungau, tumbuhan pengganggu, penyakit tanaman yang disebabkan oleh fungi, bakteri, virus, nematoda, siput, tikus, burung, dan hewan lain yang dianggap merugikan (Djojoseumarto, 2008).

Menurut sifat kimianya (bahan aktif), pestisida dapat digolongkan antara lain :

1. Golongan Organoklorin, yang termasuk dalam pestisida golongan ini adalah DDT, endosulfan, aldrin, dieldrin, dan sebagainya. Insektisida organoklorin ini relatif stabil dan kurang reaktif, serta menyebabkan polusi terhadap lingkungan terutama sifat persistensinya dalam tanah (lama terurai) di lingkungan.
2. Golongan Organofosfat
Golongan memiliki spektrum yang lebih luas dan efektif memberantas hama daripada organoklorin serta non persisten (pengganti organoklorin). Contoh golongan pestisida ini adalah malathion, diazinon, fention, profenofos, dan sebagainya.
3. Karbamat
Karbamat memiliki daya kerja serupa dengan organofosfat yaitu sebagai penghambat enzim kolinesterase, serta memiliki daya urai cepat. Umumnya digunakan dalam rumah tangga untuk penyemprotan nyamuk, kecoa, lalat, dan lain-lain. Contoh : karbaril dengan nama dagang sevin, karbofuran, metil karbamat, metiokarb, aldiharb, dan lain-lain. Insektisida

ini memiliki toksisitas yang rendah terhadap manusia dan memiliki spektrum yang luas untuk pengendalian serangga.

4. Piretroid

Piretroid memiliki spektrum luas, tidak persisten, memiliki efek melumpuhkan yang baik. Namun sifatnya kurang atau tidak selektif dan kurang cocok untuk pengendalian hama terpadu. Contoh: alletrin, permetrin, dekametrin, dan lain-lain (Triharso, 1994).

Penggunaan pestisida harus memperhatikan beberapa hal yakni, tepat sasaran, tepat jenis (misalnya, untuk hama serangga digunakan jenis insektisida), tepat waktu (misal tidak mengaplikasikan pestisida pada saat hujan, cuaca yang terik matahari, dan jangka waktu aplikasi pestisida terakhir dengan waktu panen), tepat dosis/konsentrasi (dosis sesuai tercantum pada label kemasan pestisida), dan tepat cara (Kementerian Pertanian, 2011).

2.3 Residu Pestisida dalam Tanaman

Residu pestisida memiliki arti yaitu sisa-sisa pestisida, termasuk hasil perubahannya yang terdapat atau dalam jaringan manusia, hewan, tumbuhan, air, udara atau tanah. Istilah ini mencakup juga senyawa turunan pestisida, seperti senyawa hasil konversi, metabolit, senyawa hasil reaksi, dan zat pengotor yang dapat bersifat toksik (Kementerian Pertanian, 2011).

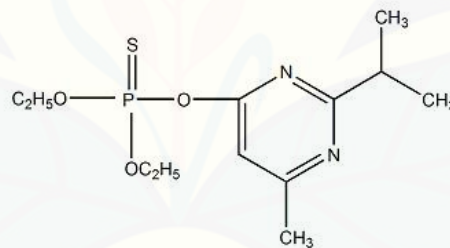
Penggunaan pestisida yang tidak tepat waktu, interval waktu aplikasi yang pendek dan terlalu dekat waktu panen akan menyebabkan tertinggalnya residu pestisida pada bahan makanan yang dapat membahayakan kesehatan manusia yang mengonsumsi bahan makanan tersebut. Residu pestisida dapat hilang atau terurai. Faktor yang mempengaruhinya adalah penguapan, pencucian, degradasi enzimatis dan translokasi. Selain itu, pestisida dalam tanaman dapat hilang sama sekali karena proses metabolisme yang berkaitan dengan proses pertumbuhan tanaman itu sendiri (Tarumingkeng, 1992).

Tinggi rendahnya residu pestisida pada tanaman ditentukan oleh jenis pestisida, dosis dan frekuensi aplikasi, serta waktu aplikasi. Afriyanto (2008) menyatakan bahwa semakin jauh rentang waktu penyemprotan pestisida terakhir

sampai waktu panen akan lebih baik. Hal ini dikarenakan residu yang tertinggal pada tanaman sebagian besar telah terurai.

2.4 Diazinon

Diazinon merupakan salah satu pestisida golongan organofosfat yang merupakan ester asam fosfat atau asam tiofosfat. Diazinon adalah insektisida yang sangat efektif digunakan untuk memberantas dan membasmi, ataupun mengendalikan hama-hama tanaman seperti kutu daun, lalat, wereng, kumbang penggerek padi, dan sebagainya. Diazinon umumnya digunakan pada tanaman buah, padi, tebu, jagung, tembakau dan tanaman hortikultura. Badan Standardisasi Nasional (BSN) menetapkan Batas Minimum Residu (BMR) diazinon adalah sebesar 0,5 mg/kg dalam komoditas sayur sawi hijau (Tuhumury *et al.*, 2012). Diazinon merupakan insektisida racun lambung (racun perut/*stomach poison*) yang membunuh serangga sasaran bila insektisida tersebut masuk ke dalam organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding saluran pencernaan. Rumus bangun diazinon terlihat seperti pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Rumus Struktur Diazinon (Zhang dan Pehkonen, 1999).

Diazinon dikenal dengan beberapa nama formulasi (dagang) antara lain Basudin, Dazzel, Gardentox, Kayazal, Knox Out, Nucidol, Spectracide, Diazinon 10 G, Diazinon 60 EC, Diazinon 600 EC, Agrostar 600 EC dan Prozinon 600 EC. Diazinon murni tidak berwarna dan berbentuk cairan, sedangkan diazinon teknis berwarna kecoklatan dan berbentuk cairan. Diazinon memiliki berat molekul 304,35 g/mol, dan tekanan uap sebesar $1,4 \times 10^{-4}$ mmHg pada suhu 20° C. Kelarutan dalam air 60 mg/L pada suhu 20° C, dapat larut dalam alkohol, aseton,

benzen, sikloheksana, diklorometana, dietil eter, petrolium eter, heksana, dan toluena (Hayes dan Laws, 1991). Sensitif terhadap oksidasi dan suhu tinggi, mudah terurai di atas suhu 100° C (Hayes dan Laws, 1991). Secara umum sifat insektisida organofosfat sangat mudah terurai dan mempunyai waktu paruh yang relatif pendek sehingga residunya dalam tanaman ditemukan dalam jumlah kecil (Tarumingkeng, 1992).

Diazinon memiliki nama kimia yakni O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il)fosforotionat. Struktur diazinon terdiri dari cincin aromatik dengan dua atom nitrogen pada cincin aromatik dan gugus substituen pada cincin tersebut yaitu gugus metil dan isopropil yang merupakan gugus pendorong elektron serta gugus $-O-P(S)(C_2H_5O)_2$ yang merupakan pusat elektronegatif pada molekul diazinon dan berperan sebagai gugus penarik elektron (Saputra *et al.*, 2013).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu jenis pemisahan komponen dari campuran berdasarkan distribusi *solute* pada pelarut. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat terlarut ke dalam pelarut. Perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan kelarutan yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran (*“like dissolve like”*). Kandungan senyawa hasil ekstraksi suatu bahan tanaman dipengaruhi oleh faktor seperti jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, dan suhu yang digunakan untuk mengekstraksi (Ahuja, 2000).

Ekstraksi buah dan sayuran dapat menggunakan pelarut organik sebagai pelarut ekstraksi. Pelarut ekstraksi yakni heksana digunakan untuk mengekstraksi diazinon dari sayur terung diikuti penambahan Na_2SO_4 anhidrat (Kabir, *et al.*, 2008). Ningsih (2001) menggunakan pelarut heksana dan penambahan Na_2SO_4 anhidrat pada bioremediasi diazinon secara *ex situ*.

Pemilihan jenis pelarut yang sesuai harus memperhatikan faktor-faktor sebagai berikut :

- kelarutan rendah dalam air

- kekentalan rendah dan tidak membentuk emulsi dengan air
- tidak mudah terbakar dan tidak bersifat racun
- mudah melepas kembali gugus yang terlarut di dalamnya untuk keperluan analisa lebih lanjut (Prasetyo dan Prima, 2010).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip dari metode kromatografi adalah distribusi komponen sampel antara dua fase tersebut, yakni fase diam dan fase gerak (eluen). Campuran akan terdistribusi ke dalam fase diam dan eluen dalam sistem yang sudah ditentukan. Pada perkembangannya, fase diam dan eluen dapat diubah-ubah dan diberi perlakuan tertentu untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi pemisahan (Wonorahardjo, 2013).

Kromatografi lapis tipis merupakan pemisahan berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi analit melalui fase diam dengan gerakan dari eluen. Fase diam dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Penjerap yang sering digunakan adalah silika. Mekanisme sorpsi yang utama dalam KLT adalah partisi dan adsorpsi. Sedangkan eluen yang digunakan merupakan campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Daya elusi dari eluen harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. (Gandjar dan Rohman, 2007).

Fase gerak (eluen) harus memiliki kemurnian yang tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Untuk pemisahan dengan fase diam polar silika gel, polaritas eluen akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang sedikit polar seperti etilasetat ke dalam pelarut non-polar seperti heksana akan meningkatkan harga R_f secara signifikan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Solut pada kedua kromatografi ini dicirikan dengan faktor retardasi (R_f) yang didefinisikan sebagai :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh solut}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai maksimum R_f adalah 1 yang dicapai ketika solut mempunyai perbandingan distribusi (D) dan faktor retensi (k) sama dengan 0 yang berarti solut bermigrasi dengan kecepatan yang sama dengan kecepatan eluen. Nilai minimum R_f adalah 0 dan ini teramati jika solut tertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam (tidak bergerak sama sekali dari titik awal penotolan) (Rohman, 2009).

Pemisahan pada KLT yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin. Sebagaimana dalam prosedur kromatografi yang lain, jika sampel yang digunakan terlalu banyak, maka akan menurunkan resolusi. Reprodusibilitas yang baik memiliki volume sampel yang akan ditotolkan paling sedikit 0,5 μL . Jika volume sampel yang akan ditotolkan lebih besar dari 2-10 μL , maka penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan dilakukan pengeringan antar totolan (Rohman, 2009).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil dan juga untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran. Hal ini disebabkan interaksi fase diam dan eluen secara simultan terhadap senyawa-senyawa organik yang dipisahkan dapat memberikan perbedaan distribusi dan berakhir pada pemisahan senyawa-senyawa yang secara struktural sangat mirip sekalipun, sehingga membutuhkan waktu dan biaya yang minimal dan juga metode ini menjadi sangat efektif dan efisien (Wonorahardjo, 2013).

2.7 Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit berupa bercak atau noda pada plat hasil pemisahan KLT. Interaksi yang terjadi adalah adsorpsi, transmisi, dan pantulan (refleksi). Densitometer (*TLC Scanner*) ini merupakan instrumen pengukur densitas bercak hasil pemisahan kromatografi lapis tipis. Instrumen ini dilengkapi dengan suatu perangkat optik, sumber cahaya dan detektor seperti halnya spektrofotometer (Kantasubrata, 1991).

Densitometri dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif zat atau campuran zat yang dipisahkan sebelumnya menggunakan metode KLT. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan nilai R_f sampel dengan nilai R_f senyawa standar. Selain itu juga dapat dilakukan dengan membandingkan spektrum panjang gelombang kromatogram sampel dengan spektrum panjang gelombang senyawa standar.

Deteksi bercak pada KLT dapat dilakukan secara kimia dan fisika. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan noda yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet atau berfluoresensi pada panjang gelombang 254 nm atau 365 nm (Gandjar dan Rohman, 2009).

Pemindaian dengan densitometer menghasilkan densitogram dengan puncak area beragam sebagai hasil pemisahan analit terhadap komponen lain. Densitometri merupakan metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit berupa noda pada plat hasil pemisahan KLT. Densitometri digunakan untuk penetapan kadar suatu senyawa pada lempeng kromatografi (Kantasubrata, 1991). Densitometer mengukur tingkat kepekatan atau intensitas warna yang terdapat pada suatu permukaan plat (bidang datar) dan dilengkapi dengan spektrofotometer yang panjang gelombangnya dapat diatur dari 200 - 700 nm. Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur serapan analit (cahaya yang diukur dapat berupa cahaya yang dipantulkan atau diteruskan), pemendaran (fluoresensi) untuk lapisan yang mengandung bahan berfluoresensi analit atau hasil reaksi analit. Sinar ini sangat sensitif, maka untuk setiap senyawa perlu diketahui panjang gelombang maksimumnya (Mulja & Suharman, 1995).

2.8 Validasi Metode

Validasi adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu pada prosedur penetapan yang dipakai untuk membuktikan bahwa parameter tersebut

memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Ermer dan Miller, 2005). Parameter validasi antara lain :

a. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Secara sistematis linieritas ditunjukkan dengan persamaan $y = bx + a$. Nilai slope atau kemiringan (b), intersep (a) dan sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (r) yang menggambarkan linieritasnya (Ermer dan Miller, 2005).

b. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan, sedangkan batas kuantitasi adalah jumlah/kuantitas terkecil sampel yang dapat ditetapkan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang baik. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung secara statistik berdasarkan persamaan regresi linear kurva baku yang diperoleh. Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung dari kemiringan garis dan simpangan baku kurva standar yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Batas deteksi (LOD)} = 3,3 \times \frac{SD}{b}$$

$$\text{Batas kuantitasi (LOQ)} = 10 \times \frac{SD}{b}$$

keterangan :

$\frac{SD}{b}$ = standar deviasi residual dari regresi linier

b = kemiringan (*slope*) dari regresi linier

(Ermer dan Miller, 2005).

c. Uji perolehan kembali (*recovery*)

Pengukuran *recovery* adalah pengukuran untuk mengetahui kedekatan hasil uji terhadap nilai sebenarnya yang dapat diterima. Ketelitian dinyatakan sebagai *persen recovery* dengan menambahkan larutan standar

ke dalam sampel yang akan diperiksa. Perhitungan perolehan kembali (recovery) dapat ditetapkan dengan rumus berikut :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{m_f - m_a}{m_a^*}$$

keterangan :

m_f = massa total analit dalam larutan (massa sampel yang didapatkan + massa standar diazinon yang ditambahkan)

m_a = massa analit dalam sampel

m_a^* = massa larutan standar yang ditambahkan (Ermer dan Miller, 2005).

d. Ketepatan (presisi)

Ketepatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian di antara hasil uji individual serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengambilan sampel berulang pada sampel homogen yang sama di bawah kondisi yang ditentukan. Perhitungan keseksamaan dilakukan dengan menetapkan persentase standar deviasi (SD) dan simpangan baku relatif (SBR)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

keterangan :

x = luas area hasil pengujian (x_1, x_2, \dots, x_n)

\bar{x} = rata-rata luas area hasil pengukuran

n = jumlah pengukuran (Ermer dan Miller, 2005).

Simpangan baku relatif merupakan ukuran ketepatan relatif dan umumnya dinyatakan dalam persen dan dirumuskan dengan persamaan :

$$\% SBR = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Semakin kecil nilai SBR dari serangkaian pengukuran, maka metode yang digunakan semakin tepat (Gandjar dan Rohman, 2007).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan April tahun 2014 sampai dengan bulan Januari tahun 2015.

Penelitian bertempat di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember serta Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Penanaman sawi hijau dalam polibag berlokasi di *Green House* Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, *shaker bath*, oven, *ball* pipet, alat gelas, pipet mikro, mortar dan pastel, bejana KLT berukuran 10x5x10 cm³, spektrofotometer UV-Vis, dan CAMAG *TLC Scanner 3*.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sawi hijau yang ditanam dalam media polibag. Bagian yang diambil adalah daun dan batang sawi hijau.

Bahan kimia yang digunakan adalah pestisida organofosfat berbahan aktif diazinon 600 EC (konsentrasi 600000 ppm) produksi PT. Petrokimia Kayaku (Petrokimia Gresik Group), metanol p.a, Na₂SO₄ anhidrat, kertas saring, n-heksana p.a, etil asetat p.a, plat silika gel F₂₅₄.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

3.3.1.1 Penanaman Sawi Hijau

Tanaman sawi hijau ditanam dalam media tanam polibag hingga masa panen 30-35 HST (Hari Setelah Tanam) (Wahyudi, 2010). Tanaman disemprot dengan pestisida diazinon 600 EC produksi PT. Petrokimia Kayaku Gresik sebanyak 1 mL dalam 1 liter air untuk 15 polibag. Sawi hijau tanpa penyemprotan pestisida digunakan sebagai pembanding, ditempatkan jauh dari jangkauan pestisida. Penyemprotan dilakukan dua kali sampai waktu pemanenan. Penyemprotan terakhir pestisida dilakukan pada hari ke-28 setelah tanam (HST). Pemanenan dilakukan pada 29 HST, 31 HST, 33 HST dan 35 HST sebagai S₁, S₂, S₃, dan S₄.

3.3.1.2 Preparasi Sampel

Sawi hijau dipanen dan dipotong bagian pangkal batangnya. Sawi hijau dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan mortar, ditimbang 10 gram dan ditambahkan 20 mL heksana sedikit demi sedikit dan ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat sebanyak 4,5 gram. Campuran dimasukkan ke dalam *shaker bath* dengan kecepatan 150 rpm selama 360 menit (6 jam) dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan didestilasi vakum sampai semua pelarutnya menguap sehingga didapatkan diazinon yang tertempel pada dinding labu alas bulat yang kemudian dibilas dengan 5 mL n-heksana. Ekstrak dimasukkan ke dalam botol kecil berlabel dan disimpan dalam lemari pendingin untuk selanjutnya dianalisis (Soliman dan Shalby, 2011).

3.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Diazinon Menggunakan Spektrofotometer UV

Larutan standar diazinon dengan konsentrasi 5 ppm disiapkan dengan mengambil sebanyak 5 mL larutan standar 10 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana hingga tanda batas. Penentuan

panjang gelombang dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 230-300 nm dengan interval 1 nm (Zhang dan Pehkonen, 1999).

3.3.3 Aktivasi Plat KLT Silika Gel F₂₅₄

Plat KLT Silika Gel F₂₅₄ yang sudah dipotong sesuai dengan ukuran yang dibutuhkan (9x10 cm) dielusi menggunakan eluen yang akan digunakan, dan telah dijenuhkan dengan eluen dalam bejana sampai terelusi sepenuhnya. Plat diangkat dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100° C selama 10 menit.

3.3.4 Pemisahan dengan teknik KLT untuk standar diazinon

Larutan standar diazinon 5 ppm ditotolkan sejumlah 40 µL (1 µL untuk sekali totolan) menggunakan pipet mikro pada plat dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari samping kiri plat KLT serta jarak antar totolan 1 cm. Totolan pada plat dikeringkan menggunakan *hair dryer*. Plat dielusi dalam bejana berukuran 10 x 5 x 10 cm³ menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 dengan 3 kali ulangan. Elusi dilakukan hingga mencapai 9,5 cm dari batas bawah plat. Plat diangin-anginkan dan noda (*spot*) disinari dengan lampu UV dan dianalisis menggunakan densitometer. Hasil pemisahan ditunjukkan oleh densitogram dengan beberapa *spot* yang terpisah yang menandakan kemurnian dari suatu senyawa. Harga R_f yang diterima antara 0,2 – 0,8 (Gandjar dan Rohman, 2007).

3.3.5 Parameter Validasi

3.3.5.1 Linieritas

Larutan standar diazinon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm disiapkan. Larutan tersebut ditotolkan masing-masing sebanyak 40 µL (1 µL untuk sekali totolan) pada plat KLT F₂₅₄ berukuran 10x10 cm yang telah diaktivasi. Plat dielusi menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 dan dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang maksimum diazinon. Data yang diperoleh merupakan plot luas area (AU) dengan massa larutan standar diazinon (ng) sehingga didapat persamaan $y = bx + a$.

3.3.5.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Persamaan linier y didapat pada prosedur 3.3.5.1 (kurva kalibrasi) selanjutnya digunakan untuk menghitung limit deteksi dan limit kuantitasi dengan perhitungan berikut :

$$\text{Batas deteksi} = 3,3 \times \frac{SD}{b}$$

$$\text{Batas kuantitasi} = 10 \times \frac{SD}{b}$$

keterangan :

$\frac{SD}{b}$ = standar deviasi residual dari regresi linier

b = kemiringan (*slope*) dari regresi linier

(Ermer dan Miller, 2005).

3.3.5.3 Uji perolehan kembali (*recovery*)

Larutan standar diazinon disiapkan dengan konsentrasi 4; 5; dan 6 ppm dan ditambahkan sebanyak 2 mL ke dalam 2 mL ekstrak sampel 35 HST (S_4) dalam 3 buah *beaker glass*. Campuran antara sampel dan larutan standar diazinon tersebut ditotolkan sebanyak 40 μ L pada plat KLT yang telah diaktivasi. Selanjutnya diuji menggunakan densitometer dengan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 pada panjang gelombang maksimum diazinon, sehingga diperoleh massa total sampel dari pengukuran (m_f). Pengukuran menggunakan KLT-densitometri juga dilakukan pada 3 ekstrak sampel tanpa penambahan larutan standar sehingga dihasilkan massa sampel sebenarnya (m_a), sedangkan m_a^* (massa larutan standar yang ditambahkan) dapat dihitung dari perkalian volume standar dengan konsentrasi standar yang ditambahkan. Uji perolehan kembali dihitung dengan rumus seperti berikut :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{m_f - m_a}{m_a^*} \times 100 \%$$

keterangan :

m_f = massa total diazinon dalam larutan (massa sampel yang didapatkan + massa standar diazinon yang ditambahkan)

m_a = massa diazinon dalam sampel

m_a^* = massa standar diazinon yang ditambahkan

(Ermer dan Miller, 2005).

3.3.5.4 Ketepatan (presisi)

Larutan standar diazinon dengan konsentrasi 4 ppm diuji menggunakan KLT-Densitometri dengan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 pada panjang gelombang maksimum diazinon. Analisis dilakukan beberapa kali ulangan. Ketepatan (presisi) diukur sebagai simpangan baku (SD) atau standar deviasi dan Simpangan Baku Relatif (SBR) dengan rumus berikut :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{4-1}}$$

$$\% \text{ SBR} = \frac{SD}{x} \times 100 \%$$

$$\text{Presisi} = 100\% - \% \text{ SBR}$$

keterangan : $x = x_1, x_2, \dots, x_n$ hasil pengujian

\bar{x} = nilai rata-rata

n = jumlah pengukuran (Ermer dan Miller, 2005).

3.3.6 Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Sawi Hijau

Penotolan dilakukan pada plat KLT F₂₅₄ dengan jarak 1 cm dari bawah dan 1 cm dari kiri serta jarak penotolan 1 cm. S₁, S₂, S₃, dan S₄ (sampel hari ke-29 HST, 31 HST, 33 HST dan 35 HST) masing-masing ditotolkan sebanyak 40 µL pada plat KLT silika gel F₂₅₄. Totolan dikeringkan menggunakan *hairdryer*. Plat dielusi menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 dalam bejana berukuran 10x10x5 cm³. Elusi plat dilakukan hingga eluen

mencapai jarak 9,5 cm dari batas bawah plat. Plat diangin-anginkan dan diuji menggunakan densitometri pada panjang gelombang maksimum diazinon. Analisis dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk setiap sampel.



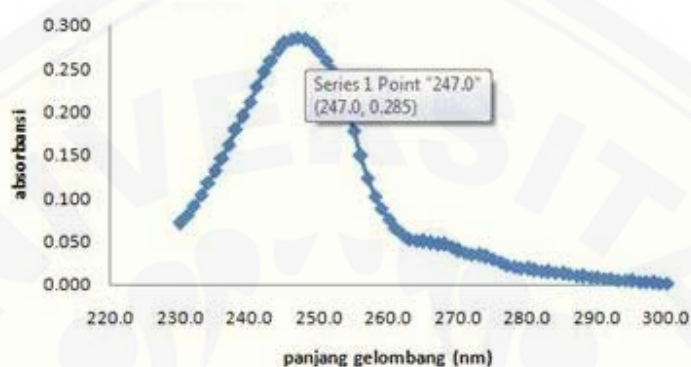
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan, analisis kualitatif, dan kuantitatif residu pestisida diazinon pada sawi hijau. Diazinon merupakan bahan aktif insektisida dari golongan organofosfat yang efektif membunuh hama pada tanaman. Penelitian ini dilakukan dengan mengekstrak diazinon pada sawi hijau dan pemisahan menggunakan metode KLT serta dianalisis menggunakan densitometer. Jenis eluen yang digunakan adalah campuran heksana-etil asetat. Validasi metode dilakukan dengan pengujian parameter linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi (LOD dan LOQ), % perolehan kembali (*recovery*), serta ketepatan (presisi).

4.1 Panjang Gelombang Maksimum Diazinon

Penentuan panjang gelombang maksimum diazinon dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada daerah panjang gelombang UV yaitu 230-300 (daerah panjang gelombang UV). Menurut Zhang dan Pehkonen (1999), panjang gelombang senyawa diazinon yaitu 247-248 nm. Hasil *scanning* (Lampiran B) menunjukkan panjang gelombang maksimum diazinon yaitu 247 nm. Senyawa diazinon memiliki cincin aromatik yang terkonjugasi dengan ikatan rangkap C=C-C=N yang memiliki serapan pada panjang gelombang 220 nm (Sastrohamidjojo, 1991), dua substituen alkil (metil) sebagai kromofor terikat pada cincin aromatik dengan posisi orto memiliki serapan pada panjang gelombang 6 nm, dan gugus O alkil (-O-P-(S)(C₂H₅O)₂) yang terikat pada cincin aromatik pada posisi para memiliki serapan panjang gelombang 25 nm, sehingga panjang gelombang yang didapat dari perhitungan tersebut yakni 251 nm. Data panjang gelombang maksimum tersebut berfungsi sebagai panduan untuk identifikasi gugus-gugus fungsional dalam suatu molekul, karena panjang gelombang maksimum dipengaruhi oleh pelarut dan struktur

molekul kimia yang mengandung kromofor. Dalam hal ini, n-heksana yang bersifat non-polar sebagai pelarut diazinon memberikan pengaruh terhadap transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yakni pergeseran pada panjang gelombang yang lebih pendek. Grafik hasil *scanning* panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Grafik penentuan panjang gelombang maksimum diazinon

4.2 Pemisahan diazinon menggunakan teknik KLT

Larutan standar diazinon ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ yang telah diaktivasi. Aktivasi plat berguna untuk menghilangkan kelembaban berlebihan pada plat KLT yang dapat mengganggu proses elusi. Plat dielusi menggunakan eluen campuran heksana-etilasetat 18:1 dalam sebuah bejana yang telah dijenuhkan sebelumnya sehingga terisi uap jenuh dari eluen. Pemisahan dengan teknik KLT terjadi karena adanya perbedaan kecepatan migrasi analit terhadap 2 fase yakni fase diam dan fase gerak (eluen). Polaritas eluen akan meningkatkan kecepatan migrasi analit yang berarti juga akan menentukan nilai R_f. Penambahan eluen yang bersifat agak polar seperti etilasetat ke dalam eluen non-polar seperti heksana akan meningkatkan harga R_f secara signifikan karena analit berinteraksi lebih kuat dengan fase diam silika gel.

Hal terpenting pada pemisahan dengan KLT adalah kemampuan 2 fase (fase diam dan eluen) untuk memisahkan komponen dalam campuran. Pemisahan yang baik akan menghasilkan beberapa puncak noda (spot) terpisah satu sama lain. Noda yang terbentuk merupakan analit-analit yang mampu menyerap sinar lampu UV atau lampu sinar tampak yang direfleksikan (dipantulkan) dari permukaan lempeng saat

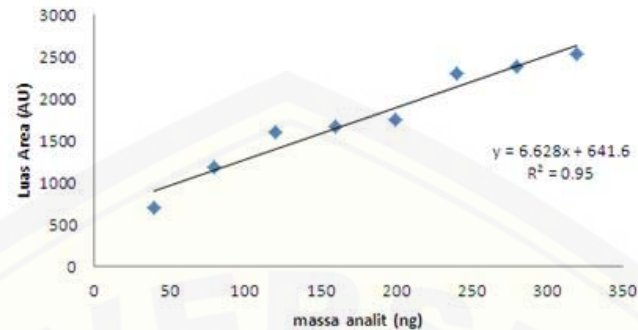
pemindaian dengan densitometer. Hasil pemindaian densitometer untuk standar diazinon (Lampiran C) memperlihatkan beberapa puncak area terbentuk pada densitogram. Densitogram standar diazinon memiliki luas area puncak terbesar dibandingkan puncak luas area komponen lain yang terdeteksi pada densitometer. Harga Rf rata-rata standar diazinon yang diperoleh dari adalah 0,267 dengan luas area masing-masing 6367,4; 5992,7; dan 6331,7 AU. Pada hasil pemindaian dengan densitometer ini, diazinon dapat terpisah dengan baik. Berdasarkan hal tersebut, maka eluen campuran heksana-etil asetat 18:1 digunakan untuk analisis selanjutnya.

4.3 Validitas Penentuan Diazinon Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri

Validasi metode analisis merupakan sebuah proses pengujian karakter kinerja metode analisis melalui serangkaian uji laboratorium. Beberapa parameter validasi metode analisis yang diuji diantaranya linieritas, LOD dan LOQ (batas deteksi dan batas kuantitas), ketelitian (akurasi) yang dinyatakan sebagai % perolehan kembali, dan ketepatan (presisi).

4.3.1 Linieritas

Linieritas dapat dilihat dari koefisien korelasi kurva kalibrasi yang menghubungkan antara massa analit (sumbu x) dengan luas area (sumbu y). Linieritas dalam penelitian ini menggunakan range massa larutan standar antara 40-320 ng. Linieritas menggambarkan kemampuan metode analisis yang digunakan memberikan respon proposional terhadap massa analit dalam sampel. Pemindaian dengan densitometer menghasilkan data luas area dan massa analit. Data yang didapat kemudian diplotkan ke dalam kurva kalibrasi hubungan antara massa diazinon dengan luas area (AU). Kurva kalibrasi tersaji pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Kurva penentuan daerah linier

Kurva pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa, semakin tinggi massa diazinon maka semakin tinggi pula luas areanya. Persamaan garis dari kurva Gambar 4.2 adalah $y = 6,628x + 641,6$ dengan nilai R^2 sebesar 0,95 (data pemindaian densitometer terlihat pada Lampiran D.1), sehingga nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0,974. Nilai ini masih dalam batas yang diizinkan mengingat pemisahan KLT dilakukan secara manual tanpa instrumen.

4.3.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Penentuan LOD (batas deteksi) dan LOQ (batas kuantitasi) bertujuan untuk mengetahui sensitifitas metode yang digunakan. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi menggunakan analisis data persamaan kurva kalibrasi hasil uji linieritas. Metode yang digunakan adalah metode penggunaan simpangan baku dari respon berdasarkan kemiringan kurva kalibrasi. Batas deteksi dan batas kuantitasi disajikan pada Tabel 4.1 (perhitungan terlampir pada Lampiran D.2).

Tabel 4.1 Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi

Parameter	Dalam ng	Dalam ppm
Batas deteksi	88,44	2,21
Batas kuantitasi	268,03	6,70

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa batas terkecil konsentrasi diazinon yang dapat dideteksi (LOD) menggunakan metode KLT-Densitometri adalah 2,21 ppm,

sedangkan konsentrasi diazinon terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan ketelitian (akurasi) dan ketepatan (presisi) yang dapat diterima pada kondisi yang digunakan adalah 6,70 ppm. Penentuan nilai batas deteksi dan kuantitasi ini relevan (berkaitan) dengan densitogram yang dihasilkan dari pemindaian dengan densitometer. Terdapat beberapa gangguan (*noise*) yang ditunjukkan oleh puncak area yang bukan merupakan analit diazinon sehingga adanya gangguan tersebut akan mempengaruhi nilai batas deteksi dan kuantitasi.

4.3.3 Persen perolehan kembali (*recovery*)

Pengukuran keakuratan atau kedekatan antara hasil analisis dengan hasil sebenarnya dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*), yang dilakukan dengan metode penambahan standar. Konsentrasi standar diazinon yang ditambahkan ke dalam S_4 (sampel 35 HST) yaitu 4, 5, dan 6 ppm. Densitogram menghasilkan beberapa puncak area dan nilai R_f yang beragam. Puncak area dengan nilai R_f sama dengan R_f standar (Lampiran C) ditentukan sebagai area diazinon. Tabel 4.2 merupakan perhitungan % perolehan kembali (perhitungan terlampir pada Lampiran D.3).

Tabel 4.2 Data hasil perhitungan % perolehan kembali

massa standar diazinon (m_a^*)	massa diazinon dalam S_4 (m_a)	$m_{\text{standar}} + m_{\text{diazinon}}$ dalam S_4 (m_f)	% <i>recovery</i>
8×10^3 ng	$6,38 \times 10^3$ ng	$1,44 \times 10^4$ ng	100,25 %
1×10^4 ng	$1,12 \times 10^4$ ng	$1,24 \times 10^4$ ng	120,00 %
$1,2 \times 10^4$ ng	$6,4 \times 10^3$ ng	$1,7 \times 10^4$ ng	88,33 %

Nilai % perolehan kembali diazinon yang dihasilkan yakni 100,25 %, 120 %, dan 88,33 %. Nilai % perolehan kembali untuk penambahan sampel dengan larutan standar 6 ppm lebih kecil daripada penambahan larutan standar 4 dan 5 ppm. Hal ini masih dalam batas yang diizinkan. Semakin kompleks suatu metode analisis yang digunakan, maka % perolehan kembali yang diperbolehkan semakin rendah (range rata-rata antara 80-120%) (Ermer dan Miller, 2005). Oleh karena itu, penilaian

parameter *recovery* metode KLT-densitometri untuk analisis residu diazinon dalam sawi hijau dinyatakan akurat.

4.3.4 Ketepatan (presisi)

Ketepatan (presisi) merupakan ukuran kesesuaian antara masing-masing hasil uji secara berulang yang ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku dan simpangan baku relatif (SBR). Presisi pada penelitian ini dilakukan beberapa kali ulangan saat pengukuran. Larutan standar diazinon yang digunakan adalah 4 ppm. Data area hasil pengukuran dengan densitometer digunakan untuk menghitung simpangan baku dan simpangan baku relatif (terlihat pada Lampiran D.4). Nilai SBR yang didapat yakni 13% sehingga presisinya sebesar 87%. Parameter uji ketepatan ini perlu untuk dikembangkan lagi untuk memperoleh nilai presisi ideal.

4.4 Kadar Residu Diazinon dalam Sawi Hijau

Analisis kadar residu diazinon dalam sawi hijau dilakukan dengan metode KLT-densitometer. Analisis kadar diazinon dalam sampel menghasilkan densitogram yang memiliki luas area dan harga Rf berbeda-beda setiap sampel (terlihat pada Lampiran E). Tabel 4.3 menyajikan nilai Rf sampel hasil pengukuran dengan densitometer.

Tabel 4.3 Data pemindaian densitometer kadar residu diazinon

Sampel	Ulangan	Start Position	Max Position	End position
S ₁ (29 HST)	I	0,21 Rf	0,26 Rf	0,29 Rf
	II	0,21 Rf	0,26 Rf	0,30 Rf
	III	0,25 Rf	0,27 Rf	0,30 Rf
S ₂ (31 HST)	I	0,23 Rf	0,26 Rf	0,29 Rf
	II	0,22 Rf	0,26 Rf	0,30 Rf
	III	0,25 Rf	0,28 Rf	0,30 Rf
S ₃ (33 HST)	I	0,25 Rf	0,28 Rf	0,31 Rf
	II	0,25 Rf	0,28 Rf	0,31 Rf
	III	0,26 Rf	0,27 Rf	0,29 Rf
S ₄ (35 HST)	I	0,23 Rf	0,26 Rf	0,29 Rf
	II	0,23 Rf	0,26 Rf	0,30 Rf
	III	0,25 Rf	0,28 Rf	0,30 Rf

Nilai Rf pada Tabel 4.3 menghasilkan puncak area yang beragam (Lampiran E). Puncak area pada densitogram yang dihasilkan dari pemisahan dengan KLT menunjukkan bahwa pemisahan analit (diazinon) terjadi dengan baik. Pada densitogram terdapat puncak dengan luas area terbesar, namun puncak tersebut bukan merupakan puncak area diazinon karena nilai Rf yang dimiliki tidak sama dengan Rf standar diazinon. Oleh karena itu, puncak area yang memiliki nilai Rf sama dengan Rf standar diazinon (Lampiran C) dihitung sebagai kadar diazinon dalam sampel.

Rata-rata kadar residu diazinon dalam S₁, S₂, S₃, dan S₄ masing-masing sebesar 0,305 mg/kg, 0,256 mg/kg, 0,0190 mg/kg dan 0,017 mg/kg. Rata-rata kadar diazinon dalam sampel didapat dari jumlah total kadar dibagi dengan 3 (hasil pengulangan 3 kali masing-masing sampel). Tabel 4.4 merupakan data hasil perhitungan kadar residu diazinon dalam sawi hijau.

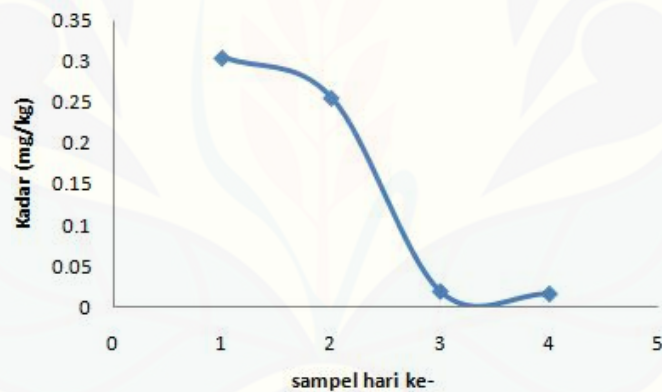
Tabel 4.4 Data kadar residu diazinon dalam sawi hijau

Sampel	Ulangan	m _{diazinon} yang didapatkan (mg)	Kadar (mg/kg)	Rata-rata kadar diazinon (mg/kg)
S ₁	I	3,91x10 ⁻³	0,391	0,305
	II	3,97x10 ⁻³	0,397	
	III	1,28x10 ⁻³	0,128	
S ₂	I	2,59x10 ⁻³	0,259	0,256
	II	3,81x10 ⁻³	0,318	
	III	1,28x10 ⁻³	0,128	
S ₃	I	2,54x10 ⁻⁴	2,54x10 ⁻²	0,0190
	II	2,60x10 ⁻⁴	2,60x10 ⁻²	
	III	5,84x10 ⁻⁵	5,84x10 ⁻³	
S ₄	I	1,27x10 ⁻⁴	1,27x10 ⁻²	0,0170
	II	2,52x10 ⁻⁴	2,52x10 ⁻²	
	III	1,28x10 ⁻⁴	1,28x10 ⁻²	

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa kadar residu diazinon terbesar dimiliki oleh S₁ yakni sampel yang dipanen 1 hari setelah penyemprotan terakhir. Hal ini menunjukkan bahwa semakin dekat jarak waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen, maka residu diazinon yang tertinggal lebih banyak dibandingkan dengan sampel 2, 3, dan 4. Kadar S₃ dan S₄ relatif konstan dari kadar lainnya karena pada sampel 3 dan 4 residu diazinon mendekati habis karena telah

terurai dalam tanah maupun udara. Pada Tabel 4.4 kadar diazinon pada S_1 hingga S_4 mengalami penurunan (berkurang) secara berturut-turut. Kadar residu diazinon hasil penelitian dalam sawi hijau di semua variasi waktu pemanenan, berada di bawah Batas Minimum Residu (BMR) berdasarkan SNI tahun 2008 untuk jenis sayuran yang seharusnya hanya 0,5 mg/kg.

Penurunan kadar diazinon secara terus-menerus disebabkan oleh degradasi diazinon menjadi senyawa lain dan turunannya yang tidak dapat terdeteksi karena berada pada panjang gelombang yang berbeda dengan diazinon. Adapun faktor yang menyebabkan jumlah diazinon dalam tanaman berkurang, yakni adanya air yang dapat menghidrolisis diazinon, cahaya matahari, temperatur dan mikroorganisme. Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar diazinon dalam sampel hari ke-1 hingga sampel hari ke-4 terlihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu diazinon.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Pengaruh jarak penyemprotan pestisida terakhir hingga waktu panen menunjukkan hasil kadar residu diazinon dalam sawi hijau (S_1 , S_2 , S_3 , dan S_4) semakin berkurang. Kadar residu diazinon dalam S_1 , S_2 , S_3 , dan S_4 adalah 0,305; 0,256; 0,0190; dan 0,0170 mg/kg.
2. Validitas penentuan diazinon menggunakan metode KLT-Densitometri menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,974, nilai batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) masing-masing yakni 2,21 ppm dan 6,70 ppm, nilai % perolehan kembali sebesar 100,25 %, 120 % dan 88,3 %,serta presisi dengan nilai 87 %.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini diantaranya :

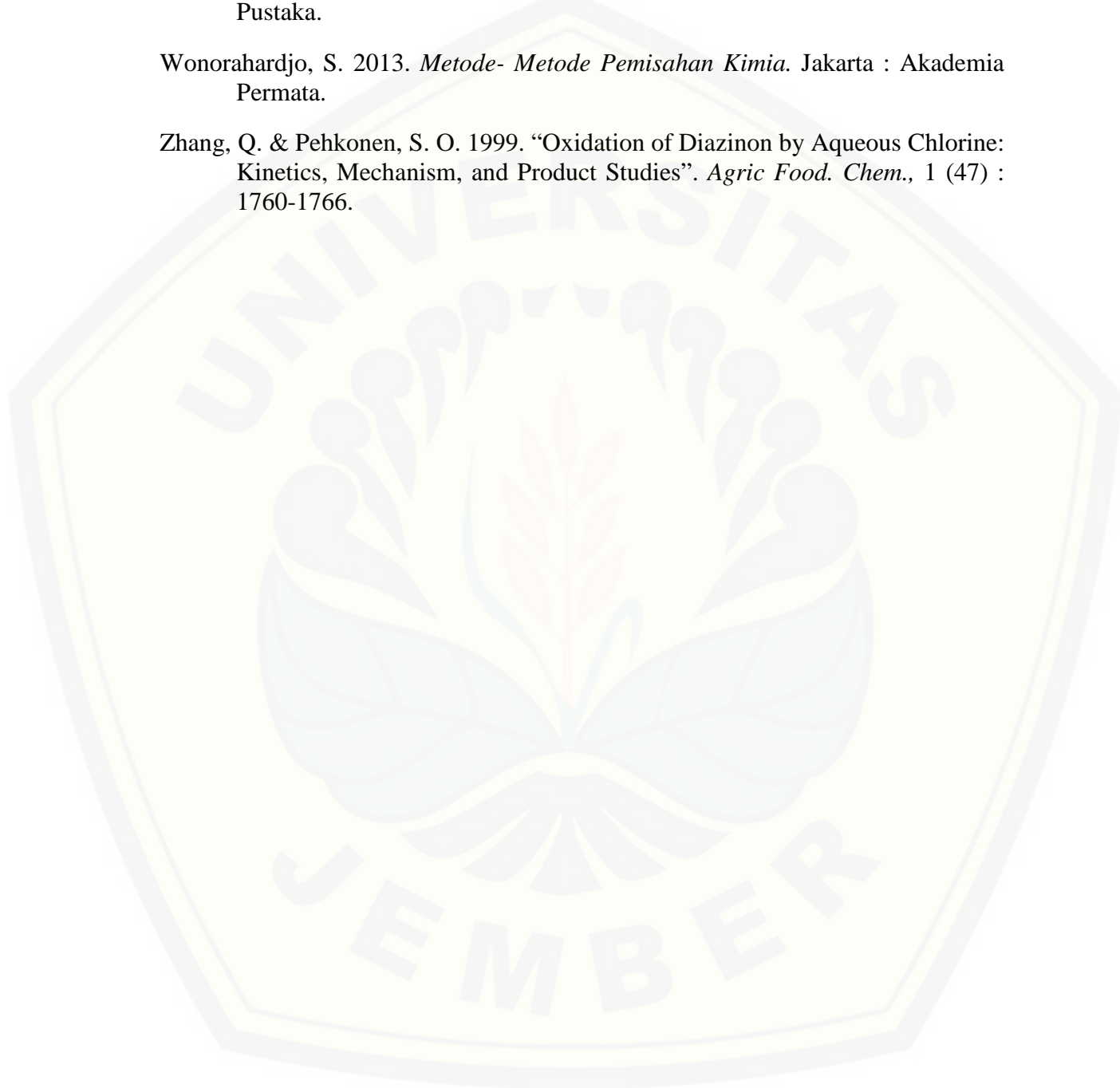
1. Metode KLT-Densitomteri perlu dikembangkan lagi baik untuk analisis residu diazinon dalam tanaman maupun analisis residu pestisida lainnya.
2. Berbagai metode analisis maupun pemisahan dapat dikembangkan lagi selain menggunakan teknik KLT-Densitometri.
3. Penotolan larutan pada plat KLT lebih efektif dan efisien bila dilakukan secara otomatis (instrumen) bukan manual.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S. 2003. *Chromatography and Separation Science*. United State of America. San Diego, California : Academic Press.
- Afriyanto. 2008. “Kajian Keracunan Pestisida pada Petani Penyemprot Cabe di Desa Candi, Kecamatan Bandungan, Kabupaten Semarang”. Tidak Diterbitkan. Tesis. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Azis, T. 2012. “Desain dan Karakterisasi Biosensor Berbasis Immobilisasi Enzim untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon”. *Paradigma*. Vol.16 (1): 57-66.
- CAMAG. 2006. *Camag Bibliography Service (CBS) Planar Chromatography*. CAMAG Switzerland. CAMAG Scientific Inc. (USA).
- Djojosumarto, P. 2010. *Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian*. Yogyakarta : Kanisius.
- Edi, S. 2010. *Budidaya Tanaman Sayuran*. Jambi : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP).
- Ermer, J. & Miller, J. H. McB. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice*. The Federal Republic of Germany.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J., Bobbitt, J. M., & Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Haryanto, E. T., Suhartini, dan Rahayu, E. 2001. *Sawi dan Selada*. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal 5-26.
- Hayes, W. J. & Laws, E. R. 1991. *Handbook of Pesticide Toxicology*. San Diego: Academic Press, Inc.
- Jumbriah. 2006. “Bioremediasi Tanah Tercemar Diazinon Secara *Ex Situ* dengan Menggunakan Kompos Limbah Media Jamur (*Spent Mushroom Compost*)”. Tesis. Bogor : Jurusan Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Kabir, Rahman, Ahmed, Prodhan, dan Akon. 2008. “Determination of Residue of Diazinon and Carbosulfan in Brinjal and Quinaphos in Yard Long Bean Under Supervised Field Trial”. *Bangladesh J. Agril. Res.* 33(3) : 503-513.

- Kantasubrata, J. 1991. *Warta Kimia Analitik*. Puslitbang Kimia Terapan LIPI, 9 : 4-7.
- Kementerian Pertanian. 2011. *Pedoman Pembinaan Penggunaan Pestisida*. Jakarta : Direktorat Jenderal Sarana dan Prasarana Pertanian Pupuk dan Pestisida.
- Meloan, C. E. 1999. *Chemical Separations, Principles, Techniques, and Experiments*. Manhattan, Kansas State University. A Wiley-Interscience Publication. John-Wiley and Sons, Inc.
- Mulja dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Ningsih, D. 2001. "Bioremediasi Diazinon Secara Ex Situ menggunakan Mikroba Indigenous Isolat B3 Jurusan Kimia FMIPA". Skripsi. Bogor : Jurusan Kimia FMIPA IPB.
- Prasetyo, S. S. dan Prima, A. K. 2010. "Kurva Kesetimbangan Minyak Biji Teh – Normal Heksana dan Aplikasinya pada Ekstraksi Padat – Cair Multitahap". Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. *Laporan Penelitian*. Bandung : Universitas Katolik Parahyangan.
- Rista, M. E. 2014. "Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk Analisis Residu Insektisida Diazinon dalam Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum Mill.*)". Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Rohman, A. 2009. *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Saputra, Wijaya, Ahmad, dan Tahir. 1992. "Optimasi Rasio Diazinon/Asam Metakrilat secara Teoritik Berdasarkan Metode Semiempirik AM1 untuk Sintesis Polimer Tercetak Molekul". *Sains dan Terapan Kimia*. Vol. 7 (2) : 89-102.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Soliman, M. M. M. & Shalby, E.M. 2011. "Effectiveness of Different Pesticide on Bollworm Insect, *Helicoverpa Armigera* (Hubner) and Determining the Residue of Some Pesticide in Fresh and Processed Okra Fruits". Plant Protection Department, National Research Centre, Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*. Vol. 7(4) : 526-5344.
- Tarumingkeng, R. C. 1992. *Insektisida. Sifat, Mekanisme Kerja, dan Dampak Penggunaannya*. Jakarta: Universitas Kristen Krida Kencana.
- Triharso. 1994. *Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman*. Yogyakarta : UGM. Gajah Mada University Press.

- Tuhumury, Leatemia, Rumthe, dan Hasinu. 2012. "Residu Pestisida Produk Sayuran Segar di Kota Ambon". Ambon. *Jurnal Ilmu Budaya Tanaman. Agrologia*. Vol. 1 (2) : 99-105.
- Wahyudi. 2010. *Petunjuk Praktis Bertanam Sayuran*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Wonorahardjo, S. 2013. *Metode- Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta : Akademia Permata.
- Zhang, Q. & Pehkonen, S. O. 1999. "Oxidation of Diazinon by Aqueous Chlorine: Kinetics, Mechanism, and Product Studies". *Agric Food. Chem.*, 1 (47) : 1760-1766.



LAMPIRAN

LAMPIRAN A. PEMBUATAN LARUTAN STANDAR DIAZINON

A.1 Larutan Standar Diazinon 6000 ppm

Larutan standar 600.000 ppm diambil sebanyak 0,1 mL menggunakan pipet mohr 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.2 Larutan Standar Diazinon 60 ppm

Larutan standar 6000 ppm diambil sebanyak 0,1 mL menggunakan pipet mohr 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.3 Larutan Standar Diazinon 10 ppm

Larutan standar 60 ppm diambil sebanyak 1 mL dilanjutkan dengan pengambilan 0,67 mL menggunakan pipet mohr 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas. Larutan standar diazinon 10 ppm dibuat sebanyak 4 kali untuk pembuatan larutan standar diazinon dengan konsentrasi 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, dan 1 ppm.

A.4 Larutan Standar Diazinon 8 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 8 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.5 Larutan Standar Diazinon 7 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 7 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.6 Larutan Standar Diazinon 6 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 6 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.7 Larutan Standar Diazinon 5 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 5 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.8 Larutan Standar Diazinon 4 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 4 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.9 Larutan Standar Diazinon 3 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 3 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.10 Larutan Standar Diazinon 2 ppm

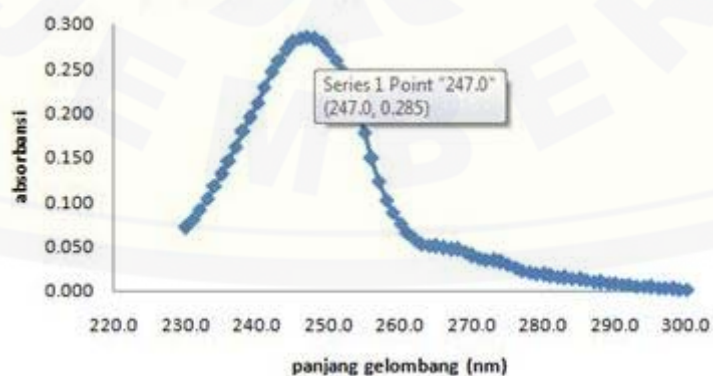
Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 2 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

A.11 Larutan Standar Diazinon 1 ppm

Larutan standar 10 ppm diambil sebanyak 1 mL menggunakan pipet mohr 10 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan n-heksana sampai tanda batas.

LAMPIRAN B. DATA PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM

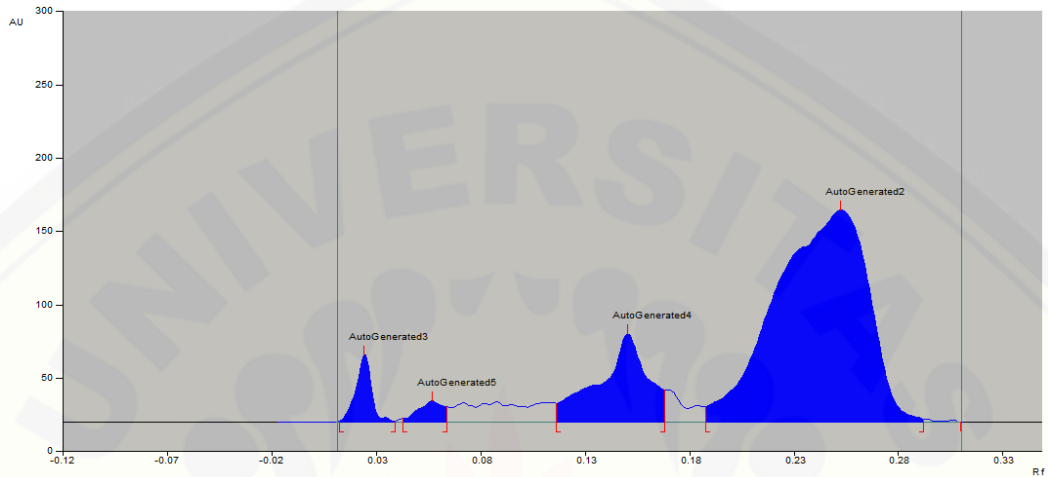
Panjang Gelombang	Absorbansi	Panjang Gelombang	Absorbansi	Panjang Gelombang	Absorbansi
300,0	0,002	276,0	0,026	252,0	0,247
299,0	0,002	275,0	0,030	251,0	0,259
298,0	0,003	274,0	0,033	250,0	0,269
297,0	0,003	273,0	0,034	249,0	0,278
296,0	0,004	272,0	0,035	248,0	0,283
295,0	0,004	271,0	0,037	*247,0	*0,285
294,0	0,005	270,0	0,039	246,0	0,284
293,0	0,005	269,0	0,043	245,0	0,279
292,0	0,006	268,0	0,046	244,0	0,270
291,0	0,007	267,0	0,047	243,0	0,259
290,0	0,008	266,0	0,048	242,0	0,246
289,0	0,009	265,0	0,050	241,0	0,229
288,0	0,010	264,0	0,051	240,0	0,211
287,0	0,011	263,0	0,053	239,0	0,195
286,0	0,012	262,0	0,058	238,0	0,179
285,0	0,013	261,0	0,065	237,0	0,162
284,0	0,014	260,0	0,075	236,0	0,146
283,0	0,015	259,0	0,088	235,0	0,131
282,0	0,016	258,0	0,102	234,0	0,118
281,0	0,017	257,0	0,123	233,0	0,104
280,0	0,018	256,0	0,149	232,0	0,092
279,0	0,019	255,0	0,177	231,0	0,081
278,0	0,021	254,0	0,206	230,0	0,071
277,0	0,023	253,0	0,230		



LAMPIRAN C. ANALISIS ELUEN PADA KLT MENGGUNAKAN DENSITOMETER

A. Eluen heksana-etilasetat dengan komposisi 18:1

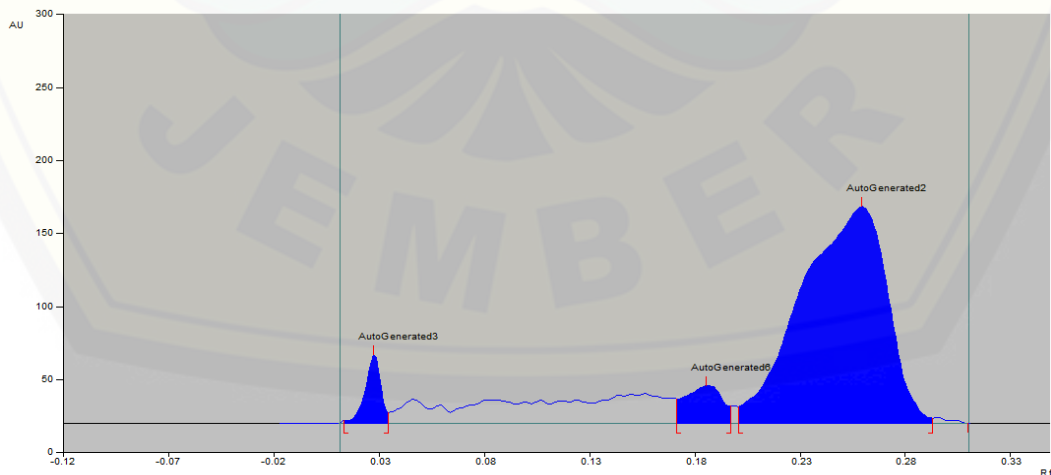
1. Densitogram Ulangan 1



➤ Data pemindaian dengan densitometer

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.02 Rf	0.7 AU	0.03 Rf	45.6 AU	17.19 %	0.04 Rf	0.6 AU	338.8 AU	4.11 %
2	0.05 Rf	2.5 AU	0.06 Rf	14.4 AU	5.44 %	0.07 Rf	10.4 AU	175.1 AU	2.12 %
3	0.12 Rf	12.9 AU	0.15 Rf	60.2 AU	22.72 %	0.17 Rf	21.7 AU	1356.1 AU	16.45 %
4	0.19 Rf	10.6 AU	0.26 Rf	144.9 AU	54.65 %	0.30 Rf	2.2 AU	6376.4 AU	77.32 %

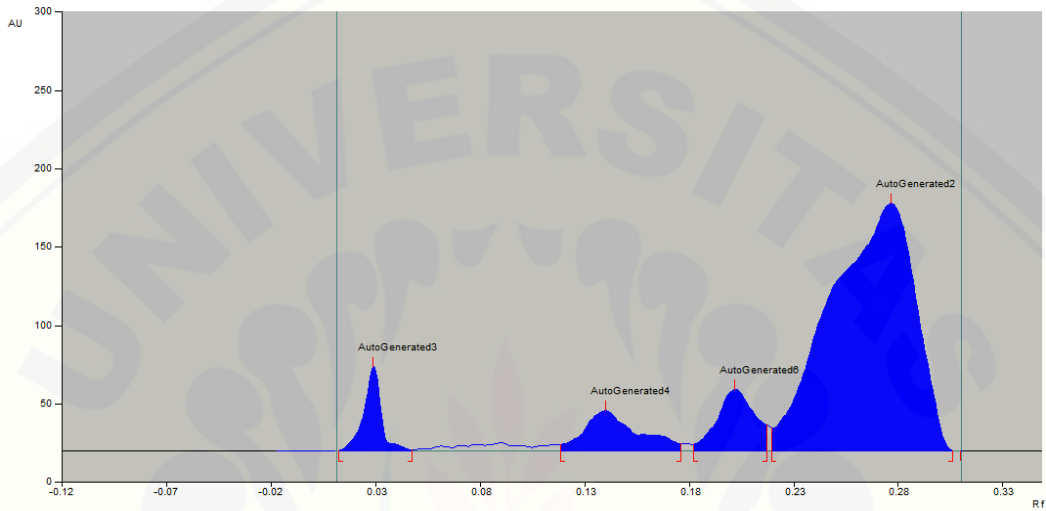
2. Densitogram Ulangan 2



➤ Data pemindaian dengan densitometer

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.02 Rf	1.9 AU	0.03 Rf	47.1 AU	21.27 %	0.04 Rf	7.6 AU	347.4 AU	5.11 %
2	0.18 Rf	16.5 AU	0.19 Rf	25.6 AU	11.57 %	0.20 Rf	11.8 AU	459.3 AU	6.75 %
3	0.20 Rf	11.3 AU	0.26 Rf	148.5 AU	67.16 %	0.30 Rf	3.4 AU	5992.7 AU	88.14 %

3. Densitogram Ulangan 3



➤ Data pemindaian dengan densitometer

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.02 Rf	0.2 AU	0.03 Rf	53.7 AU	19.42 %	0.05 Rf	0.5 AU	441.8 AU	5.44 %
2	0.12 Rf	4.3 AU	0.14 Rf	25.6 AU	9.25 %	0.18 Rf	4.7 AU	643.5 AU	7.93 %
3	0.19 Rf	3.9 AU	0.21 Rf	39.1 AU	14.16 %	0.22 Rf	16.7 AU	700.4 AU	8.63 %
4	0.22 Rf	14.5 AU	0.28 Rf	158.1 AU	57.17 %	0.31 Rf	0.2 AU	6331.7 AU	78.00 %

LAMPIRAN D. DATA VALIDASI METODE

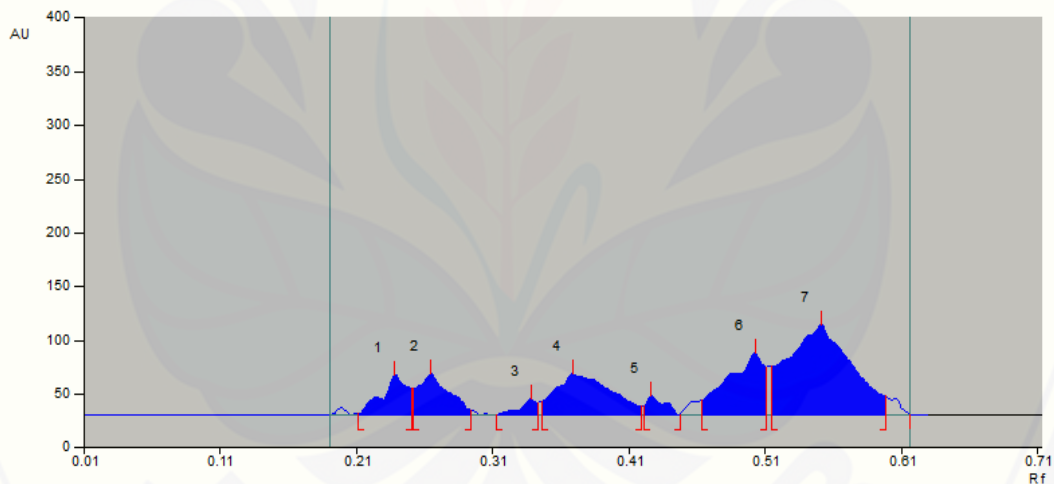
D.1 Linieritas

Tabel pemindaian dengan densitometer untuk penentuan daerah linier

Rf	Massa (ng)	Area (AU)
0,27	40	701,7
0,26	80	1181,3
0,26	120	1602,2
0,26	160	1664,9
0,26	200	1753,1
0,26	240	2293,9
0,26	280	2372,6
0,27	320	2531,6

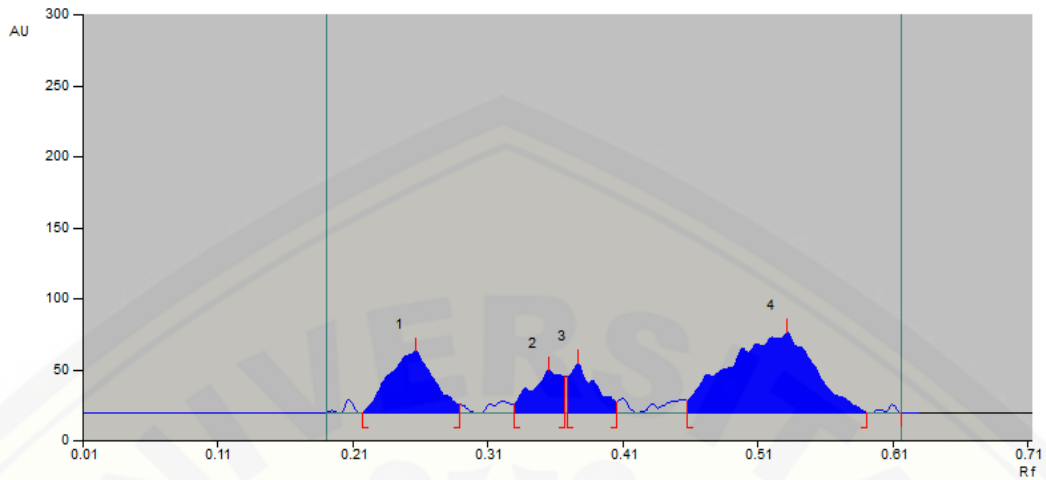
❖ Data dan densitogram pemindaian dengan densitometer

a. Track 1



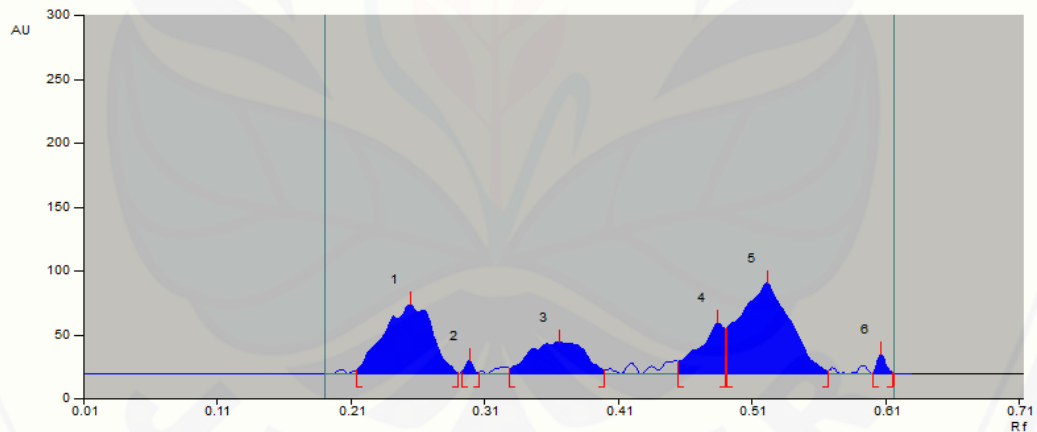
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.22 Rf	0.9 AU	0.24 Rf	37.4 AU	12.97 %	0.25 Rf	24.1 AU	565.7 AU	7.74 %
2	0.26 Rf	24.3 AU	0.27 Rf	38.0 AU	13.20 %	0.30 Rf	4.7 AU	701.7 AU	9.60 %
3	0.32 Rf	0.2 AU	0.34 Rf	14.8 AU	5.15 %	0.35 Rf	11.4 AU	146.8 AU	2.01 %
4	0.35 Rf	13.0 AU	0.37 Rf	38.2 AU	13.28 %	0.42 Rf	8.3 AU	1267.3 AU	17.34 %
5	0.43 Rf	8.7 AU	0.43 Rf	17.4 AU	6.03 %	0.45 Rf	0.7 AU	196.6 AU	2.69 %
6	0.47 Rf	13.6 AU	0.51 Rf	57.8 AU	20.08 %	0.52 Rf	44.6 AU	1259.3 AU	17.23 %
7	0.52 Rf	44.8 AU	0.56 Rf	84.4 AU	29.29 %	0.60 Rf	17.9 AU	3172.7 AU	43.40 %

b. Track 2



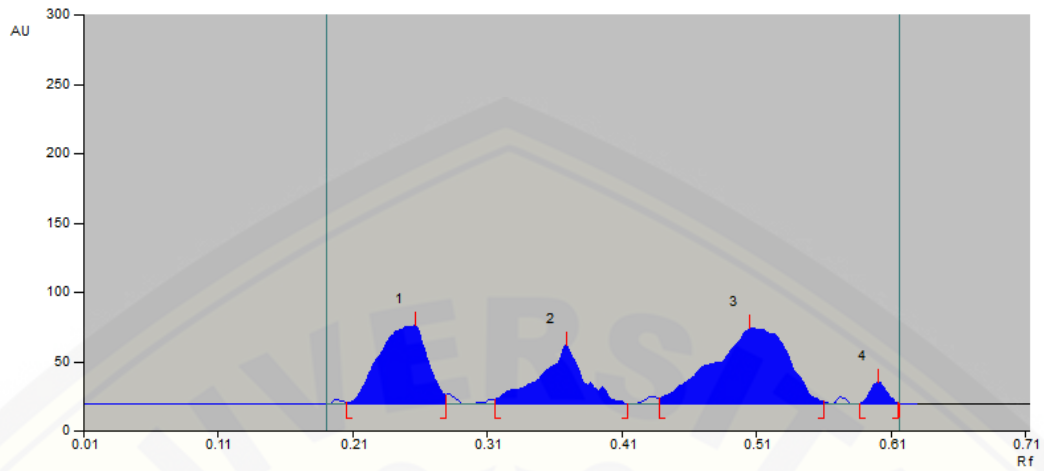
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.22 Rf	0.1 AU	0.26 Rf	43.8 AU	26.57 %	0.29 Rf	6.2 AU	1181.3 AU	22.55 %
2	0.33 Rf	6.3 AU	0.36 Rf	30.0 AU	18.24 %	0.37 Rf	25.7 AU	575.5 AU	10.99 %
3	0.37 Rf	25.8 AU	0.38 Rf	34.6 AU	20.99 %	0.41 Rf	7.5 AU	553.3 AU	10.56 %
4	0.46 Rf	8.7 AU	0.54 Rf	56.3 AU	34.20 %	0.60 Rf	0.2 AU	2928.4 AU	55.90 %

c. Track 3



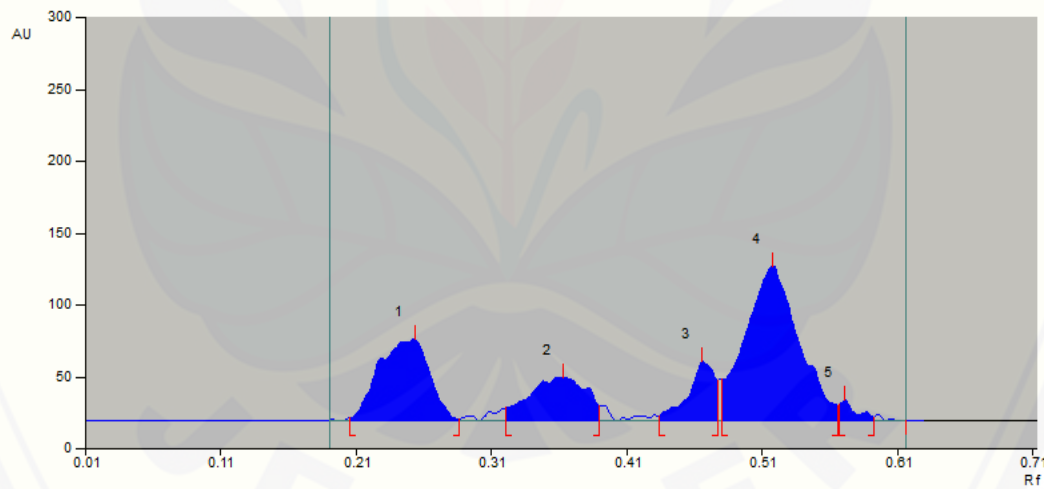
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.22 Rf	3.4 AU	0.26 Rf	54.3 AU	24.99 %	0.29 Rf	0.6 AU	1602.2 AU	29.83 %
2	0.30 Rf	0.9 AU	0.30 Rf	10.5 AU	4.83 %	0.31 Rf	0.9 AU	50.3 AU	0.94 %
3	0.33 Rf	4.1 AU	0.37 Rf	25.2 AU	11.62 %	0.40 Rf	3.3 AU	839.5 AU	15.63 %
4	0.46 Rf	9.6 AU	0.49 Rf	40.1 AU	18.47 %	0.49 Rf	35.5 AU	621.4 AU	11.57 %
5	0.50 Rf	36.2 AU	0.53 Rf	71.5 AU	32.92 %	0.57 Rf	2.3 AU	2177.9 AU	40.55 %
6	0.61 Rf	0.6 AU	0.61 Rf	15.6 AU	7.17 %	0.62 Rf	0.8 AU	79.8 AU	1.49 %

d. Track 4



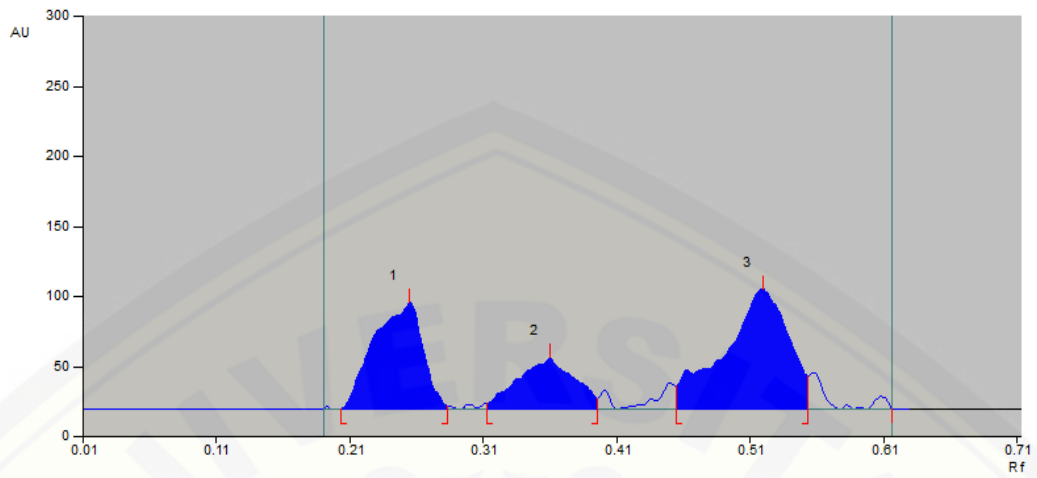
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	0.7 AU	0.26 Rf	56.3 AU	33.32 %	0.28 Rf	6.6 AU	1664.9 AU	30.57 %
2	0.32 Rf	3.4 AU	0.37 Rf	42.5 AU	25.11 %	0.42 Rf	0.3 AU	1115.4 AU	20.48 %
3	0.44 Rf	4.4 AU	0.51 Rf	54.6 AU	32.27 %	0.56 Rf	1.7 AU	2504.6 AU	45.98 %
4	0.59 Rf	0.1 AU	0.61 Rf	15.7 AU	9.30 %	0.62 Rf	0.8 AU	161.8 AU	2.97 %

e. Track 5



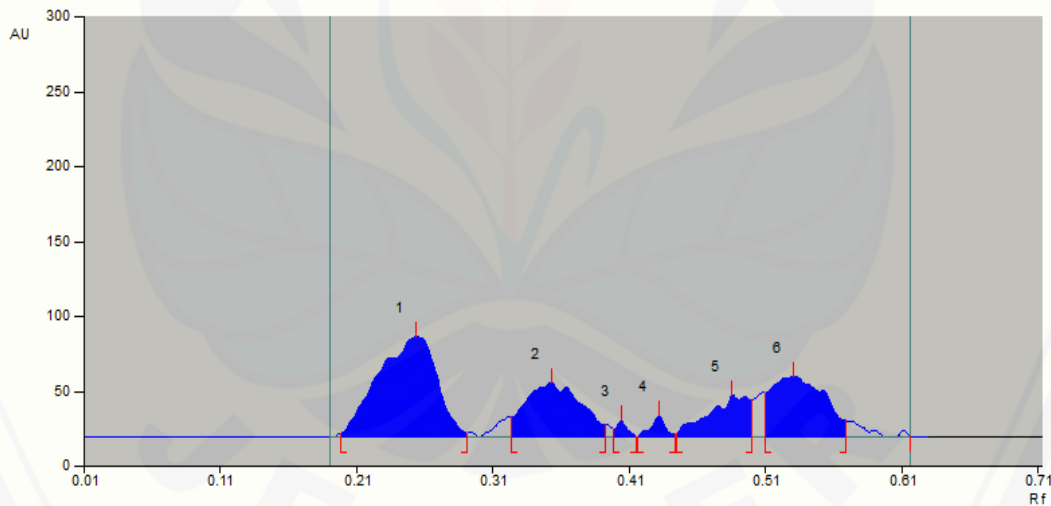
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	2.3 AU	0.26 Rf	57.1 AU	22.87 %	0.29 Rf	1.3 AU	1753.1 AU	24.69 %
2	0.33 Rf	9.0 AU	0.37 Rf	30.1 AU	12.06 %	0.39 Rf	9.8 AU	1050.8 AU	14.80 %
3	0.44 Rf	3.3 AU	0.47 Rf	40.7 AU	16.32 %	0.48 Rf	28.2 AU	659.7 AU	9.29 %
4	0.48 Rf	28.9 AU	0.52 Rf	107.7 AU	43.14 %	0.57 Rf	10.8 AU	3496.9 AU	49.25 %
5	0.57 Rf	11.3 AU	0.58 Rf	14.0 AU	5.61 %	0.60 Rf	2.3 AU	139.4 AU	1.96 %

f. Track 6



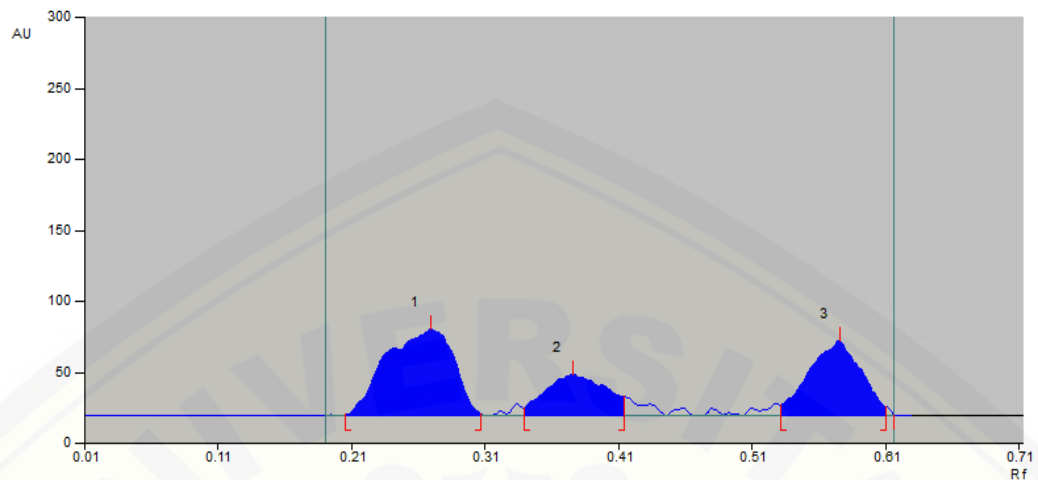
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	0.3 AU	0.26 Rf	75.8 AU	38.29 %	0.29 Rf	2.5 AU	2293.9 AU	33.03 %
2	0.32 Rf	3.7 AU	0.36 Rf	36.7 AU	18.51 %	0.40 Rf	7.5 AU	1268.3 AU	18.27 %
3	0.46 Rf	16.9 AU	0.52 Rf	85.5 AU	43.19 %	0.56 Rf	23.8 AU	3381.7 AU	48.70 %

g. Track 7



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.20 Rf	2.5 AU	0.26 Rf	66.7 AU	34.07 %	0.30 Rf	2.5 AU	2372.6 AU	41.14 %
2	0.33 Rf	13.1 AU	0.36 Rf	36.3 AU	18.52 %	0.40 Rf	8.3 AU	1210.8 AU	20.99 %
3	0.40 Rf	5.1 AU	0.41 Rf	10.9 AU	5.55 %	0.42 Rf	0.2 AU	74.4 AU	1.29 %
4	0.42 Rf	0.0 AU	0.44 Rf	14.2 AU	7.26 %	0.45 Rf	1.9 AU	120.1 AU	2.08 %
5	0.45 Rf	2.1 AU	0.49 Rf	27.7 AU	14.14 %	0.50 Rf	24.5 AU	671.7 AU	11.65 %
6	0.51 Rf	29.3 AU	0.54 Rf	40.1 AU	20.47 %	0.57 Rf	11.0 AU	1317.7 AU	22.85 %

h. Track 8



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	0.9 AU	0.27 Rf	61.0 AU	42.64 %	0.31 Rf	1.1 AU	2531.6 AU	47.93 %
2	0.34 Rf	5.3 AU	0.38 Rf	29.2 AU	20.42 %	0.42 Rf	13.2 AU	1071.5 AU	20.29 %
3	0.54 Rf	7.1 AU	0.58 Rf	52.8 AU	36.94 %	0.62 Rf	6.0 AU	1678.9 AU	31.78 %

D.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

No	Massa analit (ng)	Area (Yi)	Yi*	(Yi-Yi*) ²
1	40	701,7	906,72	42033,20
2	80	1181,3	1171,84	89,50
3	120	1602,2	1436,96	27304,20
4	160	1664,9	1702,08	1382,30
5	200	1753,1	1967,20	45838,80
6	240	2293,9	2232,32	3792,00
7	280	2372,6	2497,44	15585,00
8	320	2531,6	2762,56	53342,50
			Jumlah	189367,50

Keterangan :

Massa analit (ng) = konsentrasi analit ($\frac{ng}{\mu L}$) x volume penotolan (μL)

Yi = luas area dari persamaan kurva kalibrasi

Yi* didapatkan dari persamaan regresi, misalnya untuk konsentrasi analit (x) = 40

ng, maka : $y = 6,628x + 641,6 \rightarrow y = 6,628(40) + 641,6$

$$y = 906,72 \text{ AU}$$

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum(Y_i - Y_i^*)^2}{N-2}} \\ &= \sqrt{\frac{189367,5}{8-2}} = 177,65 \text{ AU} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{3,3 \text{ SD}}{b} \\ &= \frac{3,3 (177,65)}{6,628} = 88,44 \text{ ng} = 2,21 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10 \text{ SD}}{b} \\ &= \frac{10 (177,65)}{6,628} = 268,03 \text{ ng} = 6,07 \text{ ppm} \end{aligned}$$

D.3 Persen perolehan kembali (*recovery*)

Data % perolehan kembali dari pemindaian dengan densitometer

Sampel	Larutan standar diazinon	massa standar diazinon (m_a^*)	massa diazinon dalam S_4 (m_a)	$m_{\text{standar}} + m_{\text{diazinon}}$ dalam S_4 (m_f)	% <i>recovery</i>
S_4	4 ppm	8×10^3 ng	$6,38 \times 10^3$ ng	$1,44 \times 10^4$ ng	100,25 %
S_4	5 ppm	1×10^4 ng	$1,12 \times 10^4$ ng	$1,24 \times 10^4$ ng	120,00 %
S_4	6 ppm	$1,2 \times 10^4$ ng	$6,4 \times 10^3$ ng	$1,7 \times 10^4$ ng	88,33 %

A. Contoh perhitungan % perolehan kembali (*recovery*)

- Perhitungan massa standar diazinon 4 ppm yang ditambahkan (m_a^*)

Volume larutan standar yang ditambahkan = 2 mL

Massa diazinon = $4 \text{ ng}/\mu\text{L} \times 2000 \mu\text{L}$

$$= 8 \times 10^3 \text{ ng}$$

- Perhitungan massa diazinon yang didapatkan (m_a)

Volume S_4 (sampel 35 HST) yang ditambahkan = 2 mL

Data luas area hasil pemindaian dengan densitometer

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.23 Rf	12.4 AU	0.26 Rf	62.2 AU	11.44 %	0.29 Rf	0.5 AU	1488.8 AU	7.84 %
2	0.30 Rf	5.4 AU	0.33 Rf	19.9 AU	3.66 %	0.35 Rf	3.1 AU	401.6 AU	2.11 %
3	0.36 Rf	0.1 AU	0.38 Rf	11.4 AU	2.10 %	0.40 Rf	8.3 AU	189.2 AU	1.00 %
4	0.41 Rf	7.6 AU	0.43 Rf	20.4 AU	3.74 %	0.43 Rf	12.1 AU	205.4 AU	1.08 %
5	0.45 Rf	12.1 AU	0.46 Rf	51.3 AU	9.42 %	0.48 Rf	1.4 AU	477.3 AU	2.51 %
6	0.48 Rf	0.0 AU	0.49 Rf	25.3 AU	4.65 %	0.51 Rf	12.2 AU	350.2 AU	1.84 %
7	0.53 Rf	15.1 AU	0.55 Rf	24.1 AU	4.43 %	0.55 Rf	16.3 AU	424.2 AU	2.23 %
8	0.56 Rf	13.2 AU	0.57 Rf	20.7 AU	3.80 %	0.58 Rf	5.8 AU	212.6 AU	1.12 %
9	0.59 Rf	8.8 AU	0.69 Rf	308.8 AU	56.75 %	0.74 Rf	0.0 AU	15242.2 AU	80.26 %

Persamaan regresi $y = 6,628x + 641,6$; dimana luas area disubstitusikan ke dalam y, maka :

- Massa diazinon hasil pengukuran adalah

$$1488,8 = 6,628x + 641,6$$

$$x = 127,8 \text{ ng}$$

- Konsentrasi diazinon :

$$127,8 \text{ ng} / 40 \mu\text{L} = 3,19 \text{ ng}/\mu\text{L}$$

- Massa diazinon yang didapatkan (m_a) :

$$3,19 \text{ ng}/\mu\text{L} \times 2000 \mu\text{L} = 6,38 \times 10^3 \text{ ng}$$

- Perhitungan massa diazinon dalam larutan (sampel+standar)

Volume total campuran = volume S₄ yang ditambahkan + volume standar 4 ppm = 4 mL

Data luas area hasil pemindaian dengan densitometer

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.18 Rf	0.5 AU	0.28 Rf	40.7 AU	21.22 %	0.33 Rf	7.8 AU	1600.8 AU
2	0.88 Rf	10.6 AU	0.93 Rf	151.1 AU	78.78 %	0.98 Rf	4.2 AU	3833.9 AU

Persamaan regresi $y = 6,628x + 641,6$; dimana luas area disubstitusikan ke dalam y, maka :

- Massa diazinon hasil pengukuran adalah

$$1600,8 = 6,628x + 641,6$$

$$x = 144,71 \text{ ng}$$

- Konsentrasi diazinon :

$$144,7 \text{ ng} / 40 \mu\text{L} = 3,61 \text{ ng} / \mu\text{L}$$

- Massa diazinon dalam larutan (m_f) :

$$3,61 \text{ ng} / \mu\text{L} \times 4000 \mu\text{L} = 1,44 \times 10^4 \text{ ng}$$

- Perhitungan % perolehan kembali

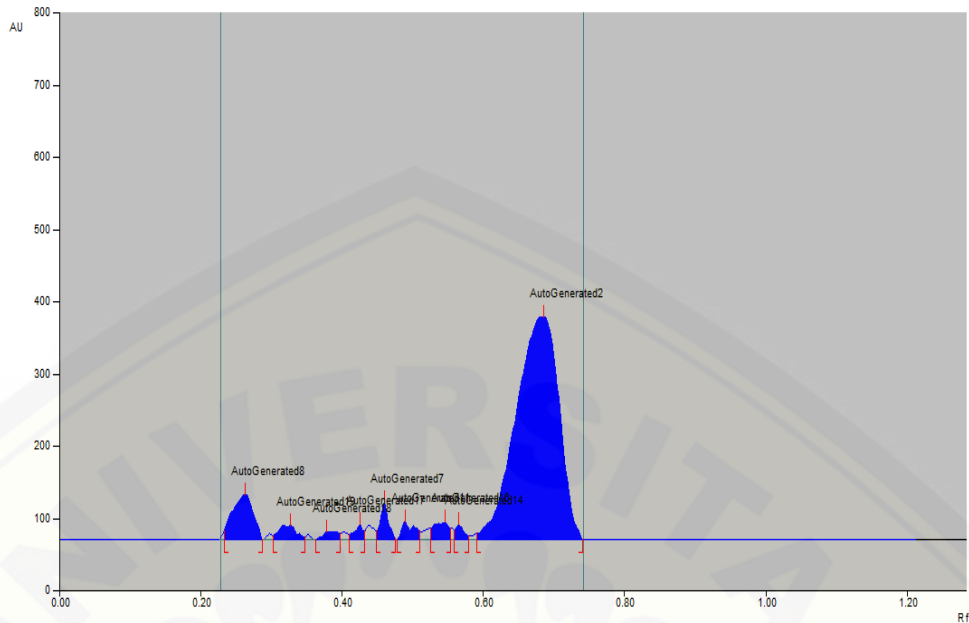
$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{m_f - m_a}{m_a^*} = \frac{1,44 \times 10^4 - 6,38 \times 10^3}{8 \times 10^3} \times 100 \% = 100,25 \%$$

B. Densitogram hasil pemindaian dengan densitometer

1. Ulangan pertama

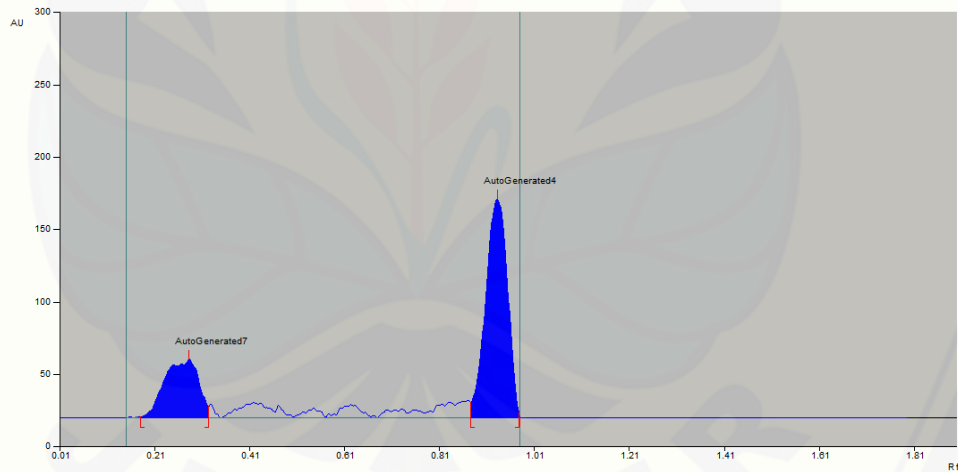
a. Densitogram S₄ (sampel 35 HST)

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.23 Rf	12.4 AU	0.26 Rf	62.2 AU	11.44 %	0.29 Rf	0.5 AU	1488.8 AU	7.84 %
2	0.30 Rf	5.4 AU	0.33 Rf	19.9 AU	3.66 %	0.35 Rf	3.1 AU	401.6 AU	2.11 %
3	0.36 Rf	0.1 AU	0.38 Rf	11.4 AU	2.10 %	0.40 Rf	8.3 AU	189.2 AU	1.00 %
4	0.41 Rf	7.6 AU	0.43 Rf	20.4 AU	3.74 %	0.43 Rf	12.1 AU	205.4 AU	1.08 %
5	0.45 Rf	12.1 AU	0.46 Rf	51.3 AU	9.42 %	0.48 Rf	1.4 AU	477.3 AU	2.51 %
6	0.48 Rf	0.0 AU	0.49 Rf	25.3 AU	4.65 %	0.51 Rf	12.2 AU	350.2 AU	1.84 %
7	0.53 Rf	15.1 AU	0.55 Rf	24.1 AU	4.43 %	0.55 Rf	16.3 AU	424.2 AU	2.23 %
8	0.56 Rf	13.2 AU	0.57 Rf	20.7 AU	3.80 %	0.58 Rf	5.8 AU	212.6 AU	1.12 %
9	0.59 Rf	8.8 AU	0.69 Rf	308.8 AU	56.75 %	0.74 Rf	0.0 AU	15242.2 AU	80.26 %



b. Densitogram penambahan standar diazinon 4 ppm ke dalam S₄

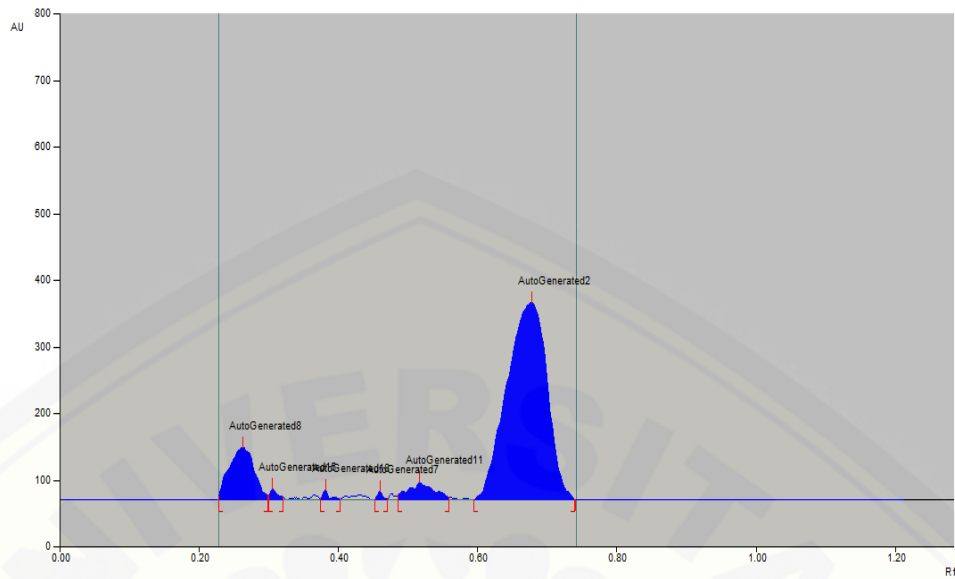
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.18 Rf	0.5 AU	0.28 Rf	40.7 AU	21.22 %	0.33 Rf	7.8 AU	1600.8 AU
2	0.88 Rf	10.6 AU	0.93 Rf	151.1 AU	78.78 %	0.98 Rf	4.2 AU	3833.9 AU



2. Ulangan kedua

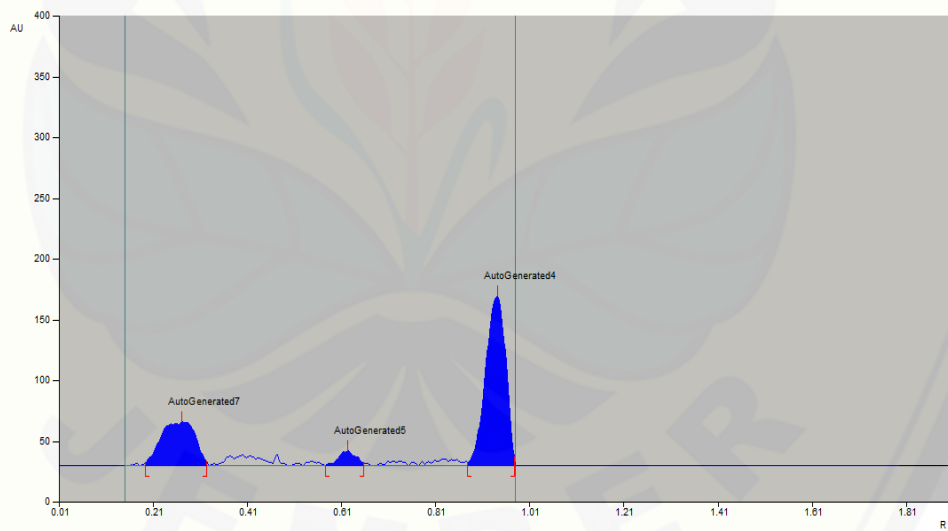
a. Densitogram S₄ (sampel 35 HST)

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.24 Rf	5.3 AU	0.27 Rf	75.0 AU	100.00 %	0.30 Rf	0.7 AU	2127.2 AU
2	0.30 Rf	7.8 AU	0.31 Rf	15.2 AU	3.42 %	0.32 Rf	4.4 AU	137.5 AU
3	0.37 Rf	1.9 AU	0.38 Rf	14.5 AU	3.28 %	0.40 Rf	0.8 AU	100.9 AU
4	0.45 Rf	0.5 AU	0.46 Rf	12.1 AU	2.73 %	0.47 Rf	1.4 AU	75.8 AU
5	0.49 Rf	7.1 AU	0.52 Rf	26.6 AU	5.99 %	0.56 Rf	3.8 AU	754.1 AU
6	0.59 Rf	0.3 AU	0.68 Rf	296.4 AU	66.83 %	0.74 Rf	0.6 AU	13906.9 AU



b. Densitogram penambahan standar diazinon 5 ppm ke dalam S₄

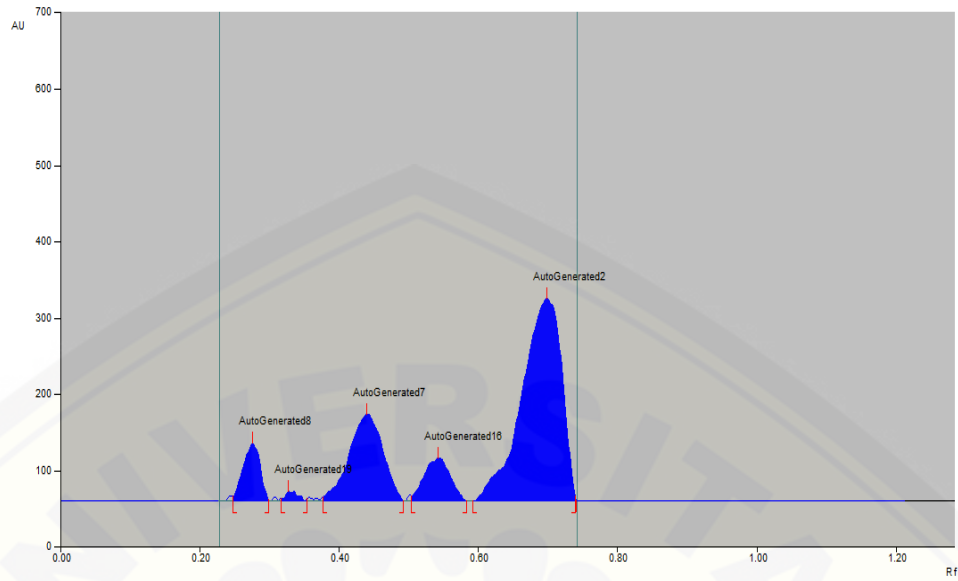
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.20 Rf	2.6 AU	0.27 Rf	36.0 AU	19.17 %	0.33 Rf	3.5 AU	1465.4 AU	29.34 %
2	0.58 Rf	0.0 AU	0.63 Rf	12.4 AU	6.59 %	0.66 Rf	2.4 AU	243.4 AU	4.87 %
3	0.88 Rf	3.0 AU	0.94 Rf	139.4 AU	74.24 %	0.98 Rf	7.3 AU	3285.2 AU	65.78 %



3. Ulangan ketiga

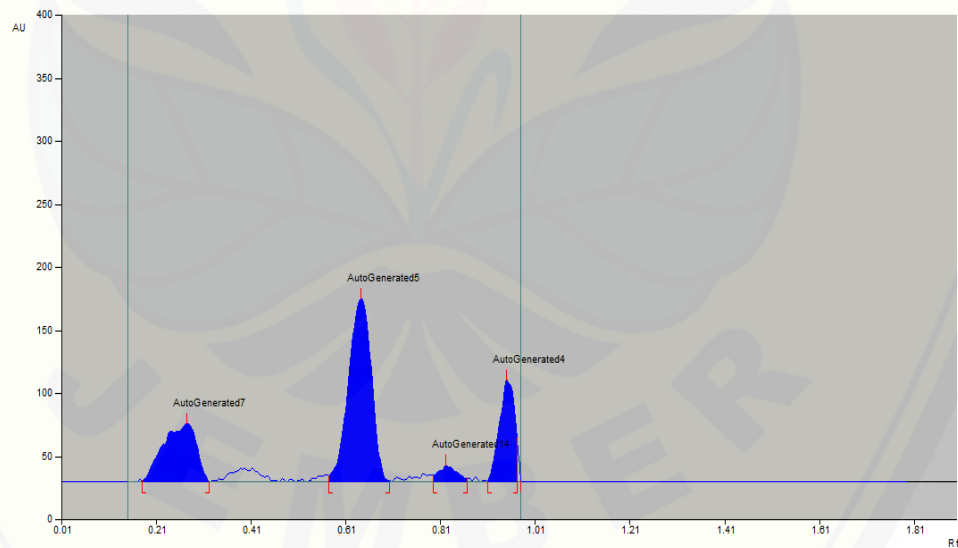
a. Densitogram S₄ (sampel 35 HST)

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.25 Rf	5.7 AU	0.28 Rf	75.8 AU	14.49 %	0.30 Rf	1.4 AU	1491.7 AU
2	0.32 Rf	3.3 AU	0.33 Rf	13.0 AU	2.48 %	0.35 Rf	2.3 AU	187.7 AU
3	0.38 Rf	4.7 AU	0.44 Rf	113.4 AU	21.69 %	0.49 Rf	0.5 AU	4444.7 AU
4	0.50 Rf	6.2 AU	0.54 Rf	55.7 AU	10.66 %	0.58 Rf	0.2 AU	1698.2 AU
5	0.59 Rf	0.6 AU	0.70 Rf	265.0 AU	50.68 %	0.74 Rf	6.2 AU	12297.0 AU



b. Densitogram penambahan standar diazinon 6 ppm ke dalam S₄

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.18 Rf	0.6 AU	0.28 Rf	46.0 AU	16.17 %	0.32 Rf	0.2 AU	1769.9 AU	24.15 %
2	0.58 Rf	4.7 AU	0.64 Rf	144.8 AU	50.86 %	0.70 Rf	0.7 AU	3860.6 AU	52.67 %
3	0.80 Rf	4.9 AU	0.82 Rf	12.9 AU	4.55 %	0.87 Rf	2.4 AU	271.1 AU	3.70 %
4	0.91 Rf	0.1 AU	0.95 Rf	80.9 AU	28.42 %	0.97 Rf	34.1 AU	1428.5 AU	19.49 %



D.4 Ketepatan (Presisi)

A. Data uji ketepatan (presisi) larutan standar diazinon 4 ppm (n = 4)

Track	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	End Position	End Height	Area
1	0,21 Rf	7,2 AU	0,26 Rf	22,7 AU	0,30 Rf	19,0 AU	606,7 AU
2	0,22 Rf	2,8 AU	0,28 Rf	40,1 AU	0,29 Rf	33,6 AU	762,5 AU
3	0,22 Rf	4,4 AU	0,27 Rf	35,1 AU	0,30 Rf	31,3 AU	839,2 AU
4	0,22 Rf	3,8 AU	0,27 Rf	33,9 AU	0,28 Rf	32,9 AU	738,7AU

B. Hasil perhitungan keseksamaan (presisi) larutan standar diazinon 4 ppm

Konsentrasi Diazinon	Area (x)	(x - \bar{x})	(x - \bar{x}) ²
4 ppm	606,7 AU	-130,1	16926,01
4 ppm	762,5 AU	25,7	660,49
4 ppm	839,2 AU	102,4	10485,76
4 ppm	738,7AU	1,9	3,61

$$\bar{x} = \frac{2947,1}{4} = 736,8$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{4-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{28075,87}{3}} = 96,7$$

$$SBR = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

$$= \frac{96,7}{736,8} \times 100\% = 13 \%$$

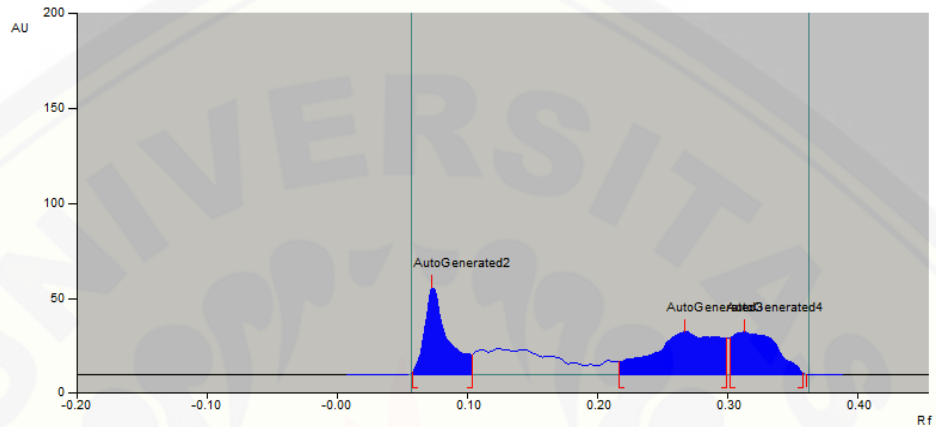
$$\text{Nilai presisi} = 100\% - \% SBR$$

$$= 100\% - 13\% = 87 \%$$

C. Densitogram larutan standar 4 ppm

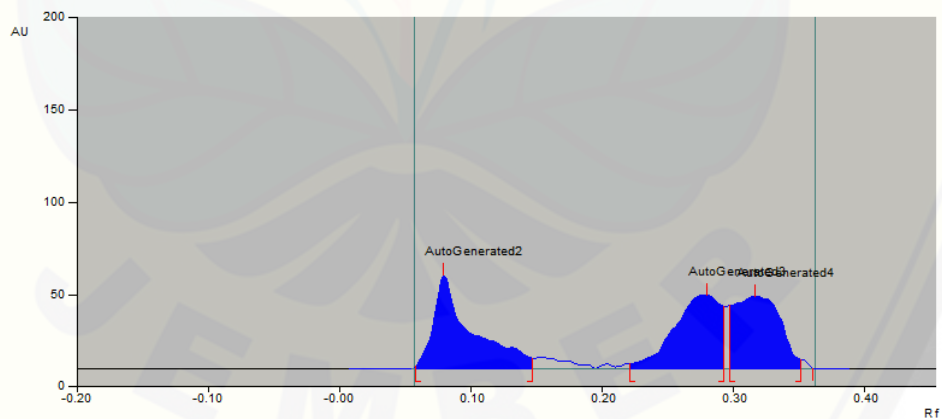
a. Ulangan 1

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.05 Rf	1.7 AU	0.07 Rf	45.9 AU	50.39 %	0.10 Rf	10.6 AU	432.2 AU
2	0.21 Rf	7.2 AU	0.26 Rf	22.7 AU	24.92 %	0.30 Rf	19.0 AU	606.7 AU
3	0.30 Rf	19.3 AU	0.31 Rf	22.5 AU	24.68 %	0.36 Rf	0.9 AU	419.3 AU



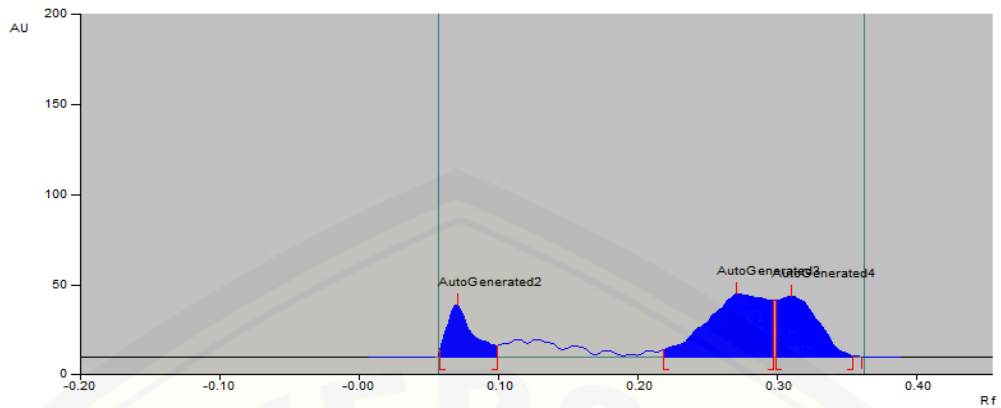
b. Ulangan 2

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.05 Rf	1.0 AU	0.08 Rf	51.0 AU	39.04 %	0.14 Rf	5.7 AU	779.5 AU
2	0.22 Rf	2.8 AU	0.28 Rf	40.1 AU	30.73 %	0.29 Rf	33.6 AU	762.5 AU
3	0.30 Rf	34.3 AU	0.32 Rf	39.5 AU	30.24 %	0.35 Rf	5.0 AU	757.3 AU



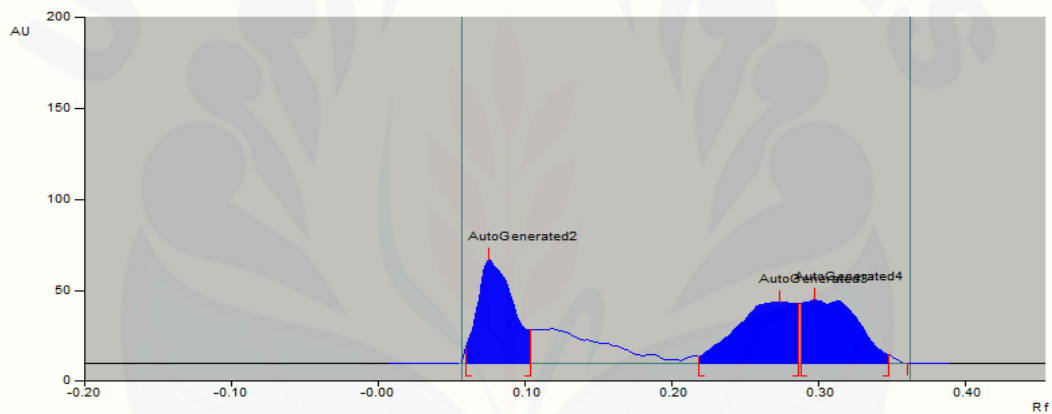
c. Ulangan 3

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area
1	0.05 Rf	3.9 AU	0.07 Rf	29.1 AU	29.63 %	0.10 Rf	6.5 AU	289.3 AU
2	0.22 Rf	4.4 AU	0.27 Rf	35.1 AU	35.79 %	0.30 Rf	31.3 AU	839.2 AU
3	0.30 Rf	31.5 AU	0.31 Rf	33.9 AU	34.58 %	0.35 Rf	0.6 AU	520.5 AU



d. Ulangan 4

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.06 Rf	8.6 AU	0.07 Rf	57.0 AU	45.34 %	0.10 Rf	18.5 AU	734.2 AU	33.66 %
2	0.22 Rf	3.8 AU	0.27 Rf	33.9 AU	26.98 %	0.28 Rf	32.9 AU	738.7 AU	33.87 %
3	0.29 Rf	33.2 AU	0.30 Rf	34.8 AU	27.68 %	0.35 Rf	4.9 AU	708.1 AU	32.47 %



**LAMPIRAN E. DATA PENENTUAN KADAR RESIDU DIAZINON
DALAM SAWI HIJAU**

E.1 Data dan Densitogram Hasil Pemindaian dengan Densitometer

Data kadar residu diazinon dari pemindaian dengan densitometer

Sampel	Ulangan	Max Position	Area (AU)	FP	$m_{\text{diazinon}} \times \text{FP (mg)}$	Massa sampel (kg)	Kadar (mg/kg)	Rata-rata kadar diazinon (mg/kg)
S ₁	I	0,26 Rf	3235,8	10	$3,91 \times 10^{-3}$	0,01	0,391	0,305
	II	0,26 Rf	3275,6	10	$3,97 \times 10^{-3}$	0,01	0,397	
	III	0,28 Rf	1491,7	10	$1,28 \times 10^{-3}$	0,01	0,128	
S ₂	I	0,27 Rf	2364,8	10	$2,59 \times 10^{-3}$	0,01	0,259	0,256
	II	0,27 Rf	3169,7	10	$3,81 \times 10^{-3}$	0,01	0,381	
	III	0,28 Rf	1491,7	10	$1,28 \times 10^{-3}$	0,01	0,128	
S ₃	I	0,28 Rf	2328,0	-	$2,54 \times 10^{-4}$	0,01	$2,54 \times 10^{-2}$	0,019
	II	0,28 Rf	2371,0	-	$2,60 \times 10^{-4}$	0,01	$2,60 \times 10^{-2}$	
	III	0,27 Rf	1028,9	-	$5,84 \times 10^{-5}$	0,01	$5,84 \times 10^{-3}$	
S ₄	I	0,26 Rf	1488,8	-	$1,27 \times 10^{-4}$	0,01	$1,27 \times 10^{-2}$	0,017
	II	0,26 Rf	2312,8	-	$2,52 \times 10^{-4}$	0,01	$2,52 \times 10^{-2}$	
	III	0,28 Rf	1491,7	-	$1,28 \times 10^{-4}$	0,01	$1,28 \times 10^{-2}$	
Kontrol negatif	I	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	-	-	-	-	-	
	III	-	-	-	-	-	-	

*keterangan : FP = faktor pengenceran

E.2 Contoh perhitungan kadar residu diazinon

Persamaan regresi, $y = bx + a$ yang diperoleh yakni $y = 6,628x + 641,6$,
dimana y adalah luas area hasil pengukuran densitometer, maka

- Massa diazinon hasil pengukuran

$$x = \left(\frac{y - a}{b} \right) \times \text{Faktor pengenceran (FP)}$$

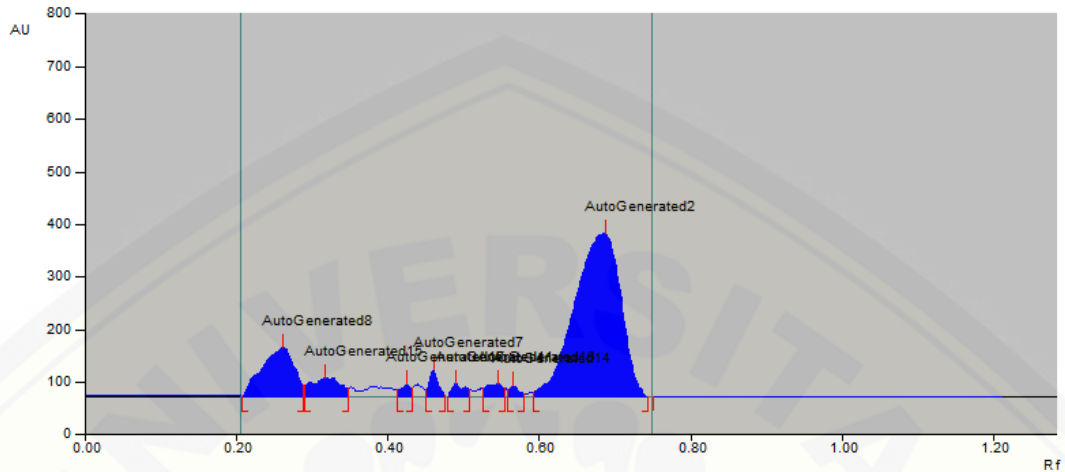
$$x = \dots \text{ mg}$$

- Kadar diazinon

$$\frac{\text{massa diazinon}}{\text{sampel}} = \frac{\dots \text{mg}}{10 \text{ g}} = \frac{\dots \text{mg}}{1 \times 10^{-2} \text{kg}} = \dots \text{ mg/kg}$$

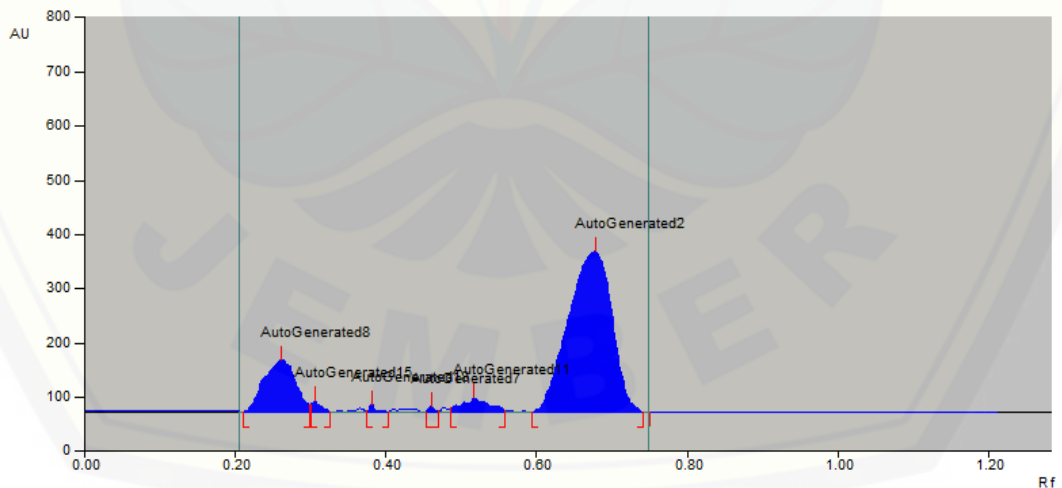
1. Densitogram Sampel 1 (29 HST)

❖ Pengulangan I



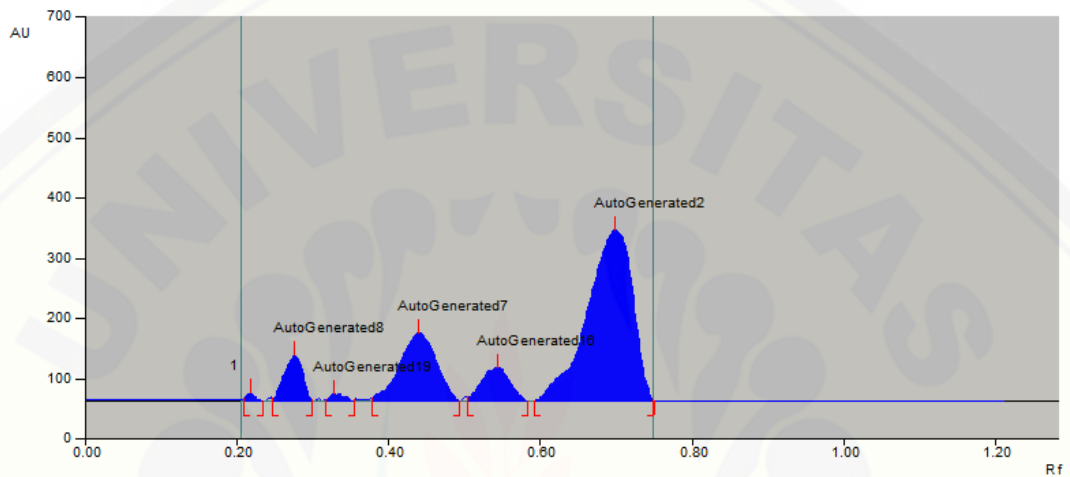
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	1.0 AU	0.26 Rf	92.7 AU	15.79 %	0.29 Rf	21.0 AU	3235.8 AU	15.09 %
2	0.29 Rf	21.4 AU	0.32 Rf	36.2 AU	6.16 %	0.35 Rf	15.3 AU	1127.9 AU	5.26 %
3	0.41 Rf	13.4 AU	0.43 Rf	24.9 AU	4.23 %	0.43 Rf	16.2 AU	271.0 AU	1.26 %
4	0.45 Rf	14.5 AU	0.46 Rf	52.8 AU	8.99 %	0.48 Rf	1.6 AU	489.0 AU	2.28 %
5	0.48 Rf	0.0 AU	0.49 Rf	25.4 AU	4.32 %	0.51 Rf	14.2 AU	326.8 AU	1.52 %
6	0.53 Rf	15.4 AU	0.55 Rf	24.4 AU	4.16 %	0.55 Rf	16.7 AU	430.5 AU	2.01 %
7	0.56 Rf	13.6 AU	0.57 Rf	21.1 AU	3.60 %	0.58 Rf	6.3 AU	219.7 AU	1.02 %
8	0.59 Rf	9.4 AU	0.69 Rf	309.8 AU	52.76 %	0.74 Rf	0.0 AU	15339.8 AU	71.55 %

❖ Pengulangan II



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	0.5 AU	0.26 Rf	95.7 AU	20.53 %	0.30 Rf	14.7 AU	3275.6 AU	17.86 %
2	0.30 Rf	14.9 AU	0.31 Rf	20.7 AU	4.45 %	0.33 Rf	0.3 AU	214.1 AU	1.17 %
3	0.37 Rf	1.9 AU	0.38 Rf	14.5 AU	3.12 %	0.40 Rf	0.8 AU	100.9 AU	0.55 %
4	0.45 Rf	0.5 AU	0.46 Rf	12.1 AU	2.60 %	0.47 Rf	1.4 AU	75.8 AU	0.41 %
5	0.49 Rf	7.1 AU	0.52 Rf	26.6 AU	5.70 %	0.56 Rf	3.8 AU	754.1 AU	4.11 %
6	0.59 Rf	0.3 AU	0.68 Rf	296.5 AU	63.60 %	0.74 Rf	0.2 AU	13918.8 AU	75.90 %

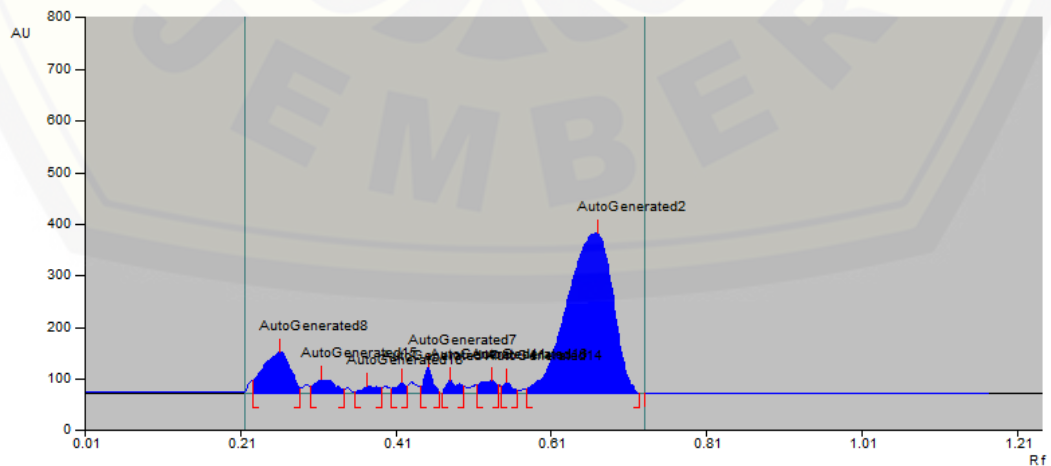
❖ Pengulangan III



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.21 Rf	3.7 AU	0.22 Rf	13.8 AU	2.48 %	0.23 Rf	0.0 AU	126.4 AU	0.58 %
2	0.25 Rf	5.7 AU	0.28 Rf	75.8 AU	13.65 %	0.30 Rf	1.4 AU	1491.7 AU	6.87 %
3	0.32 Rf	3.3 AU	0.33 Rf	13.0 AU	2.33 %	0.35 Rf	2.3 AU	187.7 AU	0.87 %
4	0.38 Rf	4.7 AU	0.44 Rf	113.4 AU	20.42 %	0.49 Rf	0.5 AU	4444.7 AU	20.48 %
5	0.50 Rf	6.2 AU	0.54 Rf	55.7 AU	10.04 %	0.58 Rf	0.2 AU	1698.2 AU	7.83 %
6	0.59 Rf	1.1 AU	0.70 Rf	283.8 AU	51.09 %	0.75 Rf	2.6 AU	13753.1 AU	63.37 %

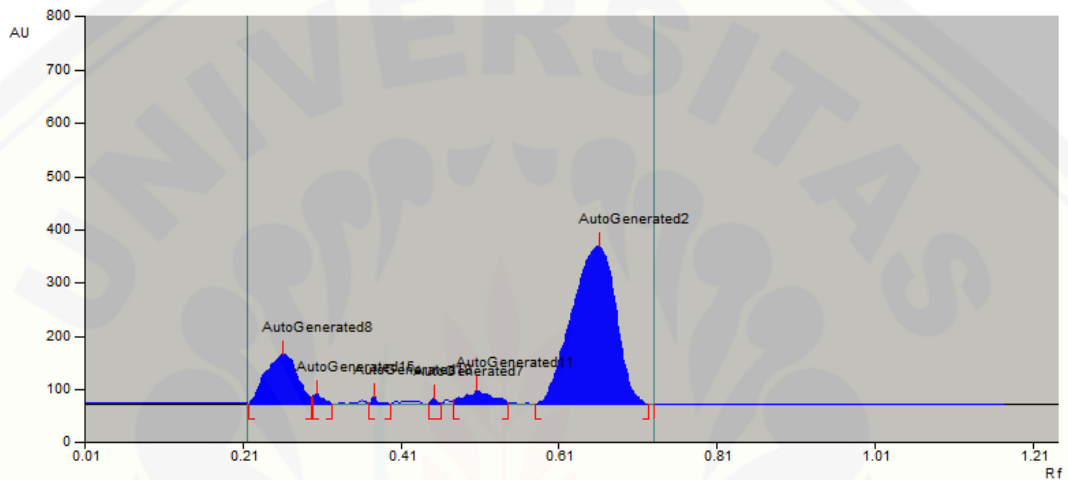
2. Densitogram Sampel 2 (31 HST)

❖ Pengulangan I



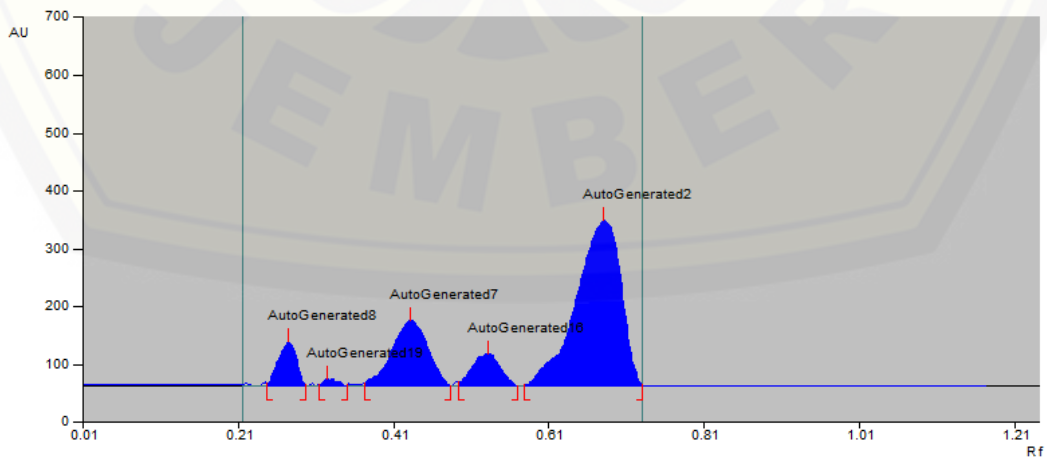
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.23 Rf	25.4 AU	0.26 Rf	79.3 AU	13.83 %	0.29 Rf	9.3 AU	2364.8 AU	11.69 %
2	0.30 Rf	13.5 AU	0.32 Rf	26.2 AU	4.57 %	0.35 Rf	7.2 AU	597.5 AU	2.95 %
3	0.36 Rf	2.9 AU	0.38 Rf	13.9 AU	2.43 %	0.39 Rf	10.3 AU	253.8 AU	1.25 %
4	0.41 Rf	9.3 AU	0.42 Rf	21.7 AU	3.78 %	0.43 Rf	13.3 AU	228.3 AU	1.13 %
5	0.45 Rf	12.8 AU	0.45 Rf	51.7 AU	9.01 %	0.47 Rf	1.5 AU	472.1 AU	2.33 %
6	0.47 Rf	0.0 AU	0.48 Rf	25.4 AU	4.42 %	0.50 Rf	14.2 AU	326.8 AU	1.62 %
7	0.52 Rf	15.4 AU	0.54 Rf	24.4 AU	4.26 %	0.55 Rf	16.7 AU	430.5 AU	2.13 %
8	0.55 Rf	13.6 AU	0.56 Rf	21.1 AU	3.68 %	0.57 Rf	6.3 AU	219.7 AU	1.09 %
9	0.58 Rf	9.4 AU	0.67 Rf	309.8 AU	54.02 %	0.73 Rf	0.0 AU	15339.8 AU	75.81 %

❖ Pengulangan II



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.22 Rf	0.4 AU	0.26 Rf	94.1 AU	20.27 %	0.30 Rf	14.0 AU	3169.7 AU	17.37 %
2	0.30 Rf	14.2 AU	0.31 Rf	20.2 AU	4.36 %	0.33 Rf	0.2 AU	207.6 AU	1.14 %
3	0.37 Rf	1.9 AU	0.38 Rf	14.5 AU	3.13 %	0.40 Rf	0.8 AU	100.9 AU	0.55 %
4	0.45 Rf	0.5 AU	0.45 Rf	12.1 AU	2.61 %	0.46 Rf	1.4 AU	75.8 AU	0.42 %
5	0.48 Rf	7.1 AU	0.51 Rf	26.6 AU	5.73 %	0.55 Rf	3.8 AU	754.1 AU	4.13 %
6	0.58 Rf	0.3 AU	0.66 Rf	296.7 AU	63.91 %	0.73 Rf	0.4 AU	13939.4 AU	76.39 %

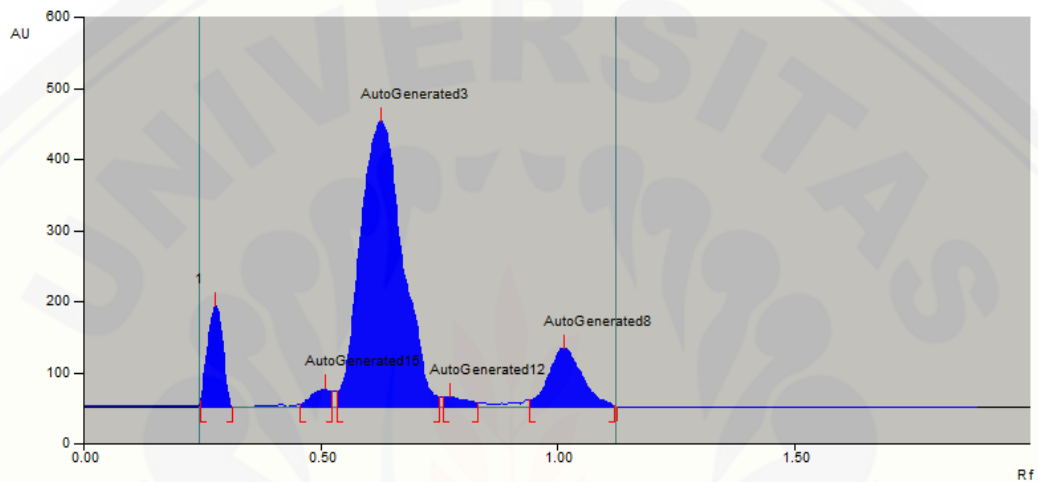
❖ Pengulangan III



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.25 Rf	5.7 AU	0.28 Rf	75.8 AU	13.95 %	0.30 Rf	1.4 AU	1491.7 AU	6.87 %
2	0.32 Rf	3.3 AU	0.33 Rf	13.0 AU	2.39 %	0.35 Rf	2.3 AU	187.7 AU	0.86 %
3	0.38 Rf	4.7 AU	0.44 Rf	113.4 AU	20.87 %	0.49 Rf	0.5 AU	4444.7 AU	20.47 %
4	0.50 Rf	6.2 AU	0.53 Rf	55.7 AU	10.26 %	0.57 Rf	0.2 AU	1698.2 AU	7.82 %
5	0.58 Rf	1.2 AU	0.68 Rf	285.5 AU	52.53 %	0.73 Rf	2.4 AU	13890.0 AU	63.97 %

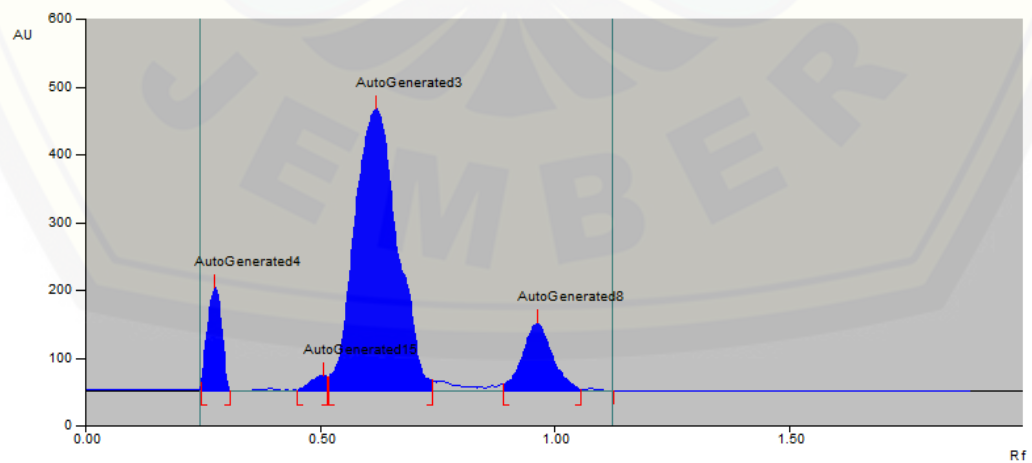
3. Densitogram Sampel 3 (33 HST)

❖ Pengulangan I



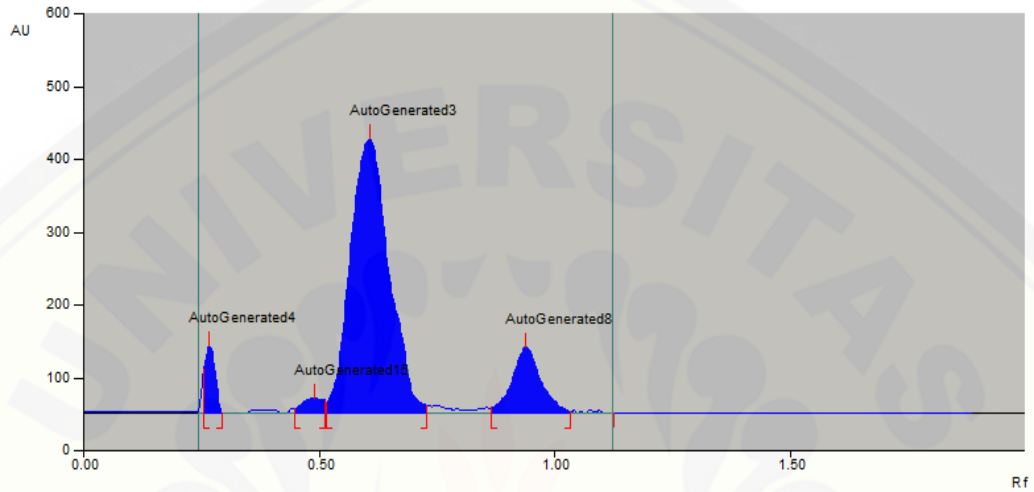
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.25 Rf	8.2 AU	0.28 Rf	141.9 AU	21.24 %	0.31 Rf	0.4 AU	2328.0 AU	9.30 %
2	0.46 Rf	4.2 AU	0.51 Rf	25.8 AU	3.87 %	0.52 Rf	23.5 AU	559.1 AU	2.23 %
3	0.54 Rf	23.1 AU	0.63 Rf	402.1 AU	60.18 %	0.75 Rf	13.8 AU	18696.6 AU	74.70 %
4	0.76 Rf	14.2 AU	0.77 Rf	14.9 AU	2.23 %	0.83 Rf	5.6 AU	356.9 AU	1.43 %
5	0.94 Rf	9.7 AU	1.01 Rf	83.4 AU	12.48 %	1.12 Rf	1.8 AU	3088.8 AU	12.34 %

❖ Pengulangan II



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.25 Rf	12.6 AU	0.28 Rf	152.0 AU	21.96 %	0.31 Rf	0.7 AU	2371.7 AU	9.17 %
2	0.45 Rf	0.7 AU	0.51 Rf	23.1 AU	3.33 %	0.52 Rf	21.0 AU	424.9 AU	1.64 %
3	0.52 Rf	21.6 AU	0.62 Rf	417.1 AU	60.25 %	0.74 Rf	15.5 AU	19732.3 AU	76.31 %
4	0.89 Rf	10.9 AU	0.96 Rf	100.1 AU	14.46 %	1.06 Rf	1.7 AU	3330.2 AU	12.88 %

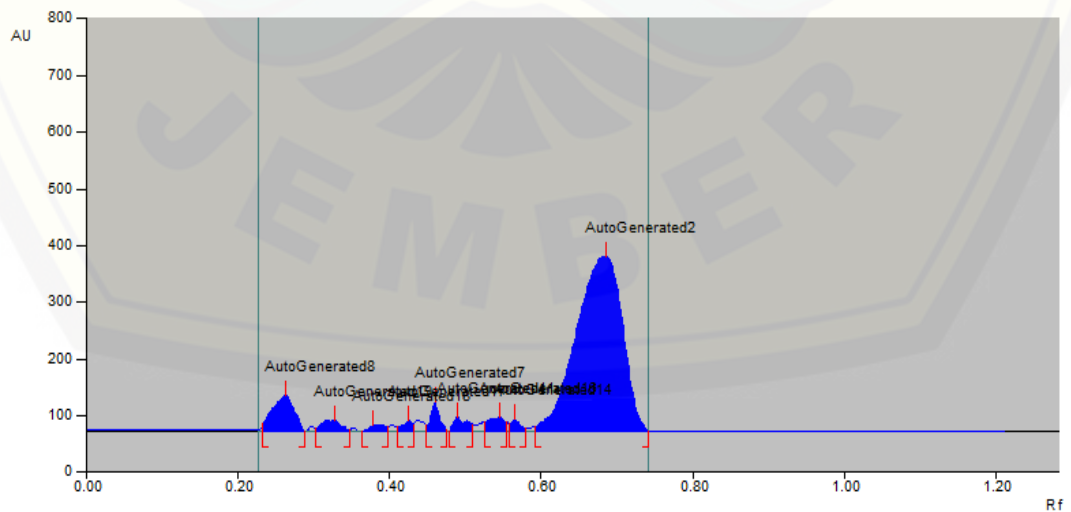
❖ Pengulangan III



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.26 Rf	59.6 AU	0.27 Rf	91.9 AU	15.85 %	0.29 Rf	0.9 AU	1028.9 AU	5.01 %
2	0.45 Rf	5.7 AU	0.49 Rf	21.6 AU	3.73 %	0.51 Rf	16.3 AU	498.8 AU	2.43 %
3	0.52 Rf	15.4 AU	0.61 Rf	376.5 AU	64.91 %	0.73 Rf	10.7 AU	16145.1 AU	78.55 %
4	0.87 Rf	8.2 AU	0.94 Rf	90.0 AU	15.52 %	1.03 Rf	1.9 AU	2880.6 AU	14.02 %

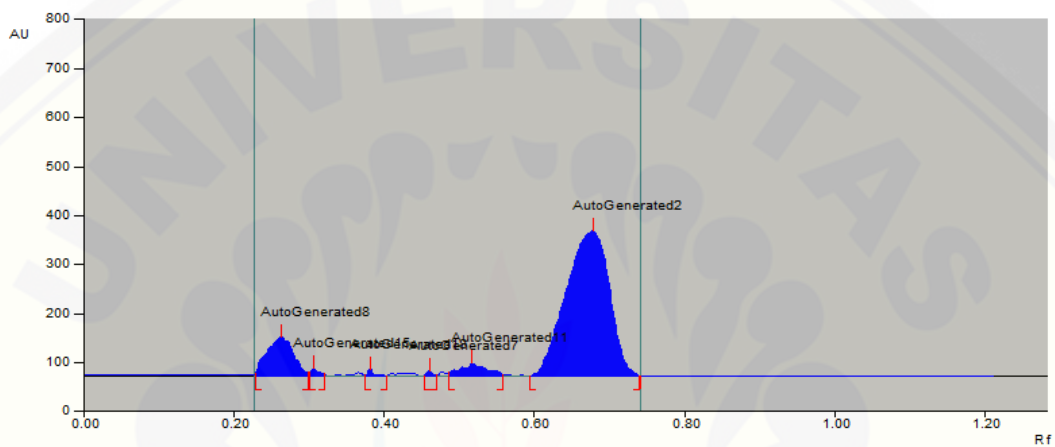
4. Densitogram Sampel 4 (33 HST)

❖ Pengulangan I



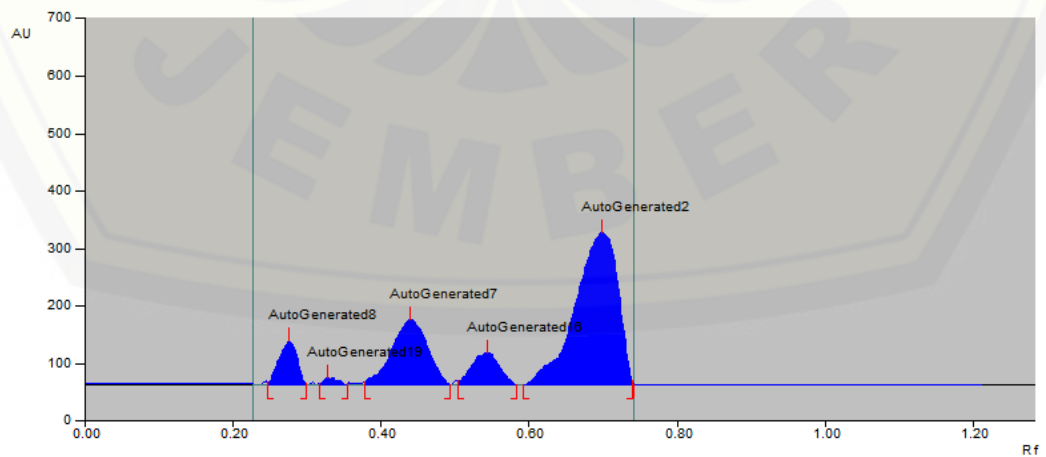
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.23 Rf	12.4 AU	0.26 Rf	62.2 AU	11.44 %	0.29 Rf	0.5 AU	1488.8 AU	7.84 %
2	0.30 Rf	5.4 AU	0.33 Rf	19.9 AU	3.66 %	0.35 Rf	3.1 AU	401.6 AU	2.11 %
3	0.36 Rf	0.1 AU	0.38 Rf	11.4 AU	2.10 %	0.40 Rf	8.3 AU	189.2 AU	1.00 %
4	0.41 Rf	7.6 AU	0.43 Rf	20.4 AU	3.74 %	0.43 Rf	12.1 AU	205.4 AU	1.08 %
5	0.45 Rf	12.1 AU	0.46 Rf	51.3 AU	9.42 %	0.48 Rf	1.4 AU	477.3 AU	2.51 %
6	0.48 Rf	0.0 AU	0.49 Rf	25.3 AU	4.65 %	0.51 Rf	12.2 AU	350.2 AU	1.84 %
7	0.53 Rf	15.1 AU	0.55 Rf	24.1 AU	4.43 %	0.55 Rf	16.3 AU	424.2 AU	2.23 %
8	0.56 Rf	13.2 AU	0.57 Rf	20.7 AU	3.80 %	0.58 Rf	5.8 AU	212.6 AU	1.12 %
9	0.59 Rf	8.8 AU	0.69 Rf	308.8 AU	56.75 %	0.74 Rf	0.0 AU	15242.2 AU	80.26 %

❖ Pengulangan II



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.23 Rf	5.5 AU	0.26 Rf	78.7 AU	17.74 %	0.30 Rf	7.3 AU	2312.8 AU	13.38 %
2	0.30 Rf	7.8 AU	0.31 Rf	15.2 AU	3.42 %	0.32 Rf	4.4 AU	137.5 AU	0.80 %
3	0.37 Rf	1.9 AU	0.38 Rf	14.5 AU	3.28 %	0.40 Rf	0.8 AU	100.9 AU	0.58 %
4	0.45 Rf	0.5 AU	0.46 Rf	12.1 AU	2.73 %	0.47 Rf	1.4 AU	75.8 AU	0.44 %
5	0.49 Rf	7.1 AU	0.52 Rf	26.6 AU	5.99 %	0.56 Rf	3.8 AU	754.1 AU	4.36 %
6	0.59 Rf	0.3 AU	0.68 Rf	296.4 AU	66.83 %	0.74 Rf	0.6 AU	13906.9 AU	80.44 %

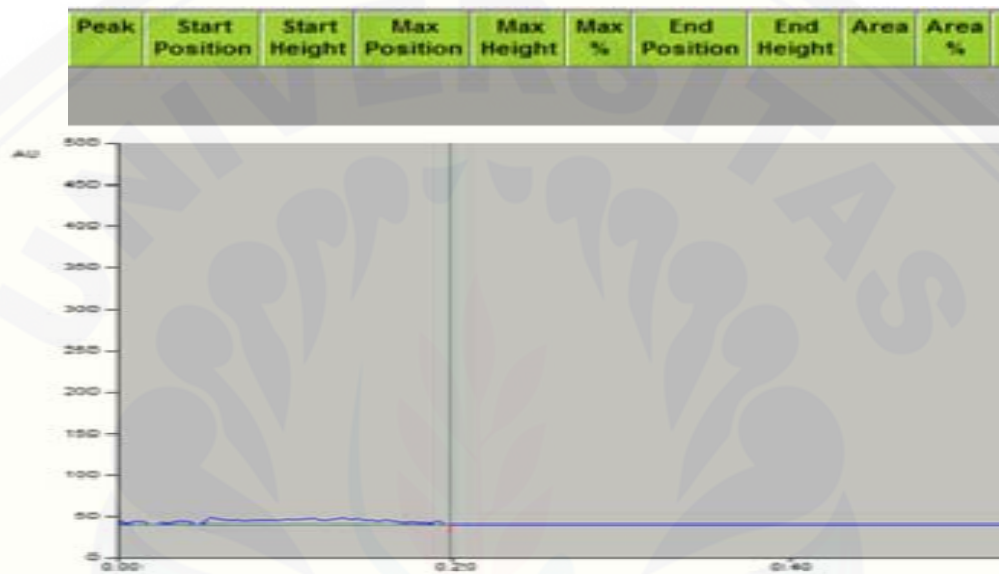
❖ Pengulangan III



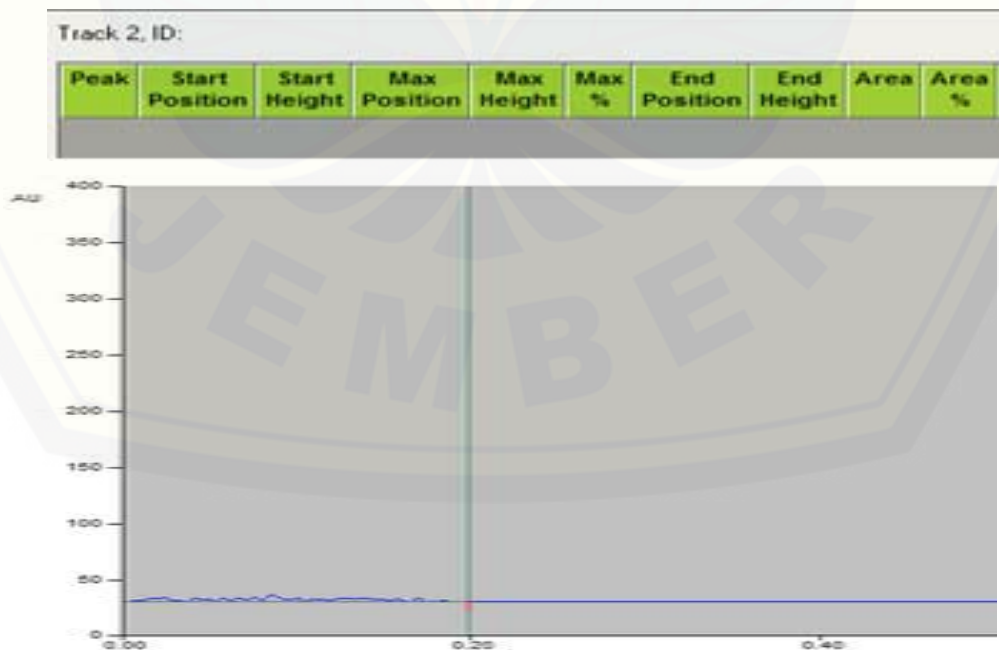
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %
1	0.25 Rf	5.7 AU	0.28 Rf	75.8 AU	14.49 %	0.30 Rf	1.4 AU	1491.7 AU	7.41 %
2	0.32 Rf	3.3 AU	0.33 Rf	13.0 AU	2.48 %	0.35 Rf	2.3 AU	187.7 AU	0.93 %
3	0.38 Rf	4.7 AU	0.44 Rf	113.4 AU	21.69 %	0.49 Rf	0.5 AU	4444.7 AU	22.09 %
4	0.50 Rf	6.2 AU	0.54 Rf	55.7 AU	10.66 %	0.58 Rf	0.2 AU	1698.2 AU	8.44 %
5	0.59 Rf	0.6 AU	0.70 Rf	265.0 AU	50.68 %	0.74 Rf	6.2 AU	12297.0 AU	61.12 %

5. Densitogram Kontrol Negatif

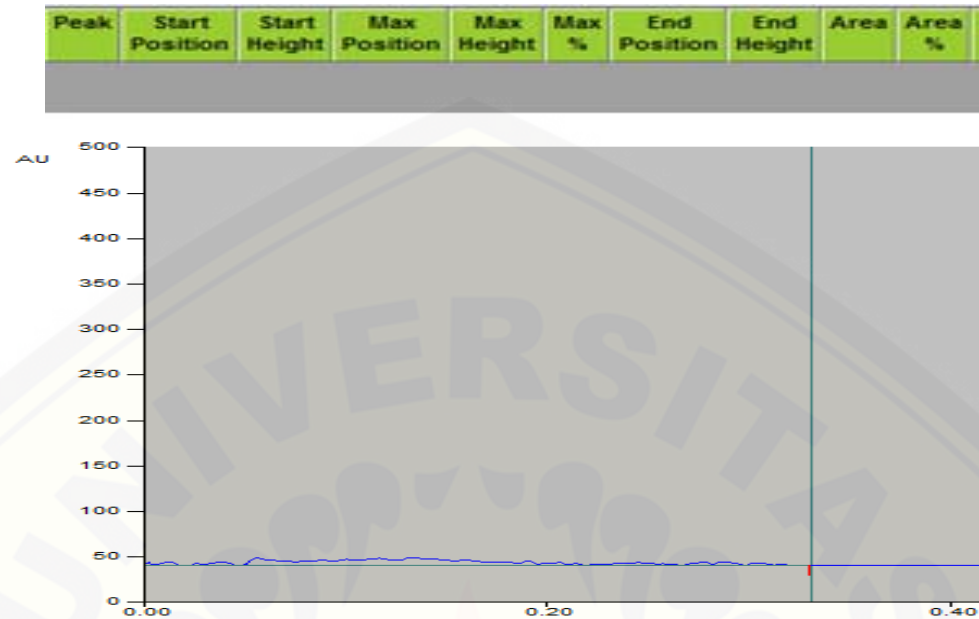
❖ Pengulangan I



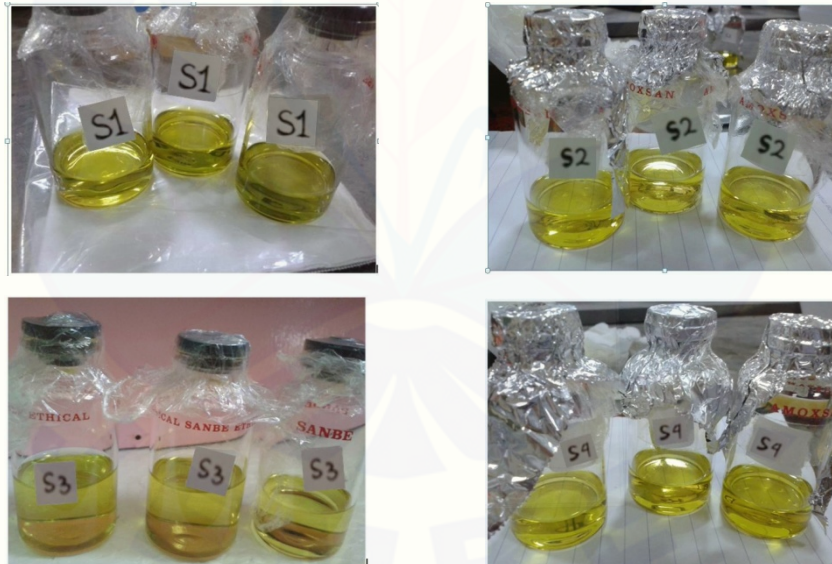
❖ Pengulangan II



❖ Pengulangan III



E.3 Foto Sampel Hasil Ekstraksi (S₁, S₂, S₃, S₄)



ANALISIS RESIDU DIAZINON PADA SAWI HIJAU MENGGUNAKAN TEKNIK KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS – DENSITOMETRI
(APPLICATION OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY-DENSITOMETRY FOR ANALYSIS OF DIAZINON RESIDUES IN GREENS)

A. Fithria, D. Indarti, Y. M. Muflihah
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: dwi.indarti@unej.ac.id

Abstrak

Penggunaan diazinon pada tanaman akan meninggalkan residu yang dapat mengganggu kesehatan manusia. Metode kromatografi lapis tipis-densitometri dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk analisis residu diazinon pada tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jarak waktu penyemprotan diazinon terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu diazinon pada sayur sawi hijau. Residu diazinon dalam tanaman diekstraksi dengan heksana dan natrium sulfat anhidrat. Larutan kemudian ditotolkan pada plat aluminium dengan silika gel F₂₅₄ (10×10 cm) sebagai fase diamnya dengan jumlah totalan 40 µL sampel. Elusi plat dilakukan pada bejana yang telah dijenuhkan (berukuran 10×10×5 cm³), dan heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 (v/v) sebagai eluennya. Pemisahan dengan KLT menghasilkan nilai R_f diazinon 0,267±0,015. Validasi metode ini diuji menggunakan parameter linearitas, LOD dan LOQ, recovery, dan ketepatan (presisi). Pembuatan kurva kalibrasi menghasilkan regresi linear dengan nilai r (koefisien korelasi) sebesar 0,974 pada rentang konsentrasi 40-320 ng/spot. LOD (Limit of Detection) dan LOQ (Limit of Quantitation) pada metode ini adalah 2,21 ppm dan 6,70 ppm. Penambahan 8, 10 dan 12 µg diazinon (3 kali pengulangan) menghasilkan % recovery (perolehan kembali) yaitu 80-120 % dan ketepatan (presisi) sebesar 87 %.

Kata kunci : Diazinon, sawi hijau, KLT-Densitometri, validasi

Abstract

Application of diazinon on the plants will leave a residue that can interfere with human health. TLC-Scanner can be used as a method of an alternative to an analysis of the residue of diazinon in plants. This research aims to understand the influence of distance of time spraying diazinon last with the harvest to the residue levels of diazinon in greens. Determination of diazinon residue in plants was done by extraction of sample using hexane and anhydrous natrium sulfate. After that, the solutions were spotted on TLC aluminium plate with silica gel F₂₅₄ (10×10 cm) as the stationery phase with 40 µL. Linear ascending development was carried out in twin trough glass chamber saturated (10×10×5 cm³) with hexane-ethyl acetate = 18:1 (v/v), as mobile phase. The mobile phase hexane-ethyl acetate (18:1, v/v) gave good resolution with R_f = 0,267±0,015 for diazinon. Validation of this method was conducted by linearity, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ), recovery, and accuracy. The linear regression analysis data for the calibration plots showed good linear relationship with r = 0.974 in the concentration range 40–320 ng/spot with respect to peak area. LOD and LOQ are 2,21 ppm and 6,70 ppm. The result of recoveries after adding 8, 10, and 12 µg diazinon (in triplicates) are 80-120 %, and the accuracy (precision) is 87%.

Keyword : Diazinon, Greens, TLC-Scanner, validation

PENDAHULUAN

Sayur sawi hijau sebagai sayuran yang banyak disukai oleh masyarakat ternyata memiliki kandungan residu pestisida yang cukup besar. Semakin jauh rentang waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen akan

semakin baik. Hal ini dikarenakan residu yang tertinggal pada tanaman sebagian besar telah terurai [1].

Diazinon merupakan salah satu senyawa golongan organofosfat yang biasa digunakan sebagai pestisida untuk racun serangga. Diazinon dapat larut dalam alkohol, aseton, benzena, sikloheksana, diklorometana, dietil eter, petroleum eter, heksana, dan toluena [2]. Secara umum sifat insektisida

organofosfat sangat mudah terurai dan mempunyai waktu paruh yang relatif pendek sehingga residunya dalam tanaman ditemukan dalam jumlah kecil [3].

Analisis residu pestisida pada tanaman banyak dilakukan menggunakan metode kromatografi karena sifat selektifnya untuk senyawa organik multikomponen [4]. Kromatografi lapis tipis-densitometri merupakan alternatif teknik analisis yang efektif dan efisien. Pemisahan dengan KLT bekerja berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi analit melalui fase diam dengan gerakan dari eluen. Eluen yang digunakan merupakan campuran 2 pelarut organik. Daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan [5].

Densitometri merupakan metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit berupa noda pada plat hasil pemisahan KLT [6]. Densitometer mengukur tingkat kepekatan atau intensitas warna yang terdapat pada suatu permukaan plat (bidang datar) dan dilengkapi dengan spektrofotometer yang panjang gelombangnya dapat diatur dari 200 - 700 nm [7].

Penentuan diazinon menggunakan teknik KLT-Densitometri diuji validitasnya menggunakan beberapa parameter uji yakni linieritas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantitation*), *recovery* (persen perolehan kembali), dan ketepatan (presisi).

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, *shaker bath*, oven, *ball pipet*, alat gelas, pipet mikro, mortar dan pastel, bejana KLT berukuran 10x5x10 cm³, spektrofotometer UV-Vis, dan CAMAG *TLC Scanner 3*.

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sawi hijau yang ditanam dalam media polibag. Bahan kimia yang digunakan adalah pestisida organofosfat berbahan aktif diazinon 600 EC (konsentrasi 600000 ppm) produksi PT. Petrokimia Kayaku (Petrokimia Gresik Group), metanol p.a, Na₂SO₄ anhidrat, kertas saring, n-heksana p.a, etil asetat p.a, plat silika gel F₂₅₄.

Preparasi sampel

Sawi hijau dipotong kecil-kecil, dihaluskan, ditimbang 10 gram, ditambahkan 20 mL heksana dan Na₂SO₄ anhidrat sebanyak 4,5 gram. Campuran dimasukkan ke dalam *shaker bath* dengan kecepatan 150 rpm selama 360 menit (6 jam) dan disaring. Filtrat didestilasi vakum sampai semua pelarutnya menguap, diazinon yang tertempel pada dinding labu alas bulat dibilas dengan 5 mL n-heksana.

Pemisahan diazinon dengan teknik KLT

Larutan standar diazinon 5 ppm ditotolkan sebanyak 40 µL (1 µL untuk sekali totalan) menggunakan pipet mikro. Totalan dikeringkan menggunakan *hair dryer*, kemudian plat dielusi dalam bejana berukuran 10x5x10 cm³

menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1. Elusi dilakukan hingga mencapai 9,5 cm dari batas bawah plat. Plat dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang maksimum diazinon.

Parameter Validasi

a. Linieritas

Larutan standar diazinon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm disiapkan, ditotolkan masing-masing sebanyak 40 µL pada plat KLT F₂₅₄ berukuran 10x10 cm yang telah diaktivasi.

Plat dielusi menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 dan dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang maksimum diazinon. Dibuat plot anatara luas area (AU) dengan massa larutan standar diazinon (ng), didapat persamaan $y = bx + a$.

b. Batas Deteksi dan Batas Kuantitas.

Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung dengan perhitungan berikut :

$$\text{Batas deteksi} = 3,3 \times \frac{SD}{b}$$

$$\text{Batas kuantitasi} = 10 \times \frac{SD}{b}$$

keterangan :

$$\frac{SD}{b} = \text{standar deviasi residual dari regresi linier}$$

b = kemiringan (*slope*) dari regresi linier [8]

c. Perolehan kembali (*recovery*)

Larutan standar diazinon 4, 5, dan 6 ppm ditambahkan sebanyak 2 mL ke dalam 2 mL ekstrak sampel 35 HST (S₄) dan ditotolkan sebanyak 40 µL pada plat KLT yang telah diaktivasi. Plat diuji menggunakan densitometer dengan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 pada panjang gelombang maksimum diazinon. Uji perolehan kembali dihitung dengan rumus seperti berikut :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{m_f - m_a}{m_a} \times 100 \%$$

keterangan :

m_f = massa total diazinon (massa sampel + massa standar diazinon)

m_a = massa diazinon dalam sampel

m_a^* = massa standar diazinon [8]

d. Ketepatan (presisi)

Larutan standar diazinon konsentrasi 4 ppm ditotolkan pada plat. Ketepatan (presisi) diukur sebagai simpangan baku (SD) atau standar deviasi dan Simpangan Baku Relatif (SBR) dengan rumus berikut :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{4-1}}$$

$$\% SBR = \frac{SD}{b} \times 100\%$$

$$\text{nilai presisi} = 100\% - \%SBR$$

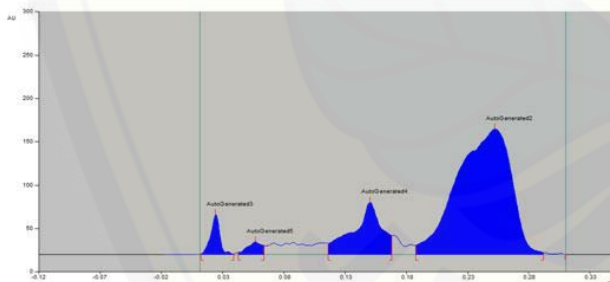
Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Sawi Hijau

Penotolan dilakukan pada plat KLT F₂₅₄ dengan jarak 1 cm dari bawah dan 1 cm dari kiri serta jarak penotolan 1 cm. S₁, S₂, S₃, dan S₄ (sampel hari ke-29 HST, 31 HST, 33 HST dan 35 HST) masing-masing ditotolkan sebanyak 40 µL pada plat KLT silika gel F₂₅₄. Totolan dikeringkan menggunakan *hairdryer* dan dielusi menggunakan eluen campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1 dalam bejana berukuran 10x10x5 cm³.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan kadar diazinon dalam sawi hijau ditentukan melalui teknik KLT-Densitometri. Pemisahan dengan teknik KLT terjadi karena adanya perbedaan kecepatan migrasi analit terhadap 2 fase yakni fase diam dan fase gerak (eluen). Polaritas eluen akan meningkatkan kecepatan migrasi analit yang berarti juga akan menentukan nilai R_f. Penambahan eluen yang bersifat agak polar seperti etil asetat ke dalam eluen non-polar seperti heksana akan meningkatkan harga R_f secara signifikan karena analit berinteraksi lebih kuat dengan fase diam silika gel.

Pemisahan yang baik akan menghasilkan beberapa puncak *spot* terpisah satu sama lain. *Spot* yang terbentuk merupakan solut-solut yang mampu menyerap cahaya pada panjang gelombang UV atau sinar tampak yang direfleksikan (dipantulkan) dari permukaan lempeng saat pemindaian dengan densitometer. Hasil pemindaian densitometer untuk standar diazinon memperlihatkan beberapa puncak area terbentuk pada densitogram. Densitogram standar diazinon salah satunya terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Densitogram standar diazinon

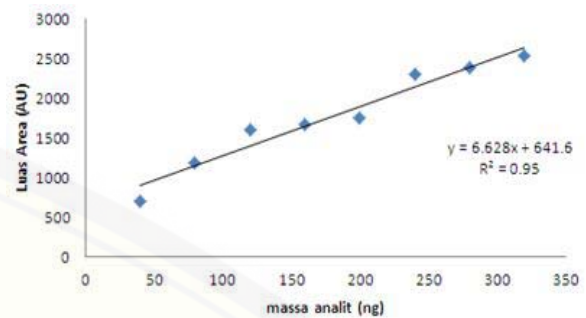
Gambar 1 memiliki luas area standar diazinon terbesar dengan harga R_f rata-rata 3 kali pengulangan sebesar 0,267. Pada hasil pemindaian dengan densitometer ini, diazinon dapat terpisah dengan baik. Berdasarkan hal tersebut, maka eluen campuran heksana-etil asetat 18:1 digunakan untuk analisis selanjutnya.

Validitas penentuan diazinon menggunakan metode kromatografi lapis tipis-densitometri

a. Linieritas

Linieritas menggambarkan hubungan antara massa analit (sumbu x) dengan luas area (sumbu y). Linieritas dalam

penelitian ini menggunakan range massa larutan standar antara 40-320 ng. Persamaan regresi yang didapat yakni $y = 6,628x + 641,6$ dengan nilai R² sebesar 0,95 dengan nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0,974. Kurva kalibrasi terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva penentuan daerah linier penentuan diazinon

b. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi menggunakan analisis data persamaan kurva kalibrasi hasil uji linieritas. Metode yang digunakan adalah metode penggunaan simpangan baku dari respon berdasarkan kemiringan kurva kalibrasi. Penentuan LOD (batas deteksi) dan LOQ (batas kuantitasi) bertujuan untuk mengetahui sensitifitas metode yang digunakan. Batas deteksi dan batas kuantitasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi

Parameter	Dalam ng	Dalam ppm
Batas deteksi	88,44	2,21
Batas kuantitasi	268,03	6,7

Berdasarkan Tabel 1 nilai batas deteksi dan batas kuantitasnya sebesar 2,21 ppm dan 6,70 ppm. Terdapat beberapa *noise* yang ditunjukkan oleh *peak* pada densitogram yang bukan merupakan analit diazinon sehingga *noise* ini akan mempengaruhi nilai batas deteksi dan kuantitasi.

c. Recovery (% perolehan kembali)

Penentuan *recovery* dilakukan dengan metode penambahan standar. Konsentrasi standar diazinon yang ditambahkan ke dalam S₄ (sampel 35 HST) yaitu 4, 5, dan 6 ppm. Tabel 2 merupakan perhitungan % perolehan kembali.

Tabel 2. Data hasil perhitungan % perolehan kembali

massa standar diazinon (m _a [*])	massa diazinon dalam S ₄ (m _a)	m _{standar} + m _{diazinon} dalam S ₄ (m _p)	% <i>recovery</i>
8 x 10 ³ ng	6,38 x 10 ³ ng	1,44 x 10 ⁴ ng	100,25%
1 x 10 ⁴ ng	1,12 x 10 ⁴ ng	1,24 x 10 ⁴ ng	120,00%
1,2 x 10 ⁴ ng	6,4 x 10 ³ ng	1,7 x 10 ⁴ ng	88,33%

Nilai % perolehan kembali diazinon yang dihasilkan yakni 100,25 %, 120 %, dan 88,33 %. Nilai % perolehan kembali untuk penambahan sampel dengan larutan standar 6 ppm lebih kecil daripada penambahan larutan standar 4 dan 5 ppm. Hal ini masih dalam batas yang diizinkan. Semakin kompleks suatu metode analisis yang digunakan, maka % perolehan kembali yang diperbolehkan semakin rendah

(range rata-rata antara 80-120%) (Ermer dan Miller, 2005). Oleh karena itu, penilaian parameter *recovery* metode KLT-densitometri untuk analisis residu diazinon dalam sawi hijau dinyatakan akurat.

d. Ketepatan (presisi)

Ketepatan (presisi) merupakan ukuran kesesuaian antara masing-masing hasil uji secara berulang yang ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku dan simpangan baku relatif (SBR). Presisi pada penelitian ini dilakukan beberapa kali ulangan saat pengukuran. Larutan standar diazinon yang digunakan adalah 4 ppm. Nilai SBR (simpangan baku relatif) yang didapat yakni 13% sehingga presisinya sebesar 87%. Parameter uji ketepatan ini perlu untuk dikembangkan lagi untuk memperoleh nilai presisi ideal.

Analisis kadar diazinon dalam sampel sawi hijau dengan teknik KLT-Densitometri menghasilkan densitogram yang memiliki luas area dan harga Rf berbeda-beda setiap sampel. Tabel 3 menyajikan nilai Rf sampel hasil pengukuran dengan densitometer.

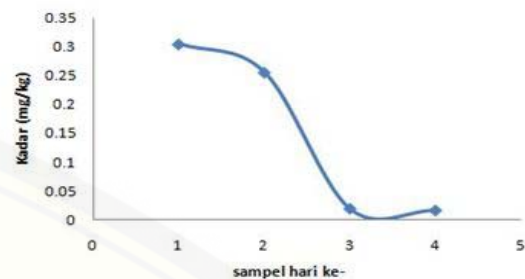
Tabel 3. Data pemindaian densitometer kadar residu diazinon

Sampel	Ulangan	Rf
S ₁ (29 HST)	I	0,26 Rf
	II	0,26 Rf
	III	0,27 Rf
S ₂ (31 HST)	I	0,26 Rf
	II	0,26 Rf
	III	0,28 Rf
S ₃ (33 HST)	I	0,28 Rf
	II	0,28 Rf
	III	0,27 Rf
S ₄ (35 HST)	I	0,26 Rf
	II	0,26 Rf
	III	0,28 Rf

Nilai Rf pada Tabel 3 menghasilkan puncak area yang beragam yang menunjukkan bahwa pemisahan analit (diazinon) terjadi dengan baik. Rata-rata kadar residu diazinon dalam S₁, S₂, S₃, dan S₄ masing-masing sebesar 0,305 mg/kg, 0,256 mg/kg, 0,0190 mg/kg dan 0,017 mg/kg. Kadar residu diazinon terbesar dimiliki oleh S₁ yakni sampel yang dipanen 1 hari setelah penyemprotan terakhir. Hal ini menunjukkan bahwa semakin dekat jarak waktu penyemprotan pestisida terakhir dengan waktu panen, maka residu diazinon yang tertinggal lebih banyak dibandingkan dengan sampel 2, 3, dan 4. Kadar S₃ dan S₄ relatif konstan dari kadar lainnya karena pada sampel 3 dan 4 residu diazinon mendekati habis karena telah terurai dalam tanah maupun udara. Pada tabel 4 kadar diazinon pada S₁ hingga S₄ mengalami penurunan (berkurang) secara berturut-turut. Kadar residu diazinon hasil penelitian dalam sawi hijau di semua variasi waktu pemanenan, berada di bawah Batas Minimum Residu (BMR) berdasarkan SNI tahun 2008 untuk jenis sayur-sayuran yang seharusnya hanya 0,5 mg/kg.

Penurunan kadar diazinon secara terus-menerus disebabkan oleh degradasi diazinon menjadi senyawa lain dan turunannya yang tidak dapat terdeteksi karena berada pada panjang gelombang yang berbeda dengan diazinon. Adapun faktor yang menyebabkan jumlah diazinon dalam

tanaman berkurang, yakni adanya air yang dapat menghidrolisis diazinon, cahaya matahari, temperatur dan mikroorganisme. Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar diazinon dalam sampel hari ke-1 hingga sampel hari ke-4 terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar residu diazinon.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan kadar residu diazinon secara berturut-turut mengalami penurunan dari S₁, S₂, S₃, hingga S₄ (sampel 29, 31, 33, dan 35 HST). Kadar residu diazinon dalam S₁, S₂, S₃, dan S₄ adalah 0,305; 0,256; 0,019; dan 0,017 mg/kg. Validitas penentuan diazinon menggunakan metode KLT-Densitometri menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,974, nilai batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) masing-masing yakni 2,21 ppm dan 6,70 ppm, nilai % perolehan kembali sebesar 100,25 %, 120 % dan 88,3 %,serta presisi dengan nilai 87 %.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Afriyanto. 2008. "Kajian Keracunan Pestisida pada Petani Penyemprot Cabe di Desa Candi, Kecamatan Bandungan, Kabupaten Semarang". Tidak Diterbitkan. Tesis. Semarang : Universitas Diponegoro.
- [2] Hayes, W. J. & Laws, E. R. 1991. *Handbook of Pesticide Toxicology*. San Diego: Academic Press, Inc.
- [3] Tarumingkeng, R. C. 1992. *Insektisida. Sifat, Mekanisme Kerja, dan Dampak Penggunaannya*. Jakarta: Universitas Kristen Krida Kencana.
- [4] Wonorahardjo, S. 2013. *Metode- Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta : Akademia Permata.
- [5] Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- [6] Kantasubrata, J. 1991. *Warta Kimia Analitik*. Puslitbang Kimia Terapan LIPI, 9 : 4-7.
- [7] Mulja dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- [8] Ermer, J. & Miller, J. H. McB. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice*. The Federal Republic of Germany.