



**ANALISIS RESIDU PESTISIDA DIAZINON PADA SAWI HIJAU
(*Brassica juncea L.*) MENGGUNAKAN 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
(*Brassica juncea L.*) MENGGUNAKAN 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

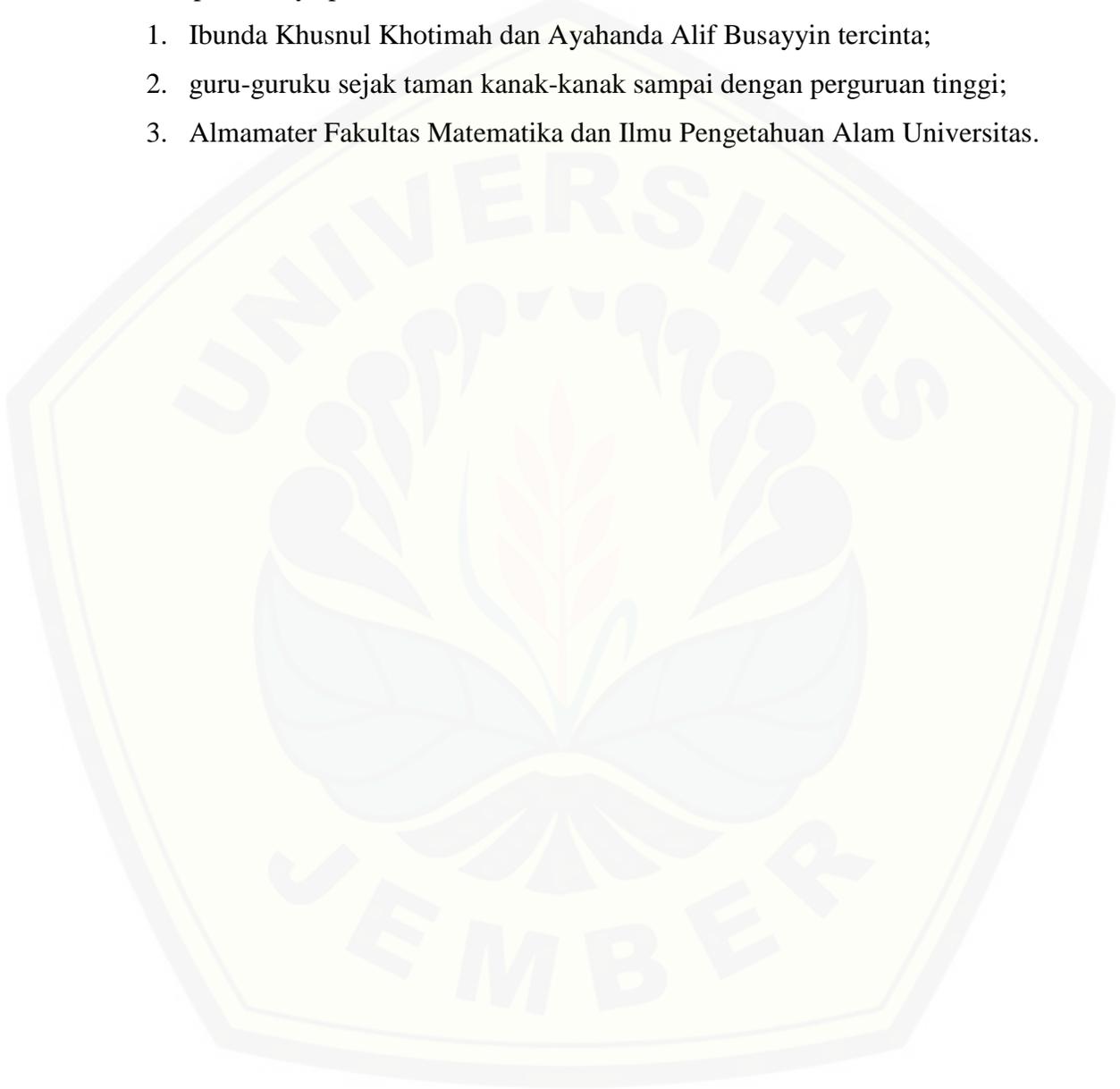
**Aniesa Fithria
NIM 091810301029**

**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 (*Brassica juncea*, L.) 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, dan 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 April 2015

Yang menyatakan,

Aniesa Fithria

NIM 091810301029

SKRIPSI

**ANALISIS RESIDU PESTISIDA DIAZINON PADA SAWI HIJAU
(*Brassica juncea L.*) MENGGUNAKAN 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 Muflifah, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

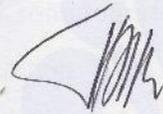
Skripsi yang berjudul “Analisis Residu Pestisida Diazinon pada Sawi Hijau (*Brassica juncea*, L.) Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : **RABU - 27 MAY 2015**

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

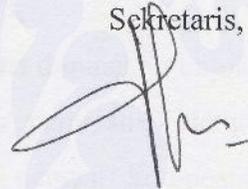
Tim Penguji

Ketua



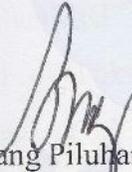
Dwi Indarti, S.Si., M.Si.
NIP 197409012000032004

Sekretaris,



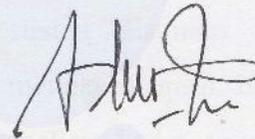
Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si.
NIP 198008302006042002

Anggota I,



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

Anggota II,



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 (*Brassica juncea*, L.) Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri; Aniesa Fithria, 091810301029; 2015; 30 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Diazinon 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.

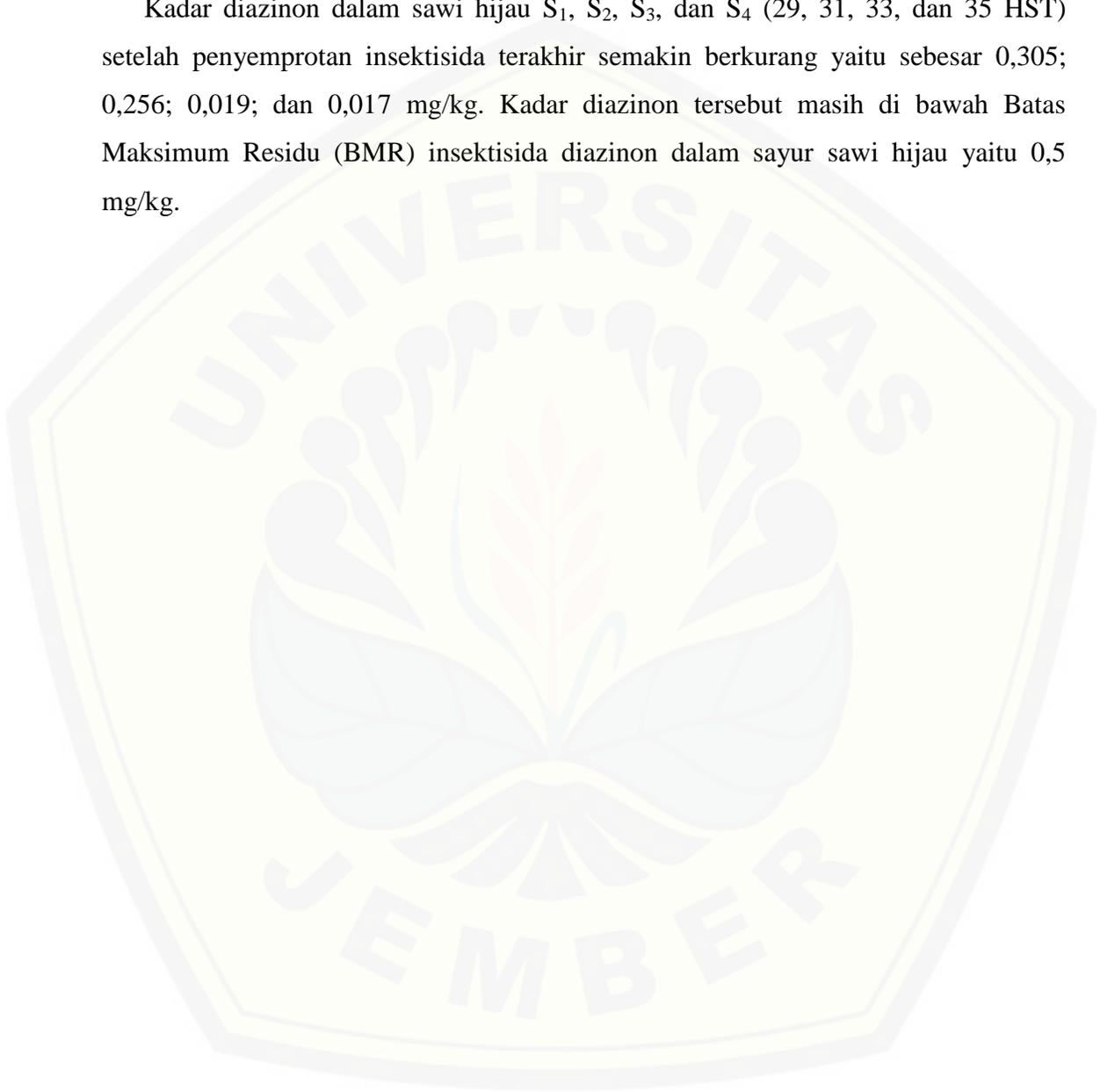
Metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri digunakan untuk analisis residu pestisida diazinon pada sawi hijau. Eluen pada pemisahan dengan KLT yang digunakan adalah campuran heksana-etil asetat dengan komposisi 18:1. Eluen tersebut dapat memisahkan analit (diazinon) terhadap komponen lain dalam campuran 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 0,017 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 (*Brassica juncea*, L.) 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, 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 sebagai pemberi keceriaan;
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

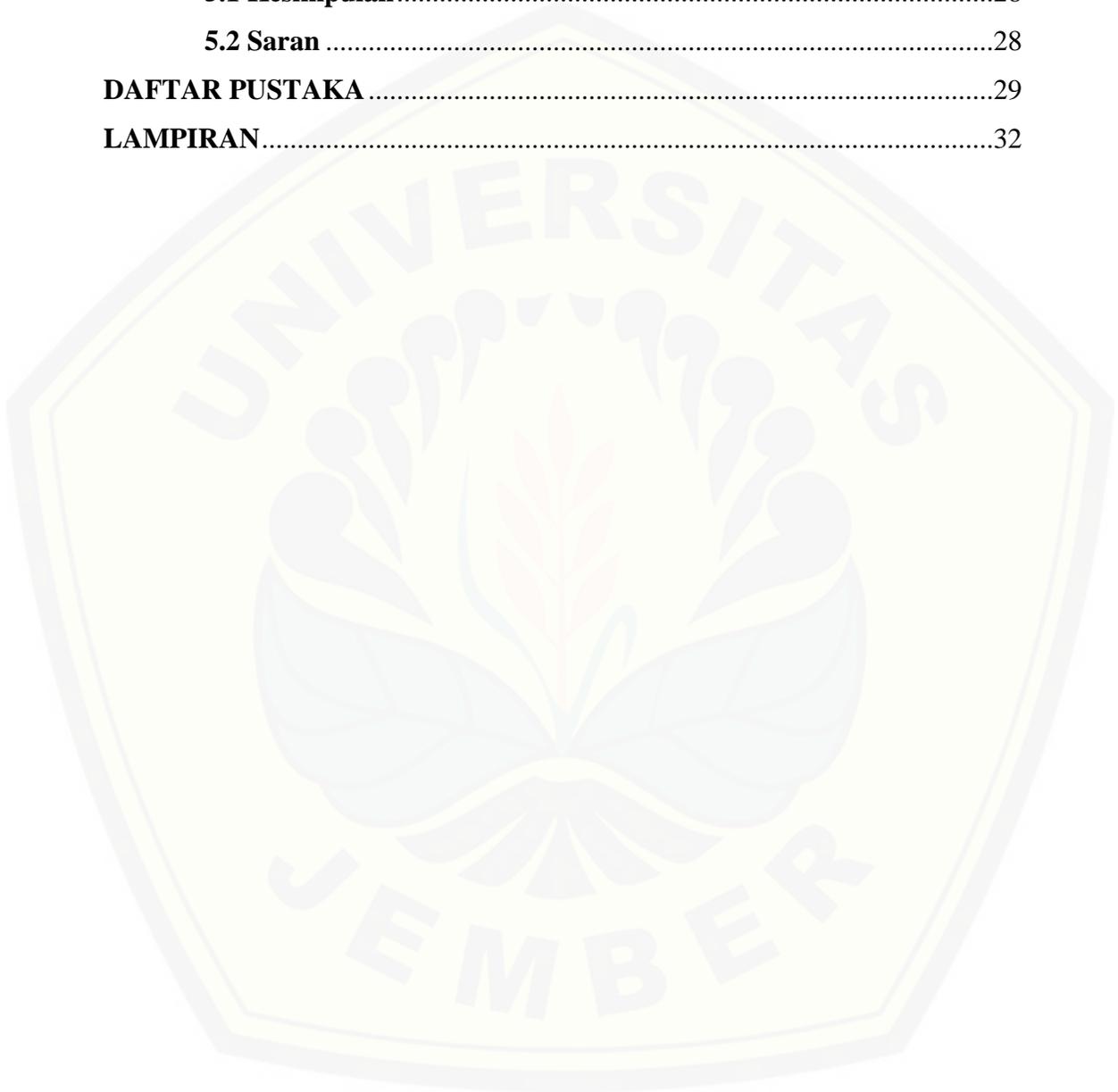
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	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	2
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

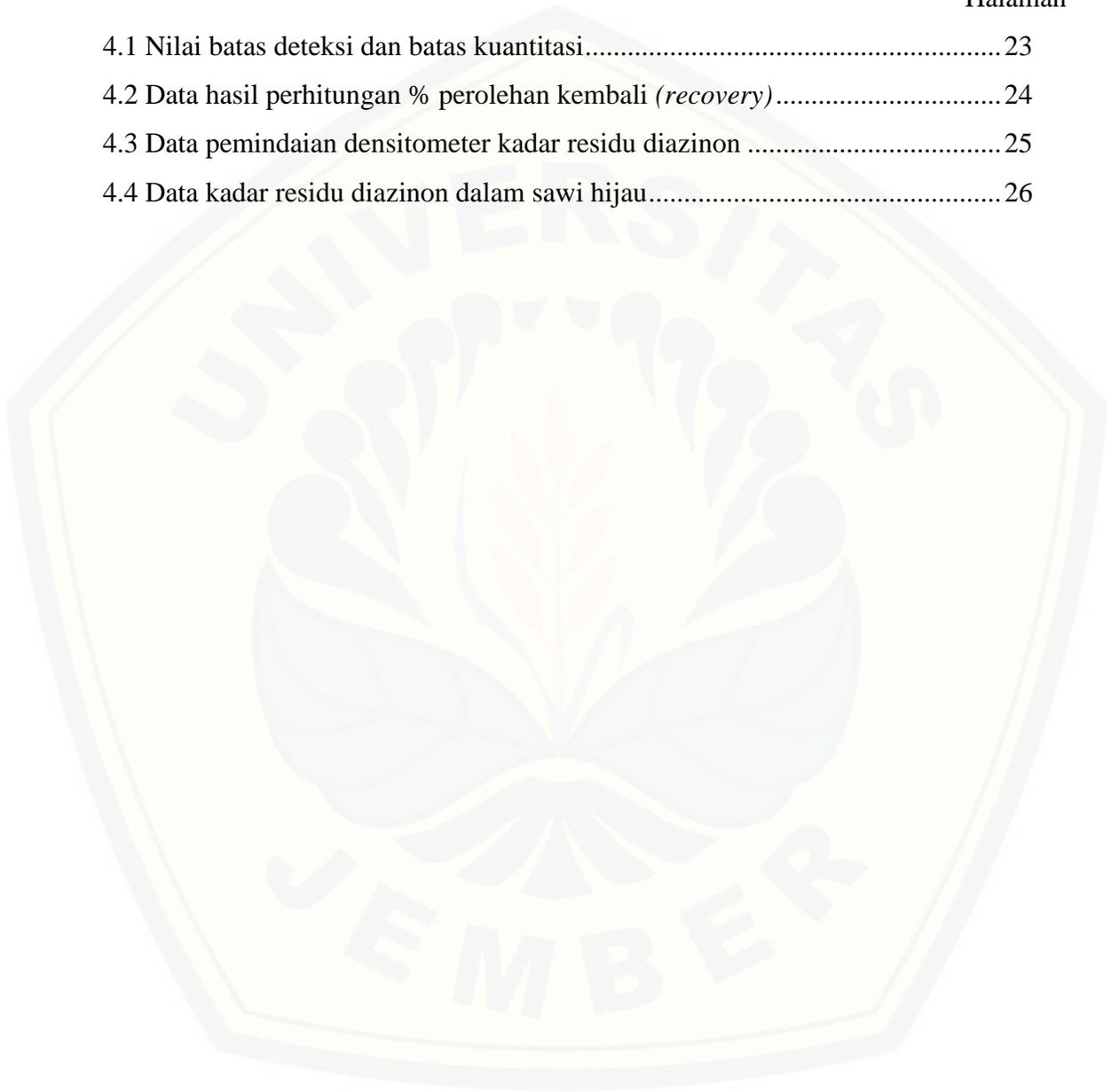
2.8 Validasi Metode	11
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.2.1 Alat	14
3.2.2 Bahan	14
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Persiapan Sampel	15
3.3.1.1 Penanaman Sawi Hijau	15
3.3.1.2 Preparasi Sampel	15
3.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Diazinon 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 <i>Recovery</i> (% perolehan kembali)	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 <i>Recovery</i> (% perolehan kembali)	24
4.3.4 Ketepatan (presisi)	24

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



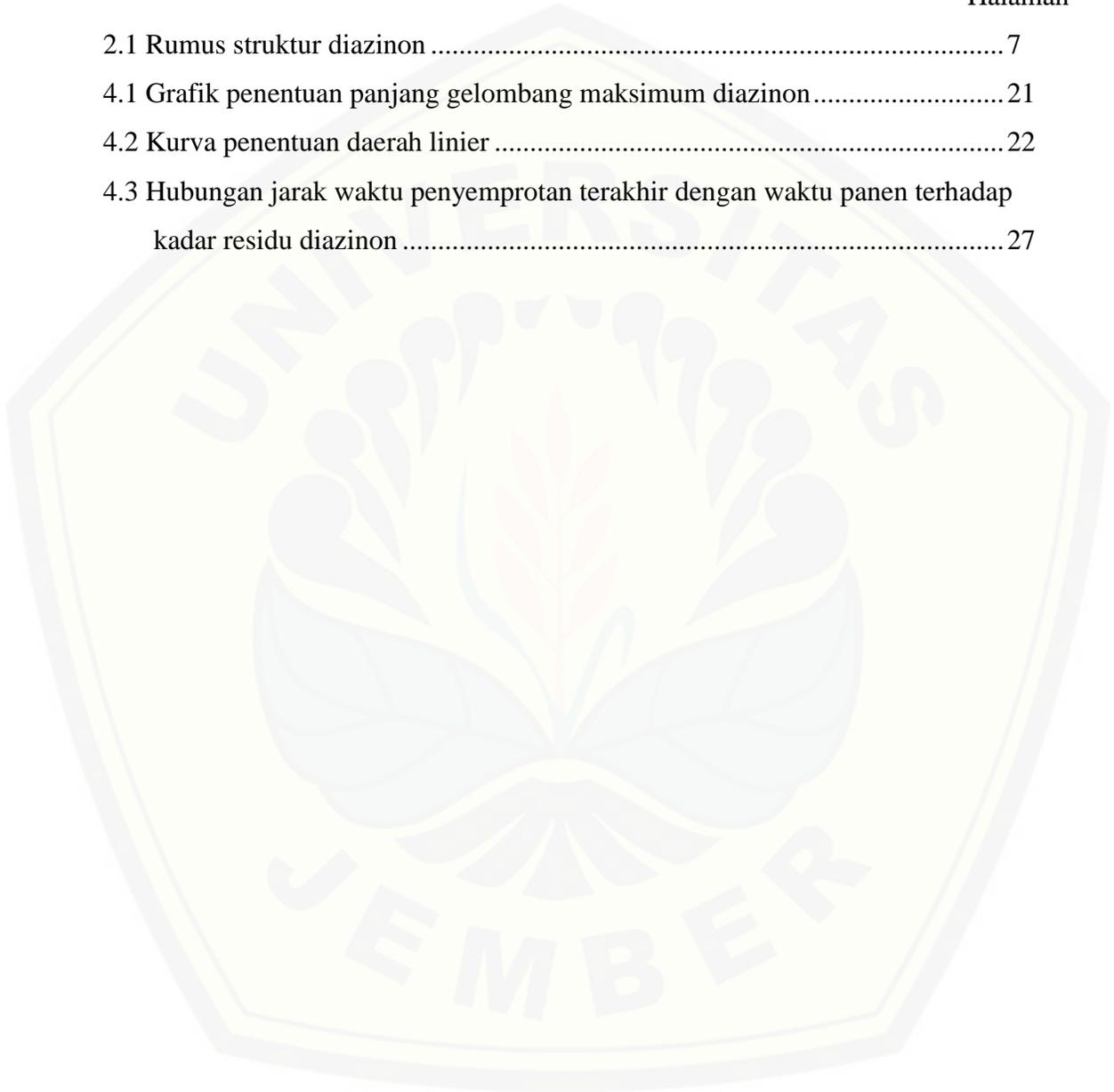
DAFTAR TABEL

	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	22
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 diazinon.....	34
C. Data pemindaian densitometer untuk analisis eluen KLT.....	35
D. Data validasi metode	37
D.1 Linieritas.....	37
D.2 Batas deteksi dan batas kuantitasi	41
D.3 <i>Recovery</i> (% perolehan kembali).....	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 (S ₁ , S ₂ , S ₃ , S ₄)	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-etil asetat 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-etil asetat 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*), *recovery* (% perolehan kembali) 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), *recovery* (% perolehan kembali) 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 sintetis. 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 (Djojosemarto, 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, lama terurai dalam tanah di lingkungan.
2. Golongan Organofosfat
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. 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 dan tidak persisten. 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

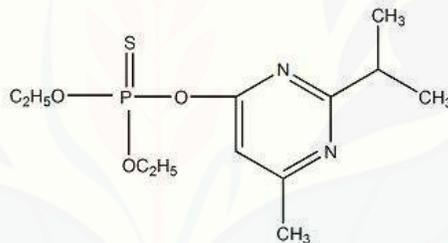
Residu pestisida memiliki arti yaitu sisa-sisa pestisida, termasuk hasil perubahannya yang terdapat atau dalam jaringan manusia, hewan, tumbuhan, air, udara atau tanah. Istilah ini mencakup juga senyawa turunan pestisida, seperti senyawa hasil konversi, metabolit, senyawa hasil reaksi, dan zat pengotor 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 enzimatik 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, petroleum 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)fosforotioat. 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).

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 yaitu dengan penyinaran di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm atau 365 nm untuk menampakkan noda yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet atau berfluoresensi (Gandjar dan 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.

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 :

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

$$b = \text{kemiringan (slope) dari regresi linier}$$

(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 pestisida pertama dilakukan pada hari ke-7 setelah tanam dan 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 (sampel 1, 2, 3, dan 4).

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 10x10x5 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 noda 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 Recovery (% perolehan kembali)

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 μL 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 :

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

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

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

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.

