



**BIOSENSOR OPTIK BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE
UNTUK DETEKSI PESTISIDA GOLONGAN KARBAMAT PADA
SAYURAN**

SKRIPSI

Oleh :

Mochamad Rafli Taufikurrohman

NIM 142210101020

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**BIOSENSOR OPTIK BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE
UNTUK DETEKSI PESTISIDA GOLONGAN KARBAMAT PADA
SAYURAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

Mochamad Rafli Taufikurrohman

NIM 142210101020

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa, dengan segala rahmat, hidayah, karunia, serta petunjuk-Nya yang telah memberikan segala yang terbaik terhadap hamba-Nya.
2. Ayahanda Mochamad Rofi'i dan Ibunda Liana Fatin Akhiatik tercinta, yang selalu selalu memberikan dukungan dan do'a serta semangat yang mengalir tiada henti kepada penulis.
3. Bapak dan Ibu guru serta dosen yang telah membimbing penulis dan memberikan ilmunya sedari penulis yang dimulai dari bangku TK Sunan Ampel Tuban, SD Negeri Mojoroto 3 Kediri, SMP Negeri 4 Kediri, SMA Negeri 7 Kediri dan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.
5. Teman-teman Fakultas Farmasi Universitas Jember angkatan 2014 (Pharmagen) yang selalu memotivasi dan memberikan semangat serta dukungan.

MOTTO

“Inilah aku, bukan inikah aku
buktikanlah bahwa kamu adalah dirimu sendiri.”

(Bradikinin ;'14)

“Jangan pernah berjalan mundur, berjalanlah ke depan walaupun terlambat
Demi tercapainya suatu tujuan.”

(Rif'at Salsabila)

“Jangan biarkan hari kemarin merenggut banyak hari ini.”

(Will Rogers)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mochamad Rafli Taufikurrohman

NIM : 142210101020

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: Biosensor Optik Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase untuk Deteksi Pestisida Golongan Karbamat pada Sayuran adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 November 2018

Yang menyatakan,

Mochamad Rafli Taufikurrohman

NIM 142210101020

SKRIPSI

**BIOSENSOR OPTIK BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE
UNTUK DETEKSI PESTISIDA GOLONGAN KARBAMAT PADA
SAYURAN**

Oleh :

Mochamad Rafli Taufikurrohman

NIM 142210101020

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Biosensor Optik Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase untuk Deteksi Pestisida Golongan Karbamat pada Sayuran” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Jumat, 30 November 2018

tempat : Ruang Multimedia Fakultas Farmasi

Ketua

Anggota I

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc, M.Sc-Res, Ph.D.,Apt.

NIP. 196902011994031002

NIP. 197807212003121001

Anggota II

Anggota III

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP. 198204062006042002

NIP. 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Biosensor Optik Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase untuk Deteksi Pestisida Golongan Karbamat pada Sayuran ; Mochamad Rafli Taufikurrohman, 142210101020; 2018; 106 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pemberian pestisida merupakan salah satu upaya yang dilakukan oleh para petani untuk meningkatkan produksi pertanian mereka dengan tujuan agar tanaman tidak dirusak oleh hama. Pada praktik di lapangan masih banyak petani yang menggunakan pestisida, meskipun telah diterapkannya Pengendalian Hama Terpadu (PHT) (Munarso dkk., 2009). Di daerah Kabupaten Jember, pestisida yang banyak digunakan adalah golongan karbamat. Pestisida dapat memberikan dampak berupa kematian karena kejang bronkus, dehidrasi, paralisis otot pernafasan hingga menyebabkan kelumpuhan jika dikonsumsi dalam waktu yang lama (Wispriyono dkk., 2013). Berdasarkan penelitian (Mutiatikum, 2009) didapatkan penggunaan pestisida terutama karbamat pada produk pertanian sebesar 0,0296 - 0,0755 mg/kg, sedangkan Batas Maksimum Residu (BMR) untuk pestisida karbamat sebesar 0,01 mg/kg/hari.

Metode analisis standar yang umum digunakan untuk penentuan suatu pestisida antara lain kromatografi cair, kromatografi cair kinerja tinggi, dan kromatografi gas. Akan tetapi dibutuhkan waktu yang cukup lama, tenaga yang terampil dan persiapan preparasi sampel dalam penggunaan metode tersebut (Kuswandi dkk., 2007).

Biosensor berpotensi digunakan sebagai metode di lapangan dan dapat diterapkan untuk identifikasi sampel yang memiliki potensi berbahaya. Analisis menggunakan biosensor memiliki kelebihan yaitu biaya yang rendah, waktu pengujian yang singkat dengan jumlah sampel yang sedikit (Pogačnik dan Franko, 2003). Kemudian dikembangkan biosensor *Lab on Tip* (LOT) dengan detektor serat optik untuk identifikasi kandungan pestisida dalam sayuran. LOT tersebut dibuat dari tip mikropipet berisi kertas biosensor yang terimobilisasi enzim

asetilkolinesterase dan indikator *bromothymol blue*. Kemudian dilakukan pembacaan hasil menggunakan tembakan optik setelah melakukan penambahan pestisida maupun substrat yang diolah menggunakan komputer. Biosensor tersebut merupakan sensor yang dapat mendeteksi keberadaan dari pestisida berdasarkan pengaruh perubahan pH setelah terjadi reaksi antara reagen (asetilkolinesterase) dan analitnya (pestisida).

Fabrikasi dari biosensor LOT mendapatkan hasil linieritas dengan rentang konsentrasi 0,01 ppm – 22 ppm dengan persamaan regresi yang didapatkan adalah $y = 0,0023x + 0,0139$ dengan koefisien korelasi atau nilai $R = 0,992572$. Biosensor LOT ini tidak akan terganggu dengan adanya kuersetin dan amilum dengan perbandingan kadar standar pestisida (karbosulfan) dan kuersetin maupun amilum sebesar 1:100. Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan adalah 0,01 ppm sedangkan nilai batas kuantitasi (LOQ) adalah 0,03 ppm. Pada perhitungan presisi diperoleh nilai $RSD = 5,17\%$. Pada penentuan akurasi menggunakan biosensor LOT mendapatkan % *recovery* rata-rata sebesar 91,79%.

Berdasarkan hasil aplikasi biosensor LOT pada sampel, metode biosensor *Lab on Tip* sebagai sensor pendeteksi pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengetahui kandungan residu pestisida pada sayuran yang telah beredar di pasaran.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Biosensor Elektrokimia untuk Pestisida Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase pada Sampel Sayuran”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian serta dengan sabar membimbing dan membantu penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
3. Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc, M.Sc-Res, Ph.D., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Dwi Koko Pratoko, S.Farm., MSc., Apt. selaku Dosen Penguji II yang dengan sabar memberikan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., MSc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama saya menjadi mahasiswa;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu dan berbagi pengalaman selama masa perkuliahan, juga staf dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama saya menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Ibu Wayan dan Ibu Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang selalu menyemangati dan sabar dalam membantu serta memberikan saran selama penulis melakukan penelitian;

7. Orang tua tercinta Bapak Mochamad Rofi'i dan Ibu Liana Fatin Akhlatik yang senantiasa memberikan semangat, do'a, dukungan, kasih sayang dan motivasi untuk penulis selama menyelesaikan skripsi ini;
8. Rekan laboratorium kimia dan sensor (Suhariyanti, Ary, Lelly, Arum, Qeqek, Reza, Rizki, Alfi, Zahra Yuliana, Liya, Ain, Putu, Osi, Mia, Eva, Mila, Fajar, Sheila, Agus, Fitri dan Erika) yang selalu saling mendukung satu sama lain;
9. Tentor (Mas Hilmi dan Mbak Galen) yang selalu menyemangati dan selalu memberikan masukan serta dukungan;
10. Sahabat Anjing Imut (Rizka, Yogi, Sheila, Jopi dan Ary) yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
11. Rekan seperjuangan calon IAI Kota Kediri (Ary, Rath, Yulintan) yang selalu menyemangati dan memberikan masukan;
12. Kencur (Agus, Ain, Putu, Dwi Ayu, Yogi, Della, Respati, Zahra, Liya, Sheila, Rizka, Tya Joppy, Fajar, Ary, Rizki, Fajar) atas segala dukungan dan semangat serta berbagi pengalaman bersama;
13. Sahabat MILO Barata SMAN 7 Kediri (Vabel, Tika, Arin) yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
14. Keluarga Kemasapta Jember yang selalu memberikan semangat dan dukungan;
15. Seorang tercinta (Kintan Gemi Nastiti) dan adik kesayangan (Fikri Syahru Rohmadhon) yang selalu setia memberikan dukungan, masukan, semangat dan do'a selalu;
16. Keluarga BEMF RANGER Fakultas Farmasi Universitas Jember yang selalu memberikan semangat dan dukungan;
17. Komunitas Honda Revo Jember (Anjar, Ghovin, Mas Ridwan, Mas Lukman, Mas Faisol, Mas Chairil, Pak Erik, Dwiki, Bobby, Sintong, Mbak Yeyen);
18. Sahabat satu hobi (Tofek, Eko, Rido) yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan;

19. Teman angkatan 2014 (Pharmagen) Fakultas Farmasi Universitas Jember;
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Hanya do'a yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.



Jember, 30 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Batasan Masalah.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pestisida.....	5
2.1.1 Regulasi Penggunaan Pestisida.....	6
2.1.2 Golongan Pestisida.....	6
2.1.3 Dampak Penggunaan Pestisida	7
2.1.4 Pestisida Golongan Karbamat.....	8

2.2	Biosensor	8
2.2.1	Penggunaan Biosensor	9
2.2.2	Enzim Biosensor	10
2.3	Metode Optik.....	12
2.3.1	Biosensor Serat Optik	13
2.3.2	Instrumentasi	14
2.3.3	Kelebihan Optik dan Kekurangan Sensor Serat Optik.....	15
2.4	Imobilisasi Enzim.....	16
2.5	Tinjauan Enzim	19
2.6	Asetilkolinesterase.....	20
2.7	Reaksi Inhibisi Enzim Karbamat.....	20
2.8	Indikator pH	21
2.9	Biosensor Kertas.....	22
2.10	<i>Lab on Tip</i> (LOT)	22
2.11	Karakteristik Biosensor	24
2.12	Tinjauan metode <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC) untuk Uji Residu Pestisida.....	26
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	28
3.1	Jenis Penelitian	28
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.3	Rancangan Penelitian	28
3.4	Alat dan Bahan	30
3.4.1.	Alat.....	30
3.4.2.	Bahan	30
3.5	Pembuatan Larutan.....	30

3.6	Pembuatan Biosensor Kertas.....	31
3.7	Rangkaian <i>Lab On Tip</i> (LOT).....	31
3.8	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	32
3.9	Optimasi Biosensor	33
3.9.1	Optimasi Volume Kertas Biosensor.....	33
3.9.2	Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum	33
3.9.3	Optimasi Waktu Inhibisi	33
3.10	Imobilisasi Enzim Asetilkolinesterase dan Indikator <i>Bromothymol Blue</i>	33
3.11	Karakterisasi Biosensor	34
3.11.1	Penentuan Linieritas.....	34
3.11.2	Penentuan Batas Deteksi dan Kuantitasi (LOD & LOQ).....	34
3.11.3	Penentuan Selektivitas	34
3.11.4	Penentuan Presisi	35
3.11.5	Penentuan Akurasi	35
3.12	Pengukuran Analit dengan Menggunakan Metode <i>High</i> <i>Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	36
3.12.1	Preparasi Sampel.....	36
3.12.2	Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Karbosulfan pada HPLC.....	36
3.13	Aplikasi Metode Biosensor LOT Dibandingkan dengan Metode HPLC.....	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Fabrikasi Biosensor <i>Lab on Tip</i> (LOT)	38
4.2	Penentuan Panjang Gelombang.....	40
4.3	Optimasi Biosensor <i>Lab on Tip</i> (LOT)	41
4.3.1	Optimasi Volume Kertas.....	41

4.3.2	Penentuan Substrat Optimum.....	42
4.3.3	Optimasi Waktu Inhibisi	43
4.4	Karakterisasi Biosensor	44
4.4.1	Linieritas	44
4.4.2	Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	47
4.4.3	Selektivitas (interferensi)	48
4.4.4	Presiisi	49
4.4.5	Akurasi	50
4.5	Metode Biosensor <i>Lab on Tip</i> (LOT) dibandingkan dengan Metode HPLC.....	51
BAB 5. PENUTUP.....		54
5.1	Kesimpulan.....	54
5.2	Saran	55
DAFTAR PUSTAKA		56
LAMPIRAN.....		60

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sensor enzim serat optik berdasarkan mekanisme transduksi (Marazuela dan Moreno-Bondi, 2002).....	11
Tabel 2.2 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel (Huber, 2007).	25
Tabel 2.3. Persen <i>recovery</i> analit pada konsentrasi yang berbeda (Huber, 2007).	26
Tabel 3.1 Kondisi analisis HPLC (Yusiasih, 2009).....	37
Tabel 4.1 Optimasi AchE dan indikator BTB.....	42
Tabel 4.2 Hasil linieritas	45
Tabel 4.3 Hasil RSD pana linieritas	48
Tabel 4.4 Nilai batas LOD dan LOQ	48
Tabel 4.5 Hasil pengujian selektivitas	49
Tabel 4.6 Hasil uji presisi selama 3 hari	50
Tabel 4.7 Hasil Pengujian akurasi (n=3).....	50
Tabel 4.8 Hasil pengukuran konsentrasi pestisida menggunakan metode LOT dan HPLC.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur kimia karbosulfan (Martindale, 2009)	8
Gambar 2.2 Prinsip kerja biosensor (Kuswandi, 2010)	9
Gambar 2.3 Skematis prinsip kerja enzim biosensor (Kuswandi, 2010)	12
Gambar 2.4 Skema diagram pengaturan instrumen yang khas dan sederhana yang digunakan bersama dengan sensor kimia serat optik	14
Gambar 2.5 Metode adsorpsi (Kuswandi, 2010).	17
Gambar 2.6 Metode <i>entrapment</i> (Kuswandi, 2010).....	17
Gambar 2.7 Metode enkapsulasi (Kuswandi, 2010).	18
Gambar 2.8 Metode ikatan kovalen (Kuswandi, 2010)	18
Gambar 2.9 Metode <i>cross-link</i> (Kuswandi, 2010)	19
Gambar 2. 10 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AChE (Badawy dan Aswad, 2014)	20
Gambar 2.11 Inhibisi AChE oleh karbamat (Marrs dan Ballantyne, 2004).....	21
Gambar 2.12 Struktur kimia <i>Bromothymol Blue</i> (BTB) (De Meyer dkk., 2014) .	22
Gambar 2. 14 Daerah kerja (<i>dynamic range</i>) dari suatu sensor kimia, yang dibatasi oleh LOQ dan LOD (Kuswandi, 2010).....	24
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian	29
Gambar 3.2 Rangkaian <i>Lab on Tip</i> (LOT).....	32
Gambar 4. 1 <i>Lab on Tip</i> (LOT).....	39

Gambar 4. 2 Proses penembakan LOT menggunakan sinar optik.....	39
Gambar 4. 3 Grafik optimasi panjang gelombang	41
Gambar 4. 4 Gambar perubahan warna yang terjadi sebelum dan sesudah dengan substrat	43
Gambar 4. 5 Grafik Optimasi asetilkolinesterase dengan substrat asetilkolinklorida	43
Gambar 4.6 Grafik waktu inhibisi (penghambatan).....	44
Gambar 4. 7 Kurva kalibrasi inhibisi karbosulfan terhadap konsentrasi AchE	46
Gambar 4. 8 Kurva kalibrasi % inhibisi pestisida karbosulfan terhadap log konsentrasi AchE	47
Gambar 4. 9 Foto perubahan warna pada LOT.....	53

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia terkenal sebagai negara agraris karena dari sekian banyak penduduk Indonesia sebagian masyarakatnya bermata pencaharian sebagai petani. Hasil pertanian di Indonesia dapat berupa padi, jagung, kedelai, sayur-sayuran, cabai, ubi dan masih banyak lainnya. Iklim tropis di Indonesia sangat mendukung dimana sinar matahari bersinar sepanjang tahun yang membuat petani Indonesia dapat bercocok tanam sepanjang tahun. Dari sektor pertanian inilah Indonesia dapat menjadi semakin makmur dengan pengelolaan yang baik dengan tercukupinya kebutuhan yang sangat penting yaitu kebutuhan pangan masyarakat Indonesia, sehingga tidak perlu menunggu bahan pangan dari luar negeri. Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) pada bulan Februari 2017, penduduk yang bekerja pada sektor pertanian sebesar 31,83 %.

Hasil yang bagus dalam sektor pertanian diperlukan berbagai sarana yang dapat membantu dalam pencapaian hasil yang baik. Sarana yang dapat mendukung pada sektor pertanian adalah alat-alat pertanian, pupuk, dan bahan-bahan kimia salah satunya pestisida.

Pemberian pestisida merupakan salah satu upaya yang dilakukan oleh para petani untuk meningkatkan produksi pertanian mereka dengan tujuan agar tanaman tidak dirusak oleh hama. Pada tanaman pangan sayur-sayuran terjadi peningkatan 20 kali penggunaan pestisida dalam 25 tahun terakhir. Pada praktik di lapangan masih banyak petani yang menggunakan pestisida, meskipun telah diterapkannya Pengendalian Hama Terpadu (PHT) (Munarso dkk., 2009).

Di daerah Kabupaten Jember, pestisida yang banyak digunakan adalah golongan karbamat. Dalam praktik pertanian modern, toksisitas akut neurotoksin (sebagai agen saraf) dalam penggunaannya secara meluas menjadi perhatian dari publik, dimana pengembangan teknologi mulai bermunculan untuk menyelesaikan masalah tersebut (Mulchandani dkk., 1999). Pestisida dapat memberikan dampak berupa kematian karena kejang bronkus, dehidrasi, paralisis otot pernafasan

hingga menyebabkan kelumpuhan jika dikonsumsi dalam waktu yang lama (Wispiyono dkk., 2013). Berdasarkan penelitian (Mutiatikum, 2009) didapatkan penggunaan pestisida terutama karbamat pada produk pertanian sebesar 0,0296 - 0,0755 mg/kg, sedangkan Batas Maksimum Residu (BMR) untuk pestisida karbamat sebesar 0,01 mg/kg/hari.

Metode analisis standar yang umum digunakan untuk penentuan suatu pestisida antara lain kromatografi cair, kromatografi cair kinerja tinggi, dan kromatografi gas. Akan tetapi dibutuhkan waktu yang cukup lama, tenaga yang terampil dan persiapan preparasi sampel dalam penggunaan metode tersebut (Kuswandi dkk., 2007).

Biosensor berpotensi digunakan sebagai metode lapangan dan dapat diterapkan untuk identifikasi sampel yang memiliki potensi berbahaya. Analisis menggunakan biosensor memiliki kelebihan yaitu biaya yang rendah, waktu pengujian yang singkat dengan jumlah sampel yang sedikit (Pogačnik dan Franko, 2003).

Pada penelitian ini, dikembangkan biosensor *Lab on Tip* (LOT) dengan detektor serat optik untuk identifikasi kandungan pestisida dalam sayuran. LOT tersebut dibuat dari tip mikropipet berisi kertas biosensor yang terimobilisasi enzim asetilkolinesterase dan indikator *bromothymol blue*. Kemudian dilakukan pembacaan hasil menggunakan tembakan optik setelah melakukan penambahan pestisida maupun substrat yang diolah menggunakan komputer. Biosensor tersebut merupakan sensor yang dapat mendeteksi keberadaan dari pestisida berdasarkan pengaruh perubahan pH setelah terjadi reaksi antara reagen (asetilkolinesterase) dan analitnya (pestisida).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, didapatkan beberapa permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana fabrikasi biosensor dan kondisi optimal biosensor untuk deteksi residu pestisida meliputi konsentrasi substrat asetilkolinesterase, volume enzim asetilkolinesterase dan indikator BTB serta waktu inhibisi enzim oleh pestisida dengan LOT ?
2. Bagaimana karakteristik biosensor pestisida dengan reagen asetilkolinesterase-*bromothymol blue* dalam LOT yang meliputi daerah kerja (linieritas), selektivitas, LOD & LOQ, sensitivitas, presisi, akurasi ?
3. Apakah biosensor kertas dalam LOT dapat diaplikasikan untuk deteksi residu pestisida jenis karbamat pada sampel sayuran ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui fabrikasi dan kondisi optimal biosensor kertas dalam LOT untuk deteksi residu pestisida.
2. Menentukan karakteristik dari analisis pestisida dengan LOT meliputi daerah kerja (linieritas), selektivitas, LOD & LOQ, sensitivitas, presisi, akurasi.
3. Mengetahui kemampuan aplikasi biosensor kertas dalam LOT untuk pendeteksian residu pestisida.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi terkait teknologi sensor fiber optik dengan LOT dan kadar pestisida pada sayuran yang diuji secara lebih cepat dengan menggunakan sensor serat optik dengan LOT.
2. Dapat dijadikan sebagai alternatif dalam pendeteksian pestisida pada sampel sayuran.

1.5 Batasan Masalah

1. Pendeteksian menggunakan pestisida karbamat (karbosulfan) karena jenis pestisida tersebut yang banyak beredar dan digunakan di Jember.
2. Sayuran yang akan digunakan sebagai sampel model yaitu sawi, kubis dan tomat.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, pengertian dari pestisida adalah zat yang beracun untuk membunuh hama; racun pembasmi hama; racun hama. Menurut Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia nomor 39/Permentan/SR.330/7/2015 bahwa pestisida merupakan bahan beracun yang memiliki potensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan keanekaragaman hayati, menyebabkan resistensi, resurgensi, timbulnya hama baru, serta gangguan kesehatan manusia dan makhluk hidup lainnya, sehingga harus dikelola dengan penuh kehati-hatian.

Dalam peraturan menteri tersebut, yang dimaksud pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang dipergunakan untuk :

- a. Memberantas atau mencegah hama-hama dan penyakit yang merusak tanaman, bagian-bagian tanaman atau hasil-hasil pertanian;
- b. Memberantas rerumputan;
- c. Mematikan daun dan mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan;
- d. Mengatur atau merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian-bagian tanaman tidak termasuk pupuk;
- e. Memberantas atau mencegah hama-hama luar pada hewan-hewan piaraan dan ternak;
- f. Memberantas atau mencegah hama-hama air;
- g. Memberantas atau mencegah binatang-binatang dan jasad-jasad renik dalam rumah tangga, bangunan dan dalam alat-alat pengangkutan; dan/atau
- h. Memberantas atau mencegah binatang-binatang yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia atau binatang yang perlu dilindungi dengan penggunaan pada tanaman, tanah atau air.

Pada sektor pertanian, pestisida banyak digunakan untuk mencegah atau mengurangi kerugian akibat hama. Peningkatan hasil dan kualitas produk dapat terjadi dari penggunaan pestisida tersebut, bahkan dalam hal daya tarik kosmetik yang penting bagi konsumen (Damalas dan Eleftherohorinos, 2011).

2.1.1 Regulasi Penggunaan Pestisida

Pengendalian terhadap penggunaan pestisida ketat dilakukan melalui pendaftaran pestisida. Pendaftaran pestisida dilakukan untuk mendapatkan nomor pendaftaran dan izin penggunaan pestisida tersebut sesuai persyaratan yang telah ditetapkan. Peraturan menteri yang telah dibuat dengan nomor 39/Permentan/SR.330/7/2015 dimaksudkan sebagai dasar hukum dalam penyelenggaraan pendaftaran dan perizinanya, yang memiliki tujuan untuk:

- a. Menjamin mutu dan efektifitas pestisida yang diedarkan.
- b. Melindungi masyarakat dan lingkungan hidup dari pengaruh yang membahayakan sebagai akibat penyimpanan, peredaran, dan penggunaan pestisida.
- c. Meningkatkan efisiensi dan efektivitas penggunaan pestisida
- d. Memberikan kepastian usaha dan kepastian hukum bagi pelaku usaha dalam melakukan kegiatan produksi, pengadaan, penyimpanan, dan peredaran pestisida.

2.1.2 Golongan Pestisida

Golongan pestisida berdasarkan sifat kimianya dan cara kerjanya, dibagi menjadi 4 golongan besar, yaitu :

1. Golongan organoklorin disebut juga hidrokarbon klor atau insektisida sintetik yang paling tua memiliki sifat sulit terurai terhadap residunya. Terjadinya hiperaktivitas, gemetar, dan kejang-kejang merupakan gangguan pada sistem saraf pusat. Kematian dapat terjadi akibat kerusakan pada saraf dan otot pada serangga.
2. Golongan organofosfat membuat kekacauan pada sistem pengantar impuls saraf ke sel otot karena penumpukan asetilkolin. Golongan ini bekerja

dengan melakukan penghambatan pada enzim asetilkolinesterase, dengan menghambat impuls menjadi tidak dapat diteruskan dan membuat otot menjadi kejang berakibat terjadinya kelumpuhan (paralisis) sehingga serangga dapat mati.

3. Golongan karbamat merupakan golongan yang memiliki spektrum luas dengan cara membunuh serangga seperti golongan organofosfat. Cara kerjanya pada sistem saraf terjadi penghambatan aktivitas dari enzim asetilkolinesterase. Golongan ini cepat terurai karena memiliki sifat bolak-balik yang reversible pada penghambatan enzimnya sehingga dapat dipulihkan kembali.
4. Golongan piretroid efektif dalam pengendalian sebagian hama, yang mempunyai sifat stabil ketika terkena sinar matahari dan relatif murah. Golongan ini mempengaruhi sistem saraf serangga pada periperal dan sentral. Sebagai racun yang kuat dimana stimulasi yang terjadi pada sel saraf terus berproduksi secara berlebihan sehingga menyebabkan paralisis dan kematian (Abdi Hidayya, 2012).

Mayoritas masyarakat di Kabupaten Jember bekerja sebagai petani. Sehingga penggunaan pestisida banyak digunakan dan diterapkan dengan pemakaian pestisida golongan karbamat yaitu karbosulfan.

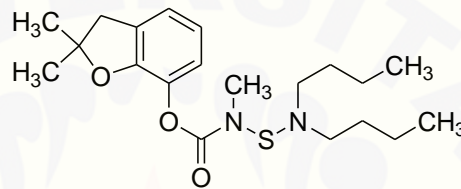
2.1.3 Dampak Penggunaan Pestisida

Penggunaan secara luas, pestisida memiliki resiko kesehatan yang serius timbul dari paparan para petani ketika melakukan pencampuran dan ketika melakukan penerapan pestisida tersebut saat bekerja di ladang dapat menghasilkan residu. Hal ini menyebabkan keracunan yang tidak disengaja, dapat menjadi resiko kesehatan utama bagi petani yang melakukannya dalam jangka pendek maupun dalam jangka panjang serta berdampak pula pada lingkungan (Damalas dan Eleftherohorinos, 2011)

2.1.4 Pestisida Golongan Karbamat

Golongan ini merupakan insektisida yang memiliki sifat sistemik memiliki spektrum luas sebagai nematosida dan akarisida. Furadan adalah nama dagangnya saat pertama kali disintesis pada tahun 1967 di Amerika Serikat (Indraningsih, 2008).

Beberapa golongan pestisida yang banyak beredar seperti organofosfat, *piretroid*, *azole*, *avermectin* dan lain-lain termasuk karbamat adalah pestisida yang sering digunakan oleh petani (Anshori dan Prasetyono, 2016).



Gambar 2.1. Struktur kimia karbosulfan (Martindale, 2009)

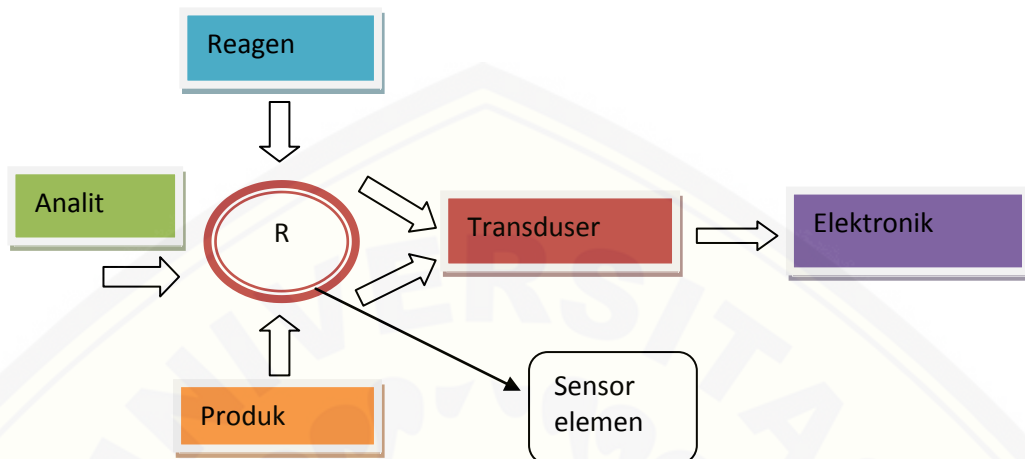
Salah satu jenis pestisida dari golongan karbamat yaitu karbosulfan pada gambar 2.1 dengan rumus kimia *2,3-Dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl (dibutylaminothio) methylcarbamate* dengan rumus kimianya $C_{20}H_{32}N_2O_3S$. Karbosulfan dengan golongan karbamat lainnya memiliki sifat beracun bagi mamalia dengan penghambatan pada enzim asetilkolinesterase (Giri dkk., 2002).

2.2 Biosensor

Biosensor tumbuh secara fenomenal ketika jurnal utama tentang biosensor dan bioelektronik diluncurkan oleh *elsevier* pada tahun 1985. Pada tahun tersebut diterbitkannya sekitar tiga puluhan tentang biosensor dari seratusan yang telah diterbitkan di dunia (Anthony P., 2013).

Biosensor merupakan sebuah piranti analisis dengan material biomolekul (seperti jaringan, mikroorganisme, organella, sel, enzim, antibodi, DNA dan lainnya) atau material biologi, yang terintegrasi dengan transduser fisika-kimia, yang dapat berupa elektrokimia, optik, termometrik, piezoelektrik baik secara diskret atau berkelanjutan yang proporsional terhadap suatu analit tertentu atau

dengan suatu kelompok analit tertentu (Kuswandi, 2010). Berikut gambar 2.2 sebagai prinsip kerja biosensor :



Gambar 2.2 Prinsip kerja biosensor (Kuswandi, 2010)

Biosensor terbagi menjadi tiga bagian penting, yang terdapat pada biosensor agar dapat bekerja secara optimal, yaitu :

- a. Pengenal biologis (pendeteksian secara biomolekul/biokimia), pada bagian ini biasanya biomolekul/bioelemen (enzim, antibody, DNA, sel) diintegrasikan/ditempatkan, dapat disebut imobilisasi pada permukaan sensor.
- b. Transduksi (pengubah sinyal), pada bagian ini transduksi dapat berupa optik atau elektrokimia.
- c. Pengolah sinyal (*signal processing*), pada bagian ini hasil pengolahan sinyal ditampilkan dalam bentuk suatu tampilan atau sebuah *display*/data yang berupa bagian seperti sirkuit elektronik yang memproses atau merubah suatu sinyal menjadi sebuah sinyal listrik dengan adanya penguatan dalam meningkatkan sensitivitas kerja dari suatu biosensor yang menjadi tampilan dari suatu sinyal (*display* pada data/monitor).

2.2.1 Penggunaan Biosensor

Secara potensial penggunaan biosensor ini digunakan untuk diagnostik medis melalui penemuan obat, untuk keamanan makanan, proses pengendalian

dan pemantauan terhadap lingkungan, hingga aplikasi pertahanan keamanan (Anthony P., 2013).

Aplikasi utama biosensor dalam literatur lain, saat ini didominasi pada bidang klinis, seperti pendeteksian glukosa dalam darah mengingat pengaplikasian alat ini dibutuhkan dipasaran sangat besar. Biosensor juga memiliki aplikasi dibidang lainya seperti :

- a. Perawatan kesehatan, biosensor banyak digunakan dalam pengukuran darah, ion, gas dan pengukuran metabolit.
- b. Kontrol dalam proses industri, biasanya digunakan untuk monitoring secara langsung pada proses fermentasi meliputi parameter seperti pH, suhu, karbon dioksida dan oksigen.
- c. Monitoring lingkungan, dimana aplikasi dari biosensor beragam dalam mendeteksi target analit yang berupa polutan yang berada dalam berbagai bentuk matrik seperti dalam air, tanah, udara, dan kondisi lingkungan lainya (Kuswandi, 2010).

2.2.2 Enzim Biosensor

Enzim merupakan suatu komponen biologi yang paling umum digunakan pada penggunaan biosensor dengan serat optik. Hal tersebut memiliki alasan :

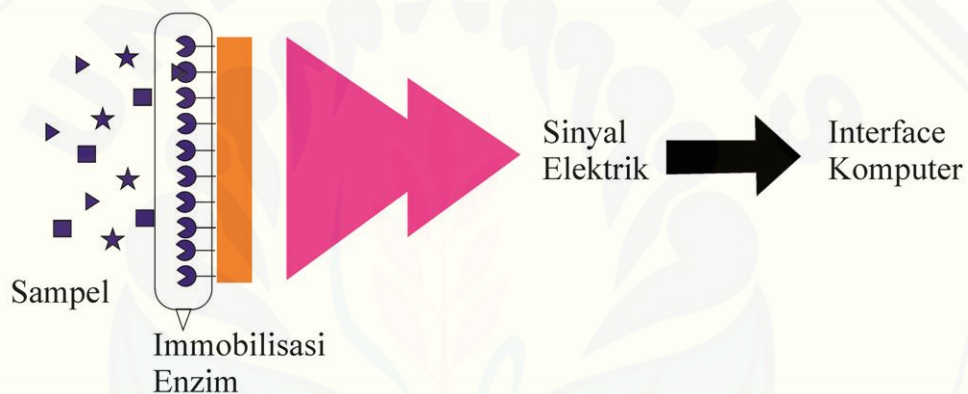
- a. Banyak reaksi yang dapat dikatalisasi.
- b. Memiliki kemungkinan untuk mendeteksi berbagai analit (produk, substrat, inhibitor, dan modulator aktivitas katalitik)
- c. Berbagai prinsip transduksi yang berbeda dapat dipilih dan digunakan untuk mendeteksi analit yang diinginkan (Marazuela dan Moreno-Bondi, 2002).

Tabel 2.1 Sensor enzim serat optik berdasarkan mekanisme transduksi (Marazuela dan Moreno-Bondi, 2002).

Analit	Enzim (s)	Fase Pendukung	Respon	Indikator/reagen
Glucose	Glucose oxidase	Acrylamide gel	Oxygen	$Ru(phen)_3Cl_2$
Glucose	Glucose oxidase	Controlled-pore glass	Oxygen	Pt-octaethylporphine
Bilirubin	Bilirubin oxidase	Acrylamide gel	Oxygen	$Ru(dpp)_3Cl_2$
Phosphatidylcholine	Phospholipase/Choline oxidase	Nylon mesh	Oxygen	$Ru(dpp)_3Cl_2$
Cholesterol	Cholesterol oxidase	Graphite powder	Oxygen	$Ru(dpp)_3Cl_2$
Penicillin	Penicillinase/penicillin-G amidase	Polyvinyl alcohol matrix	pH	Aminofluorescein
Creatinine	Creatinine iminohydrolase	Polyvinyl alcohol matrix	pH	Aminofluorescein
Glucose	Glucose dehydrogenase	Polyvinyl alcohol matrix	pH	Aminofluorescein
Urea	Urease	Polyvinyl alcohol matrix	pH	Aminofluorescein
Urea	Urease	Polyacrylamide/PPY film	pH	Polypyrrole (PPY)
Pesticides	Acetylcholinesterase	Isothiocyanate glass	pH	Thymol blue
Carbamates	Acetylcholinesterase	Controlled-pore glass	pH	Chlorophenol red
Paraoxon	Acetylcholinesterase	Langmuir-Blodgett film	pH	Litmus dye
Organophosphates	Cholinesterase	Sol-gel glass	pH	Indoxyl
Glutamate	Glutamate dehydrogenase	Optical fiber surface	NADH	-
Ethanol	Alcohol dehydrogenase	Langmuir-Blodgett film	NADH	-
Pyruvate	Lactate oxidase/dehydrogenase	Polyvinyl alcohol matrix	NADH	-
AMP, ADP, ATP	Adenylate/creatine kinase/firefly luciferase	Collagen membrane	ATP	Luciferin/ Mg^{2+}
Chlorophenols	Horseradish peroxidase	Collagen membrane	H_2O_2	Luminol
Lactate	Lactate oxidase	UltraBind/Immuno-dye membrane	H_2O_2	Luminol
Choline	Choline oxidase	DEAE Sepharose-PVA gel	H_2O_2	Luminol

Definisi dari IUPAC tentang biosensor menekankan suatu fakta dimana peralatan ini harus mengandung elemen biomolekul yang secara langsung terhubung dengan sebuah transduser, agar dapat digunakan untuk memonitor suatu analit secara kuantitatif maupun secara kualitatif. Sebagai implikasi dari hal tersebut, enzim biosensor dapat dinyatakan sebagai elemen sensoran dengan transduser yang akan menghasilkan sinyal proporsional dengan konsentrasi dari suatu target analit, dapat berupa substrat, inhibitor, atau aktivator. Perubahan dari

konsentrasi proton dapat menghasilkan suatu sinyal, atau dikonsumsi gas-gas tertentu (seperti NH_3 , CO_2 , atau O_2), cahaya emisi absorpsi atau reflektansi, perubahan masa, panas dan lainnya. Pada gambar 2.3 menggambarkan pengonversian sinyal menjadi suatu respon sinyal dapat diukur baik berupa arus, tegangan, absorpsi cahaya, perubahan masa atau suhu, melalui transduksi elektrokimia, piezoelektrik, optik ataupun termometrik. Sinyal yang dihasilkan tersebut akan diproses lebih lanjut dan disimpan ataupun dianalisa (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.3 Skematis prinsip kerja enzim biosensor (Kuswandi, 2010)

2.3 Metode Optik

Serat optik merupakan pengganti kabel konvensional yang fungsinya sebagai kabel daya dengan banyak kelebihan karena pengiriman data yang dihasilkan dimodulasi dengan cahaya sehingga tidak berbahaya. Keunggulan lain dari optik yaitu pengiriman data yang cepat, lebih akurat, terhadap perubahan kondisi lingkungan relatif stabil dibandingkan kabel konvensional. Selain itu optik juga menjanjikan dimana bentuknya berukuran kecil, tidak terinterferensi dengan gelombang elektromagnetik, tahan pada suhu tinggi, transmisi dengan redaman yang kecil, serta memiliki *bandwidth* yang besar (Topan, 2014).

Metode ini menggunakan sinar monokromatik yang melewati sebuah sampel yang dapat dipantulkan kembali (refleksi) atau diteruskan melewati suatu sampel. Panjang gelombang mempengaruhi sinar tersebut, sudut sinar masuk,

komposisi dari sampel yang dianalisis (konsentrasi, jenis molekul dan lainnya) dan ketebalan dari suatu sampel. Energi dari sinar yang dieksplorasi, merupakan suatu gelombang elektromagnetik yang dapat digunakan untuk mengamati perubahan sifat optik dari lingkungan sekitar analit pada suatu sampel. Biosensor dengan menggunakan optik sering disebut dengan *opt(r)ode* yang banyak digunakan dalam pengembangan DNA biosensor (Kuswandi, 2010).

2.3.1 Biosensor Serat Optik

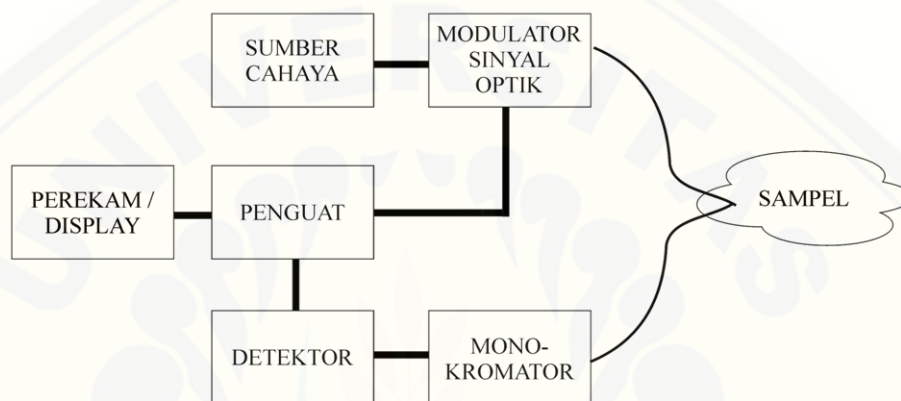
Biosensor serat optik menghasilkan cahaya yang dikirimkan melalui suatu serat optik berdasarkan prinsip refleksi internal total. Biosensor serat optik ialah perangkat analisis, dimana perangkat dari serat optik tersebut memiliki fungsi sebagai elemen transduksi. Tujuan dari penggunaannya untuk menghasilkan sinyal yang sebanding dengan konsentrasi kimia-biokimia yang bereaksi terhadap unsur biologis. Biosensor serat optik ini didasarkan pada suatu transmisi cahaya sepanjang serat kaca silika, atau yang disebut dengan serat plastik optik terhadap suatu analisis. Berbagai kombinasi dapat dilakukan dalam penggunaan biosensor serat optik yaitu dengan berbagai jenis teknis spektroskopi misalnya penyerapan, pendar, fluoresensi, resonansi permukaan plasmon (SPR), dan lainnya.

Penggunaan serat optik dapat diklarifikasikan menjadi dua kategori yang berbeda yaitu : sensor intrinsik dimana interaksi yang terjadi dengan suatu analit terjadi dalam suatu elemen serat optik, dan sensor ekstrinsik, dimana serat optik yang digunakan untuk suatu cahaya yang berpasangan, biasanya ke dan dari suatu daerah sinar dan dipengaruhi oleh suatu pengukuran (Bosch dkk., 2007).

Beberapa contoh percobaan pengembangan suatu biosensor khususnya biosensor berbasis enzim digunakan untuk mendeteksi logam berat dan pestisida dalam sampel lingkungan. Metode yang digunakan yaitu transduksi optik dengan menggunakan serat optik dan metode alir (analisis injeksi alir/*flow injection analysis*) (Kuswandi, 2010).

2.3.2 Instrumentasi

Dasar dari instrumen ini adalah berupa komponen optik dan elektronik dengan sensor serat optik yang sederhana. Sistem instrumentasi khas yang digunakan pada sensor optik ditunjukkan pada gambar 2.4. Selain penggunaan serat optik, bagian lainya berupa sumber cahaya, fotodetektor, penggendeng optik monokromator, modulator, penguat sinyal dan pembacaan hasil.



Gambar 2.4 Skema diagram pengaturan instrumen yang khas dan sederhana yang digunakan bersama dengan sensor kimia serat optik (Nawayanaswamy, 1993)

Prinsip penggunaan atau pengukuran dari sensor ini yaitu sinar yang berasal dari sumber diarahkan pada serat optik, kemudian diarahkan dimana sinar tersebut berinteraksi terhadap transduser biokimia. Kumpulan sinyal optik akan dihasilkan, dan akan tercatat sebagai informasi kimia yang terkumpul oleh serat optik yang sama ataupun berbeda. Berdasarkan prinsip optik yang digunakan atau berdasarkan alat pengukuran utama, absorbansi merupakan hasil pengukuran dari sinyal optik, reflektansi, dan *luminescen*. Pada transduser biasanya terdapat reagen imobilisasi yang memiliki sifat spesifik terhadap suatu analit dan biasanya dapat mengukur suatu analit pada tingkat renik atau berbintik-bintik kecil (Nawayanaswamy, 1993).

2.3.3 Kelebihan Optik dan Kekurangan Sensor Serat Optik

Penggunaan teknologi serat optik telah memberikan penawaran kemungkinan dalam pengembangan berbagai sensor fisik untuk berbagai parameter fisik. Dalam pengembangan sensor serat optik memungkinkan untuk memberikan kinerja yang sangat tinggi dalam suatu respon terhadap berbagai parameter fisik (perpindahan, tekanan, suhu, medan listrik, dan lainnya) dibanding transduser konvensional. Sensor dengan serat optik memiliki keuntungan utama yang terletak pada konstruksi dielektriknya, dimana memberikan isolasi listrik, kekebalan dari *mean* elektromagnetik, dimensi yang kecil, dan kompatibilitas dengan teknologi serat optik. Teknologi ini memiliki suatu pendekatan dimana sensor yang menjanjikan dan pengembangan serat sensor dengan kinerja yang tinggi (S. Miclos, 2001).

Selain itu, sensor kimia fiber optik juga menawarkan beberapa kelebihannya bila dibandingkan dengan jenis sensor lainnya. Dimana ukuran yang kecil dan memiliki berat yang ringan serta memiliki ketahanan terhadap gangguan elektromagnetik. Hal tersebut dikarenakan fiber optik sensor dapat dibuat dari gelas sehingga membuatnya kuat dan tahan terhadap suhu yang tinggi, vibrasi, guncangan, dan dapat diaplikasikan pada suatu lingkungan yang berbahaya (Kuswandi, 2010).

Sensor dengan serat optik juga memiliki kekurangan dan dapat membatasi penerapannya. Interferensi cahaya dapat terganggu, tetapi dapat dihindari atau diakali menggunakan isolasi cahaya yang sesuai, atau dilakukannya modulasi sinyal optik. Kemungkinan terjadinya gangguan ketika pemotretan atau pencucian indikator pada saat indikator digunakan, dan gangguan stabilitas yang terbatas dari suatu komponen biologis yang diimobilisasi, meskipun hal tersebut juga menjadi kelamahan dari suatu transduser lain. Transfer massa antara analit yang digunakan dan sensor menghasilkan waktu respon yang panjang. Aksesoris yang dioptimalkan untuk penggunaan serat optik yang bersifat komersial memiliki sifat terbatas (Marazuela dan Moreno-Bondi, 2002).

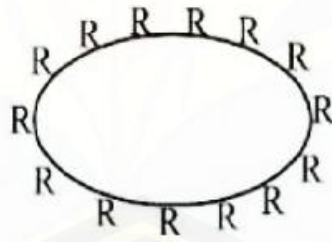
2.4 Imobilisasi Enzim

Enzim yang diimobilisasi merupakan suatu istilah yang mengacu pada enzim-enzim yang secara fisik terbatas atau terlokalisasi pada suatu wilayah ruang tertentu dengan retensi aktivitas katalitiknya, dan dapat digunakan berulang-ulang dan terus menerus. Selain pengaplikasiannya dalam proses suatu industri, teknik imobilisasi ini merupakan dasar untuk membuat sejumlah produk bioteknologi dengan aplikasi dalam diagnostik, kromatografi *bioaffinity*, dan penggunaan pada biosensor (Guisan, 2006).

Imobilisasi enzim merupakan sebuah langkah krusial dan penting dalam pengembangan dan pembuatan desain sebuah biosensor. Dalam penentuan performansi biosensor secara keseluruhan, tahap imobilisasi memiliki peranan yang penting. Imobilisasi enzim yang baik akan memberikan beberapa kelebihan, yaitu terhadap pH dan suhu imobilisasi enzim dapat bekerja pada rentang pH dan suhu yang lebih lebar serta memiliki sifat yang stabil dalam penyimpanannya. Dalam penggunaannya, enzim dapat digunakan berkali-kali pada waktu tertentu, sehingga akan lebih ekonomis dalam penggunaannya. Imobilisasi ini juga memudahkan enzim untuk digunakan dan dimanipulasi. Beragam metode imobilisasi untuk penggunaan enzim telah digunakan dalam pengembangan biosensor, yang secara umum dikategorikan dalam dua bagian, yaitu secara fisika dan secara kimia. Imobilisasi secara fisika dari enzim meliputi adsorpsi, *entrapment*, dan enkapsulasi. Imobilisasi secara kimia meliputi ikatan kovalen dan *cross-linking* dari enzim. Berikut adalah cara imobilisasinya: (Kuswandi, 2010).

a Adsorpsi

Metode fisika yang paling sederhana adalah adsorpsi enzim pada padatan pendukung. Prinsip imobilisasi ini adanya kontak antara enzim dengan adsorben yang digambarkan pada gambar 2.5. Gaya ionik, hidrofobik dan *van der Waal's* merupakan dasar pada proses adsorpsi antara enzim dengan adsorban. Teknik ini cocok untuk penggunaan enzim dengan sekali pakai (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.5 Metode adsorpsi (Kuswandi, 2010).

b Entrapment

Teknik *entrapment* merupakan teknik dimana enzim secara fisik terperangkap didalam seperti pada gambar 2.6, dimana pembentukan matriks polimer yang mengandung/ditambahi oleh suatu enzim. Cara tersebut membuat enzim menjadi tertahan didalam matrik/struktur polimer tersebut, dan adanya difusi kedalam polimer tersebut dari suatu analit (inhibitor, substrat, atau aktivator) (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.6 Metode *entrapment* (Kuswandi, 2010).

c Enkapsulasi

Teknik enkapsulasi adalah teknik dengan melakukan penjeratan/*trapping* pada sebuah membran dalam suatu permukaan pada biosensor seperti pada gambar 2.7. Pada teknik ini biasanya menggunakan sebuah membran semi permeabel yang akan digunakan untuk proses enkapsulasi atau penjeratan suatu enzim pada permukaan sensor. Dengan menggunakan teknik enkapsulasi ini, cukup stabil terhadap perubahan suhu, pH, kekuatan ion, dan komposisi kimia (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.7 Metode enkapsulasi (Kuswandi, 2010).

d Ikatan Kovalen

Teknik ini merupakan teknik yang populer dimana memiliki kelebihan, meliputi ikatan yang dihasilkan dengan suatu enzim lebih stabil digambarkan pada gambar 2.8 . Hal itu membuat tidak mudah putus oleh faktor pengaruh pH, kekuatan ion, suhu, atau karena faktor pelarut. Ikatan dengan suatu enzim dilakukan dengan mengaktivasi gugus fungsi padatan pendukung dengan penggunaan reagen tertentu, kemudian diikuti dengan pencucian enzim terhadap gugus aktif. Setelah itu diikuti dengan pencucian enzim yang tidak terikat dengan gugus aktif tersebut (Kuswandi, 2010).

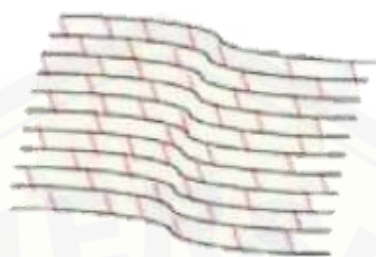


Gambar 2.8 Metode ikatan kovalen (Kuswandi, 2010)

e *Cross-link*

Imobilisasi enzim dengan menggunakan teknik ini menggunakan reagen bifungsional merupakan teknik lain untuk imobilisasi enzim secara kimia. Teknik ini melakukan pengikatan enzim molekul secara *cross-link* dengan suatu agen *cross-linking* seperti *bovine* serum albumin atau *glutaraldehyde*. Prosedur dengan

cara ini cukup menarik karena prosedurnya yang relatif mudah dan adanya ikatan kimiawi yang kuat antara enzim dengan matriks pendukungnya yang digambarkan pada gambar 2.8 (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.9 Metode *cross-link* (Kuswandi, 2010)

2.5 Tinjauan Enzim

Protein yang memiliki fungsi sebagai katalisator berbagai reaksi kimia dalam sistem biologis merupakan pengertian dari enzim. Daya katalitik yang dimiliki enzim besar, dapat meningkatkan kecepatan reaksi hingga satu juta kali lebih cepat jika dibandingkan dengan reaksi tanpa menggunakan enzim. Aktivitas suatu enzim digambarkan dengan kemampuan suatu enzim pada saat mengkatalisis suatu reaksi. Aktivitas tersebut digambarkan melalui jumlah enzim yang menyebabkan berubahnya satu mikromol substrat per menit pada suatu keadaan pengukuran yang optimum (Kusumadjaja dan Dewi, 2005).

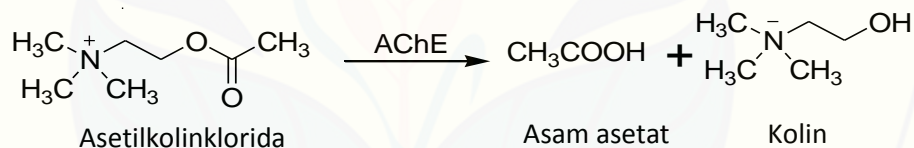
Aktivitas dari suatu enzim dipengaruhi oleh suatu perubahan pH yang dapat membuat enzim menjadi tidak aktif dalam keadaan asam kuat (pH sangat rendah) dan keadaan basa kuat (pH sangat tinggi). Perubahan suatu suhu lingkungan juga sangat berperan, dimana saat terjadi kenaikan suhu enzim akan menjadi bekerja secara cepat dalam kecepatan dua kali lipat dengan kenaikan suhu 10°C dan akan menjadi tidak aktif pada suhu yang sangat tinggi. Konsentrasi dari enzim dan substrat dalam suatu pH dan suhu yang konstan dengan substrat yang berlebih akan membuat laju reaksi sebanding dengan jumlah enzim yang ada. Jika pH, suhu dengan konsentrasi enzim yang konstan akan membuat laju reaksi menjadi reaksi sebanding dengan jumlah substratnya. Inhibitor juga akan menjadi

senyawa penghambat aktivitas dari suatu enzim dengan cara kerjanya bersifat *irreversible* (tidak dapat kembali) dan secara *reversible* (dapat kembali). Berbagai faktor tersebut dapat dikendalikan untuk mencapai aktivitas enzim yang maksimal (Kusumadjaja dan Dewi, 2005).

2.6 Asetilkolinesterase

Enzim asetilkolinesterase (AChE) memiliki fungsi sebagai penanggung jawab dalam penghentian aksi neurotransmitter dari asetilkolin (ACh). ACh bekerja dengan berikatan pada situs aktif AChE. Setelah terjadi pengikatan, neurotransmitter akan bekerja secara cepat menghidrolisis menjadi asam asetat dan kolin (Tara dkk., 1999).

Asetilkolinesterase ketika bekerja dengan pestisida golongan karbamat, maka pestisida tersebut akan memiliki sifat penghambat. Akan tetapi pengaruh terhadap enzim tersebut tidak berlangsung lama, karena memiliki proses yang cepat dan *reversible* (Raini, 2007).



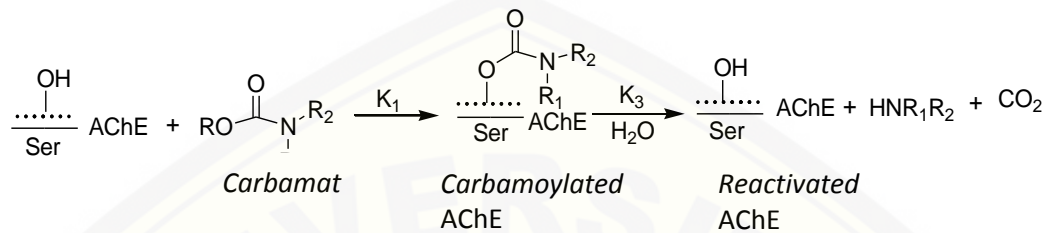
Gambar 2. 10 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AchE (Badawy dan Aswad, 2014)

Gambar 2.10 menggambarkan proses asetilkolinesterase (AChE) mendegradasi molekul asetilkolin dengan menghasilkan kolin dan asam asetat. Penggunaan pestisida golongan organofosfat dan golongan karbamat merupakan inhibitor khusus dari enzim asetilkolinesterase (Badawy dan Aswad, 2014).

2.7 Reaksi Inhibisi Enzim Karbamat

Pestisida karbamat memiliki aktivitas dengan aksi penghambatan pada kolinesterase (Deutsch, 1966). Insektisida karbamat yang menghambat AchE

memiliki mekanisme yang identik dengan insektisida organofosfat. Pada langkah awal penghambatannya melibatkan pembentukan kompleks inhibitor enzim menjadi karbamilasi dari *serine hydroxyl* (gambar 2.11) mengakibatkan terjadinya penghambatan enzim (Fukuto, 1990).



Gambar 2.11 Inhibisi AChE oleh karbamat (Marrs dan Ballantyne, 2004)

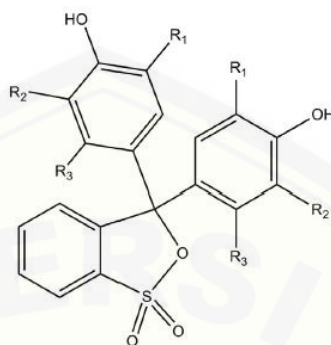
Meskipun proses penghambatan pada AChE oleh karbamat dan organofosfat memiliki kemiripan, tetapi ada perbedaan yang jelas dalam reaksi antar kedua jenis pestisida yang digunakan tersebut. Dimana reaktivitas secara kimia pada organofosfat memiliki aktivitas antikolinesterase yang tinggi, sedangkan pada karbamat memiliki kecocokan yang baik pada situs aktif enzim yang sangat penting dalam aktivitas antikolinesterase yang tinggi (Fukuto, 1990).

2.8 Indikator pH

Pengembangan sensor dengan serat optik dalam pengukuran suatu pH, *Phenolsulfonephthalein* dan *3,3 dibromothymolsulfonephthalein* (*Bromothymol Blue* /BTB) merupakan pewarna yang molekulnya terikat secara kovalen pada permukaan yang fleksibel terhadap serat optik. Sehingga pewarna ini merupakan salah satu pewarna yang sensitif terhadap pH dalam kisaran fisiologisnya (Puschett dkk., 1991).

Bromothymol blue dengan struktur pada gambar 2.12 memiliki sifat sebagai asam lemah dalam larutan. Hal ini membuat BTB berada dalam bentuk terprotonasi atau terdeprotonasi, yang menghasilkan warna kuning dan biru. Senyawa ini berwarna biru laut yang terang dan biru kehijauan dalam larutan netral. (De Meyer dkk., 2014). Indikator *bromothymol blue* memiliki rentang kerja

pada pH 6,0-7,6, yang menghasilkan warna kuning pada rentang pH 6 ke bawah dan berwarna biru pada pH 7,6 (Sabnis, 2008).



Gambar 2.12 Struktur kimia *Bromothymol Blue* (BTB) (De Meyer dkk., 2014)

2.9 Biosensor Kertas

Perangkat yang memiliki basis kertas merupakan suatu teknologi baru dari sistem analisis total yang terdapat pada kertas atau material seperti kertas. Kertas ini merupakan suatu alternatif pendeteksian di tempat karena mudah dalam penggunaannya, murah, *portable* dan mudah digunakan. Beberapa karya analisis pestisida telah dilakukan dengan melakukan uji penghambatan AchE yang diletakan di atas kertas melalui kuantifikasi kalorimetri dari produk hidrolisis katalis AchE. Dimana perubahan warna yang terjadi tergantung dari konsentrasi pestisida yang menghambat aktivitas AchE (Apilux dkk., 2015).

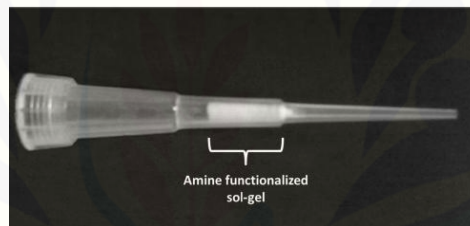
Biosensor kertas yang digunakan dalam pendeteksian pestisida ini dari bahan utama kertas saring (*whatman*) yang terbuat dari selulosa. Penelitian ini menggunakan alat plong kertas untuk mendapatkan desain bulatan dari kertas saring (*whatman*) tersebut.

2.10 Lab on Tip (LOT)

Pengembangan *Lab on Tip* (LOT) pada beberapa tahun belakangan ini, telah dilakukan pengembangan secara *modern* dengan tingkat efisiensi yang

tinggi. Selain itu pengujian menggunakan teknologi ini lebih cepat dan memiliki kepekaan yang tinggi. Beberapa penelitian yang telah dikembangkan memfokuskan pada LOC yang bertujuan untuk menghasilkan suatu *platform* komplementer *Lab on Tip* (LOT) yang mengintegrasikan satu maupun beberapa fungsi laboratorium menjadi satu miniatur tip. Uji ini bisa dilakukan dengan optik, listrik maupun mekanik. Salah satu contoh dari *platform* LOT yaitu dengan memanfaatkan sensor optik, termometer, dan juga endoskopi. Dan sebagian besar perangkat LOT bersifat makroskopik (Quan dan Zhang, 2015).

Percobaan telah dilakukan dalam pengembangan *lab on tip* menggunakan sol gel pada gambar 2.13, untuk aplikasi *phosphopeptide* dari campuran β -casein dan BSA *dicests* (β -casein: BSA 1:50 dalam mol) menggunakan tip yang diisi dengan sol β -fungsionalisasi amina (Atakay dkk., 2012).



Gambar 2.13 *Lab on Tip* (LOT) (Atakay dkk., 2012)

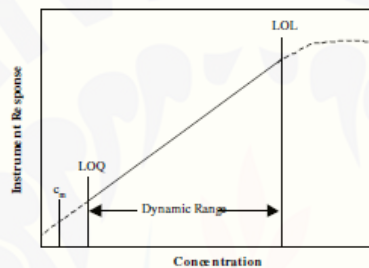
Lab on tip merupakan suatu pengembangan teknologi dengan menggabungkan media kertas biosensor dengan tip mikropipet, dimana kertas biosensor tersebut dimasukan kedalam tip mikropipet dan analisisnya dilakukan secara langsung pada tip mikropipet menggunakan penembakan optik.

Biosensor kertas sebelumnya diberi *Polivinil Alkohol* (PVA) yang merupakan polimer sintesis larut dalam air memiliki fungsi sebagai agen pelapis, pelumas, agen stabilitas sebagai pengikat untuk mencegah kebocoran, dan sebagai agen peningkat viskositas (Rowe dkk., 2009). Kemudian diberikan enzim AChE dan indikator warna BTB sehingga siap dimasukan ke dalam tip mikropipet. Analisisnya dilakukan dengan menarik substrat maupun pestisida seperti pada gambar 3.2, perubahan warna yang terjadi dianalisis melalui hasil pembacaan optik.

2.11 Karakteristik Biosensor

a Linieritas

Daerah kerja pada sensor kimia (*dynamic range*) merupakan daerah/*range* suatu konsentrasi untuk sensor kimia agar dapat mendeteksi analit, yang dimulai dari konsentrasi terendah dimana pengukurannya dapat dilakukan (LOQ) hingga pada konsentrasi tertinggi dimana kurva kalibrasinya mulai menyimpang dari linieritasnya (LOL), Hal ini dapat digambarkan pada gambar 2.14 (Kuswandi, 2010).



Gambar 2. 14 Daerah kerja (*dynamic range*) dari suatu sensor kimia, yang dibatasi oleh LOQ dan LOD (Kuswandi, 2010).

Menurut Harminta 2004, Linieritas merupakan kemampuan dari metode analisis yang dapat memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan suatu transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam suatu sampel.

b Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas kuantitasi (LOQ) merupakan konsentrasi terendah dalam pengukuran yang dapat dilakukan (Kuswandi, 2010). Batas deteksi (LOD) merupakan jumlah terkecil dari suatu analit dalam suatu sampel yang dapat terdeteksi dan masih memberikan respon signifikan dibanding blangko (Harmita, 2004).

c Selektivitas

Selektivitas merupakan salah satu karakteristik paling penting, dimana dalam biosensor memiliki kemampuan untuk membedakan antara komponen yang berbeda. Hal ini secara prinsip merupakan fungsi dari elemen biologis, meskipun kadang operasi dari sebuah transduser memberikan selektivitas yang tinggi (Eggins, 1996). Menurut (Harmita, 2004), selektivitas atau spesifitas merupakan suatu metode yang kemampuannya hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang kemungkinan terdapat dalam matriks sampel.

d Presisi

Presisi dalam sensor kimia dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap respon lainnya terhadap analit yang sama. Selain itu juga dinyatakan sebagai kesesuaian dalam pengulangan pengukuran, sehingga dapat dikatakan sebagai deviasi dari *mean* atau rata-rata. Presisi pada biosensor terhadap suatu analit dapat dikatakan baik apabila terdapat kesesuaian antara satu respon terhadap respon lainnya dinyatakan dengan standar deviasi relatif (RSD) <5%. (Kuswandi, 2010)

Tabel 2.2 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel (Huber, 2007).

Analit pada matrik sampel (%)	Unit	RSD (%)
100	100%	1,3
≥10	10%	2,8
≥1	1%	2,7
≥0,01	0,1%	3,7
0.01	100 ppm	5,3
0.001	10 ppm	7,3
0.0001	1 ppm	11
0,00001	100 ppb	15
0,000001	10 ppb	21

e Akurasi

Kecermatan dari hasil analisis sangat tergantung terhadap kesalahan pada keseluruhan tahapan analisis. Kecermatan yang tinggi dapat dilakukan dengan mengurangi kesalahan, seperti dalam penggunaan peralatan yang sudah di kalibrasi, dengan menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan terhadap suhu dan pelaksanaan yang cermat, taat/sesuai dengan prosedur (Harmita, 2004).

Tabel 2.3. Persen *recovery* analit pada konsentrasi yang berbeda (Huber, 2007).

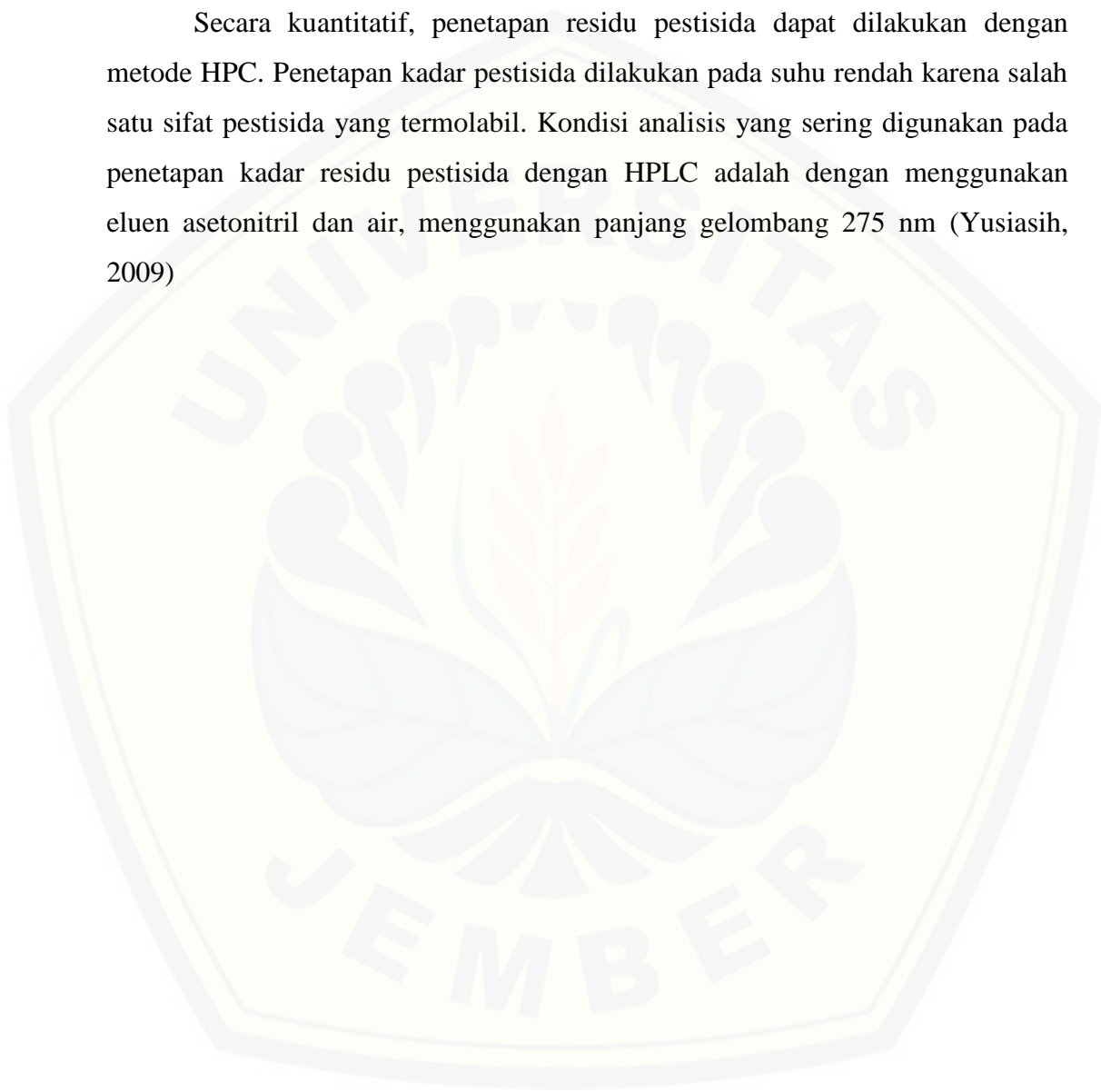
Analit pada matrik sampel (%)	Unit	Rata-rata yang diperoleh
100	100%	98-102
≥ 10	10%	98-102
≥ 1	1%	97-103
$\geq 0,01$	0,1%	95-105
0.01	100 ppm	90-107
0.001	10 ppm	80-110
0.0001	1 ppm	80-110
0,00001	100 ppb	80-110
0,000001	10 ppb	60-115
0,0000001	1 ppb	40-120

2.12 Tinjauan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk Uji Residu Pestisida

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan teknik yang paling banyak digunakan dalam proses pemisahan analisis senyawa, selain itu dapat digunakan untuk mengkuantifikasi dan mengidentifikasi suatu komponen campuran dalam fase larutan. Komponen yang padat, perlu dilakukan preparasi menjadi bentuk larutan terlebih dahulu. HPLC dapat digunakan untuk analisis senyawa yang termolabil, tidak mudah menguap dan memiliki berat molekul yang tinggi. Dasar proses pemisahan adalah perbedaan dari afinitas antara komponen fase gerak dan fase diam. Komponen yang ditahan oleh fase gerak memiliki tingkat pergerakan yang lebih lambat dari pada komponen yang ditahan oleh fase diam. Fase cair dipompa dengan laju yang konstan pada kolom

yang diselubungi oleh fase diam. Sebelum masuk kolom, sampel analisis disuntikan dalam aliran pembawa. Komponen sampel secara selektif saat mencapai kolom akan berinteraksi sesuai dengan sifat fisika kimia (Arora dan Bhanot, 2014).

Secara kuantitatif, penetapan residu pestisida dapat dilakukan dengan metode HPLC. Penetapan kadar pestisida dilakukan pada suhu rendah karena salah satu sifat pestisida yang termolabil. Kondisi analisis yang sering digunakan pada penetapan kadar residu pestisida dengan HPLC adalah dengan menggunakan eluen asetonitril dan air, menggunakan panjang gelombang 275 nm (Yusiasih, 2009)



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan ini adalah penelitian *experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biosensor, Fakultas Farmasi, Universitas Jember dimulai pada bulan Februari 2018 sampai selesai.

3.3 Rancangan Penelitian

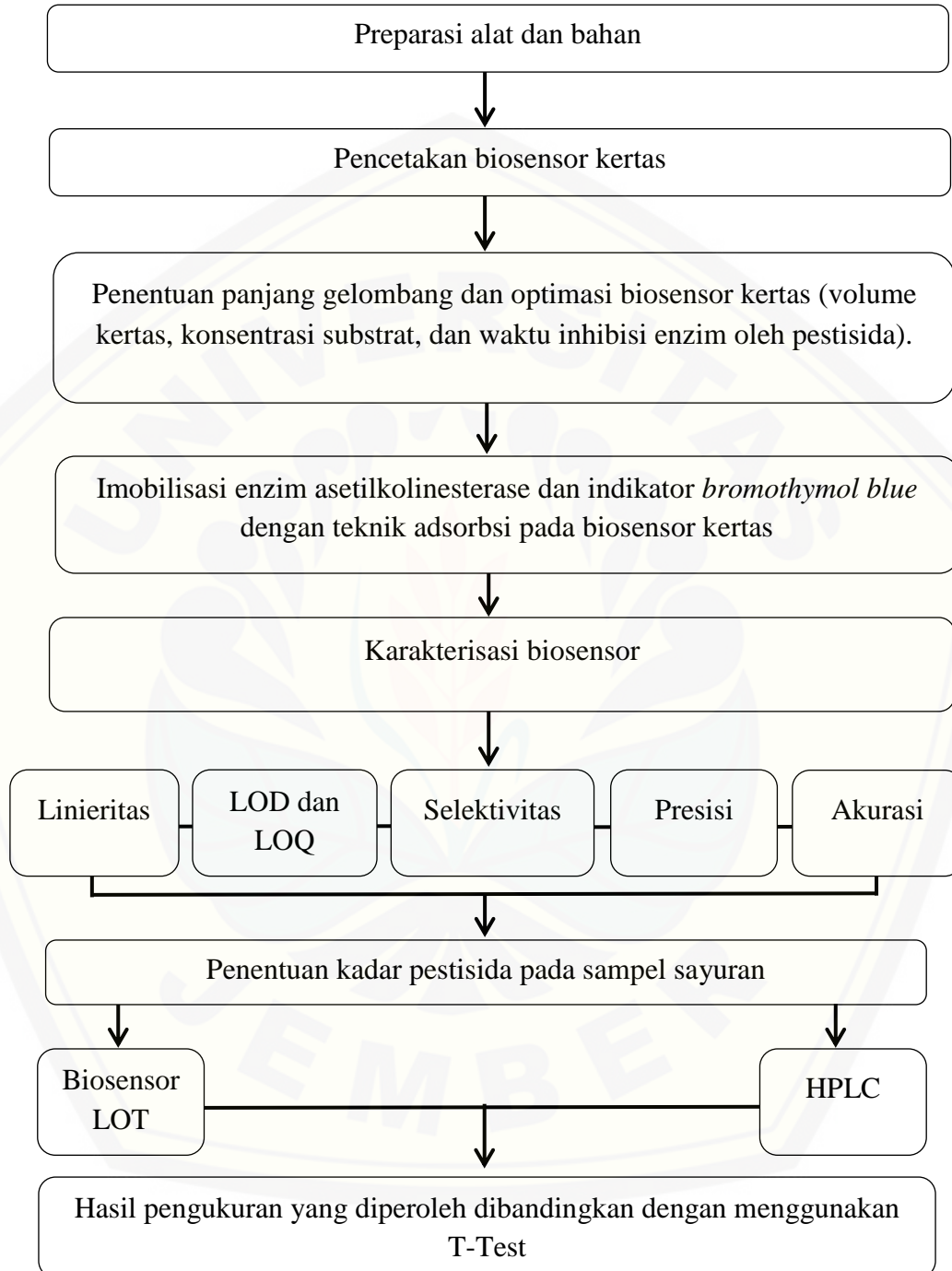
3.3.1. Rancangan Operasional

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Pembuatan biosensor LOT dan imobilisasi enzim AChE pada biosensor LOT.
- b. Optimasi membran biosensor yang terdiri dari optimasi dari volume enzim yang dibutuhkan, volume sampel, indikator dan substrat yang akan diaplikasikan dan optimasi waktu dari inhibisi enzim oleh pestisida.
- c. Karakteristik biosensor LOT meliputi linieritas, batas deteksi dan kuantitasi, selektifitas, presisi, akurasi.
- d. Aplikasi biosensor LOT pada sampel sayuran dengan perubahan warna.

3.3.2 Diagram Alur Penelitian

Diagram alur penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : Optik, *Ocean optics* Spektrofotometer *USB 2000*, *stopwatch*, vial, plat tetes, *beaker glass*, neraca analitik, *ball filler*, tabung *eppendorf*, labu ukur, gelas ukur, pipet volume, mikropipet, tip mikropipet ukuran 10-100 μl (*socorex*), batang pengaduk, pH meter, stirer, magnetik stirer, lemari es.

3.4.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : asetilkolinesterase (EC. 3.1.1.7, *Electrophorus electricus*, 518 IU/mg solid) (*Sigma Aldrich*), kertas saring *whatman cat no 1001-150*, substrat asetilkolinklorida (AchCl) (*Sigma Aldrich*), tris-base (*merck*), indikator *bromothymol blue* (*merck*), HCL 0,1 M, etanol 96%, sampel pestisida golongan karbosulfan 11 gram/L, larutan *buffer* pH 4, larutan *buffer* pH 10, *Polivinil alkohol* (PVA).

3.5 Pembuatan Larutan

a Pembuatan Larutan *Buffer*

Buffer tris (7,5 mM) pH 7,5 dibuat dari larutan tris (*hidroxymethyl*) aminometan dan HCl dengan masing-masing konsentrasi 7,5 mM dalam jumlah yang tepat. Pengujian pH menggunakan pH meter.

b Pembuatan Larutan Asetilkolinklorida

Larutan asetilkolinklorida dibuat dengan menimbang 0,05 gram asetilkolinklorida ($\text{CH}_3\text{COOH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)\text{Cl}^-$) dalam *buffer* tris 7,5 mM pH 7,5, kemudian dilarutkan hingga 1 ml untuk menghasilkan larutan asetilkolinklorida dengan konsentrasi 50.000 ppm.

c Pembuatan Larutan Asetilkolinesterase

Pembuatan larutan asetilkolinesterase dengan menimbang 0,001 gram asetilkolinesterase dalam *buffer* tris 7,5 mM pH 7,5 kemudian di larutkan hingga

1 ml untuk menghasilkan larutan asetilkolinesterase dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut mengandung protein sebanyak 518 U/mg.

d Pembuatan Larutan Indikator *Bromothymol blue*.

Larutan BTB dibuat dalam konsentrasi 6000 ppm dengan menimbang 60 mg kristal BTB kemudian dilarutkan dalam 2 ml etanol 96% dan 8 ml akuades kemudian diaduk hingga homogen.

e Pembuatan Larutan Standar Karbosulfan

Pembuatan larutan induk karbosulfan 11 g/L (11.000 ppm) dilakukan pengenceran dengan *buffer* tris 7,5 mM dengan pH 7,5. Kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi karbosulfan mulai dari 0,11 hingga 1.100 ppm

f Preparasi Sampel

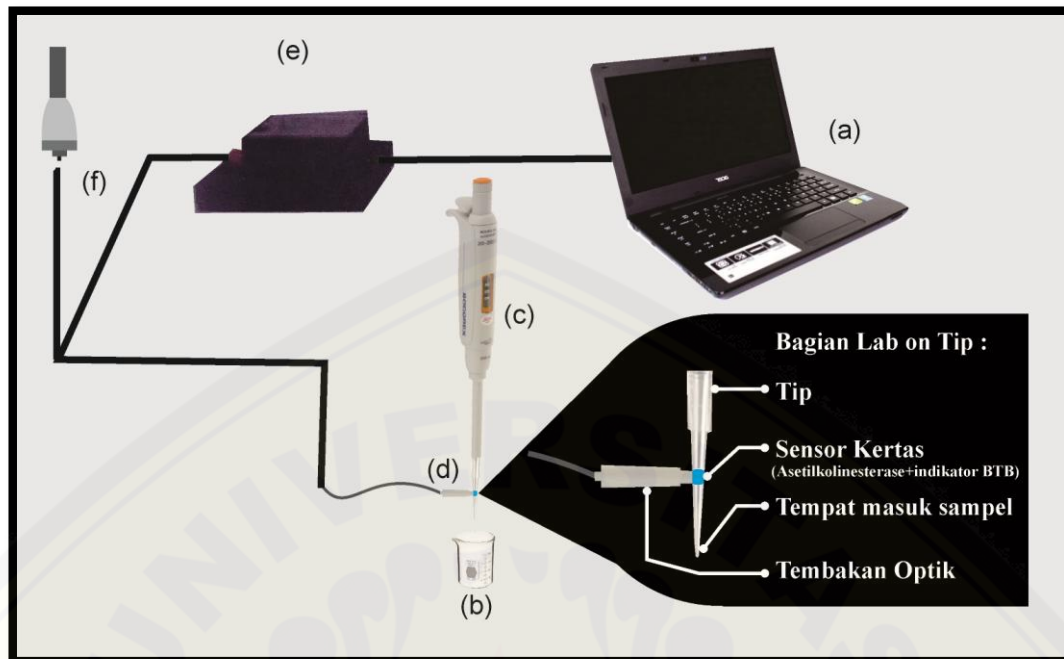
Sampel sayur yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang tinggi seperti sawi, kubis dan tomat yang diperoleh dari salah satu pasar tradisional yang terletak di Kabupaten Jember. Masing-masing sampel dihancurkan menggunakan mortir dan stamper kemudian ditimbang sebanyak 0,5 gram. Selanjutnya sampel sayur diadkan dengan akuades sampai tepat 10 ml. Kemudian di ultrasonik selama 15 menit. Cairan yang telah diultrasonik selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Filtrat yang dihasilkan kemudian digunakan untuk deteksi residu pestisida dengan metode biosensor LOT.

3.6 Pembuatan Biosensor Kertas

Pembuatan biosensor kertas dibuat dari kertas *whatman* yang dicetak menggunakan alat plong kertas dengan diameter 7 mm. Kemudian direndam menggunakan PVA dengan konsentrasi 1% selama 24 jam.

3.7 Rangkaian Lab On Tip (LOT)

Rangkaian *Lab on Tip* atau lab dalam tip dilakukan sedemikian rupa yang ditunjukkan pada gambar 3.2 yang merupakan skema biosensor dan alat lain yang dibutuhkan untuk analisis.



Gambar 3.2 Rangkaian *Lab on Tip* (LOT)

Keterangan :

- (a) Laptop
- (b) Larutan sampel
- (c) Mikropipet
- (d) Tembakan optik
- (e) Detektor
- (f) Sumber sinar

3.8 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menarik substrat asetilkolin klorida dengan konsentrasi 0 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm dan 40.000 ppm. pada biosensor kertas asetilkolinesterase-*bromothymol blue* dalam sistem LOT, kemudian dilihat intensitas tertinggi pada panjang gelombang 380-800 nm menggunakan alat USB 2000 (*Ocean Optic*) spektrofotometer.

3.9 Optimasi Biosensor

3.9.1 Optimasi Volume Kertas Biosensor

Optimasi volume dilakukan dengan cara meneteskan sejumlah volume tertentu yaitu 4 μ l, 8 μ l, 10 μ l dan 12 μ l enzim 1000 ppm pada kertas *whatman cat no* 1001-150 yang berbentuk lingkaran dengan ukuran 7 mm. Volume optimum dipilih ketika kertas biosensor sudah terisi penuh.

3.9.2 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Penentuan konsentrasi substrat asetilkolin klorida yang optimum akan memberikan hasil produk reaksi maksimum. Konsentrasi substrat yang digunakan antara lain 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm dan 50.000 ppm. Konsentrasi substrat yang optimum ditandai dengan nilai intensitas yang tinggi.

3.9.3 Optimasi Waktu Inhibisi

Optimasi waktu inhibisi dilakukan dengan menambahkan pestisida 0,1 ppm pada biosensor LOT yang terdapat asetilkolinesterase 1000 ppm-*bromothymol blue*. Setelah itu diamati intensitas warna selama 5, 10, 15, 20, 25 menit. Perhitungan % inhibisi dihitung pada persamaan 3.1, dikatakan optimum apabila tidak menghasilkan peningkatan % inhibisi yang signifikan pada waktu uji.

$$\% \text{ inhibisi} = (E_0 - E) / E_0 \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : E_0 = respon sensor sebelum diinhibisi

E = respon sensor setelah diinhibisi x 100%

3.10 Imobilisasi Enzim Asetilkolinesterase dan Indikator *Bromothymol Blue*

Proses imobilisasi antara enzim asetilkolinesterase dan indikator warna *bromothymol blue* dilakukan dengan mencampurkan 2 μ l enzim dengan 2 μ l BTB

3.11 Karakterisasi Biosensor

3.11.1 Penentuan Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan dengan mengamati intensitas pada panjang gelombang maksimum larutan standar pestisida 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,11 ppm, 0,55 ppm, 1,1 ppm, 11 ppm, dan 22 ppm menggunakan standar yang akan digunakan pada biosensor kertas asetilkolinesterase-*bromothymol blue*. Data dikatakan linier ketika nilai R mendekati +1 atau -1 (Harmita, 2004), dan nilai *p-value* <0,05 (Ermer and Nethercote, 2015).

3.11.2 Penentuan Batas Deteksi dan Kuantitasi (LOD & LOQ)

Batas deteksi merupakan konsentrasi terkecil dari suatu analit yang masih dapat dideteksi. Batas kuantitasi merupakan konsentrasi terendah dimana pengukurannya dilakukan dengan cermat dan seksama. Penentuan batas deteksi (LOD) dan kuantitasi (LOQ) dilakukan dengan membuat beberapa larutan standar pestisida menggunakan konsentrasi terkecil dari rentang uji linieritas. Kemudian data yang diperoleh diolah menggunakan program *validation method of analysis* sehingga didapatkan kurva linieritas konsentrasi dibanding dengan nilai absorbansi yang telah terinhibisi. Data tersebut akan menghasilkan nilai X_p , yang menunjukkan nilai LOD dihitung dari persamaan regresi. Batas kuantitasi (LOQ) dapat ditentukan dari persamaan 3.2 :

$$LOQ = \frac{10}{3} LOD \quad \dots\dots\dots(3.2)$$

3.11.3 Penentuan Selektivitas

Penentuan selektivitas menggunakan standar karbosulfan 0,1 ppm yang kemudian ditambah dengan kuersetin. Kuersetin tersebut diasumsikan sebagai komponen pengganggu yang terkandung dalam sayuran yang diamati. Kuersetin umumnya komponen yang banyak terdapat pada tanaman (Koirewoa dkk., 2012). Penentuan selektivitas dilakukan dengan membuat perbandingan konsentrasi antara standar dan kuersetin 1:1, 1:10 dan 1:100. Setelah itu dilakukan pengukuran nilai % inhibisi, kemudian membandingkan nilai % inhibisi dari standar karbosulfan 0,1 ppm yang tidak mengandung komponen pengganggu

dengan nilai % inhibisi standar karbosulfan 0,1 ppm yang telah diberi komponen pengganggu. Nilai selektivitas suatu metode dapat dikatakan baik dengan analisis terhadap analit jika % interferensi <5%. Nilai % interferensi dihitung berdasarkan persamaan 3.3.

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\text{spektra uji} - \text{spektra standar}}{\text{Spektra standar}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

3.11.4 Penentuan Presisi

Penentuan presisi dilakukan dengan melakukan pengukuran intensitas konsentrasi pada sample dengan enam kali replikasi. Presisi dari biosensor dikatakan baik apabila kesesuaian respon sinyal intensitas antara satu intensitas dengan intensitas lain dapat dinyatakan dengan koefisien variasi (KV) dalam tabel 2.2 Hubber (Huber, 2007). Perhitungan KV dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan 3.4 dan 3.5.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-x)^2}{n-1}} \dots \dots \dots (3.4)$$

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\% \dots \dots \dots (3.5)$$

Dimana : SD = merupakan standar deviasi untuk ulangan, dalam tiap konsentrasi yang mengandung pestisida

KV = merupakan koefisien variasi

x = merupakan intensitas rata-rata

n = merupakan jumlah pengulangan

3.11.5 Penentuan Akurasi

Akurasi ditentukan dengan menghitung nilai % *recovery* menggunakan metode adisi dengan penambahan analit sebesar 30%, 45% dan 60%. Perubahan warna yang terjadi diamati dengan memasukkan sampel pada area deteksi

biosensor kertas mengandung enzim yang terpasang dalam LOT untuk diamati. Nilai respon yang didapatkan setelah inhibisi, selanjutnya digunakan dalam pengukuran nilai % inhibisi. Konsentrasi pestisida dalam sampel diperoleh dari hasil pengukuran % inhibisi yang dimasukkan ke dalam persamaan regresi. Sehingga dapat ditentukan massa pestisida yang terdapat dalam sampel dari konsentrasi yang didapatkan. Massa pestisida hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan massa pestisida secara teoritis, sehingga dapat ditentukan harga % *recovery*. Nilai % *recovery* dihitung berdasarkan persamaan 3.6, yaitu :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.6)$$

3.12 Pengukuran Analit dengan Menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

3.12.1 Preparasi Sampel

Sampel sayur yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang tinggi seperti sawi, kubis dan tomat yang diperoleh dari salah satu pasar tradisional yang terletak di Kabupaten Jember. Masing-masing sampel dihancurkan menggunakan mortir dan stamper, kemudian ditimbang sebanyak 0,5 g. Selanjutnya sampel sayur ditambahkan dengan metanol sampai tepat 10 ml, kemudian diultrasonik selama 15 menit. Cairan tersebut selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3.000 rpm. Filtrat yang didapat kemudian disaring menggunakan membran penyaring. Hasil yang diperoleh digunakan untuk analisis residu pestisida dengan metode HPLC.

3.12.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Karbosulfan pada HPLC

Kurva kalibrasi standar karbosulfan pada HPLC dibuat dengan membuat seri konsentrasi sebesar 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,11 ppm, 0,55 ppm, 1,1 ppm, 11 ppm, dan 22 ppm. Sehingga dapat diperoleh persamaan regresi yang dapat digunakan dalam penetapan kadar analit dalam sampel sayuran. Dalam pembuatan

kurva kalibrasi dipilih kondisi analisis sesuai optimasi yang dilakukan. Kondisi analisis HPLC dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kondisi analisis HPLC (Yusiasih, 2009)

Pelarut	Metanol
Eluen	Asetinitril : H ₂ O (80 : 20) ml
Fase diam	Kolom RPC-18 25 cm
Panjang gelombang	275 nm
Laju alir	1 ml/menit

3.13 Aplikasi Metode Biosensor LOT Dibandingkan dengan Metode HPLC

Sampel nyata berupa sayuran yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang diambil dari salah satu pasar tradisional di Kabupaten Jember. Sampel sayuran yang digunakan adalah sawi, kubis dan tomat. Selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan biosensor LOT. Pengujian menggunakan biosensor LOT dilakukan dengan cara meneteskan 2 µl AChE pada kertas *whatman* yang telah dicetak bundar 7 mm, kemudian didiamkan selama 20 menit hingga enzim terimobilisasi sempurna. Setelah itu dilakukan penambahan *bromothymol blue* sejumlah 2 µl, kemudian dimasukkan ke dalam LOT. Sampel yang telah disiapkan kemudian ditarik ke dalam LOT sebanyak 100 µl. Kemudian ditambahkan substrat AChCl sebanyak 100 µl. Didapatkan nilai intensitas dari panjang gelombang yang telah terpilih sehingga dapat digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi. Nilai % inhibisi yang didapat kemudian digunakan untuk mengukur kadar analit dalam sampel sayuran. Pada pengujian dengan menggunakan metode HPLC dilakukan dengan mengukur area dari sampel pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Dari nilai area yang diperoleh dapat ditentukan konsentrasi analit dalam sampel. Hasil konsentrasi yang diperoleh dari kedua metode dibandingkan dengan menggunakan metode *T-Test* program spss.16. Kedua metode dapat dikatakan tidak berbeda signifikan apabila nilai signifikansi dari uji *T-Test* >0,05 (Dahlan, 2004).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

- 1 Fabrikasi dan kondisi optimal biosensor *Lab on Tip* (LOT) untuk deteksi pestisida meliputi :

Fabrikasi LOT :

- a. Pembuatan biosensor LOT didesain dengan menggabungkan antara kertas biosensor *whatman* dicetak dengan bentuk lingkaran dengan diameter 7 mm, dan sudah diimobilisasi enzim asetilkolinesterase dan indikator warna *bromothymol blue*. Selanjutnya dimasukkan kedalam tip mikropipet dengan ukuran volume 10-100 μ l.
- b. Proses imobilisasi dilakukan dengan meneteskan enzim asetilkolinesterase-*bromothymol blue*. Selanjutnya akan direaksikan dengan substrat asetilkolinklorida dan pengujian pada sampel.
- c. Proses imobilisasi biosensor LOT dikeringkan dalam lemari es atau suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

Kondisi optimum dalam analisis biosensor *Lab on Tip* (LOT) ialah:

- a. Panjang gelombang yang digunakan 380-850 nm.
- b. Volume optimum yang digunakan tiap penetesan adalah 4 μ l.
- c. Pelarut yang digunakan *buffer* Tris-HCL pH 7,5.
- d. Konsentrasi substrat asetilkolinklorida adalah 40.000 ppm.
- e. Waktu inhibisi enzim asetilkolinesterase adalah 15 menit.

- 2 Karakterisasi biosensor *Lab on Tip* (LOT) meliputi :

- a. Linieritas yang didapatkan dari kurva kalibrasi antara konsentrasi vs % inhibisi. Didapatkan persamaan regresi $y = 0,0023x + 0,0139$ dengan nilai koefisien korelasi atau $R = 0,992572$. Hasil yang

- didapatkan memenuhi persyaratan validasi yaitu R mendekati (+1) atau (-1) dan *p-value* yang didapatkan $<0,05$ yaitu $9,08041 \times 10^{-6}$.
- b. Nilai batas deteksi (LOD) metode LOT adalah 0,01 ppm dan nilai batas kuantitasi (LOQ) adalah 0,03 ppm.
 - c. Biosensor LOT tidak akan terganggu dengan adanya suatu komponen pengganggu berupa kuersetin dan amilum, dengan perbandingan 1:100. Sehingga biosensor kertas dapat dikatakan selektif.
 - d. Nilai RSD yang didapatkan dari hasil penelitian menggunakan biosensor LOT adalah 5,17% memenuhi persyaratan, dimana $RSD < 11\%$.
 - e. Metode biosensor LOT sebagai sensor pendeteksi pestisida memenuhi parameter akurasi dengan % recovery rata-rata sebesar 91,79%.
- 3 Metode biosensor LOT sebagai sensor dalam mendeteksi kandungan pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengukur kandungan pestisida pada sampel sayuran yang beredar di pasaran.

5.2 Saran

Penelitian tentang pengembangan biosensor *Lab on Tip* (LOT) untuk mendeteksi residu pestisida dalam sayuran perlu dikembangkan dengan beberapa saran sebagai berikut :

1. Mengembangkan metode LOT untuk mendeteksi residu pestisida golongan lain, selain golongan pestisida karbamat.
2. Melakukan pengujian residu pestisida terhadap sampel lain berupa buah-buahan.
3. Mengembangkan penilaian validasi yang lebih luas seperti kekuatan (*robustness*) dan ketangguhan (*ruggedness*).
4. Melakukan uji stabilitas untuk melihat masa atau waktu pakai dari sensor LOT.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi Hudayya, H. J. 2012. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerjanya*
- Anshori, A. dan C. Prasetyono. 2016. Pestisida pada budidaya kedelai di kabupaten bantul d. i. yogyakarta. *Caraka Tani - Journal of Sustainable Agriculture*. 31(1):38–44.
- Anthony P., F. T. 2013. Biosensors: sense and sensibility. *Chemical Society Reviews*. 42(8):3184.
- Apilux, A., C. I. N. Ayudhya, T. Tantimongcolwat, dan V. Prachayasittikul. 2015. Paper-based acetylcholinesterase inhibition assay combining a wet system for organophosphate and carbamate pesticides detection. *EXCLI Journal*. 14:307–319.
- Arora dan Bhanot. 2014. *Introduction to Gas Chromatography by Lab-Training*
- Atakay, M., Ö. Çelikbiçak, dan B. Salih. 2012. Amine-functionalized sol-gel-based lab-in-a-pipet-tip approach for the fast enrichment and specific purification of phosphopeptides in maldi-ms applications. *Analytical Chemistry*. 84(6):2713–2720.
- Badawy, M. dan A. Aswad. 2014. Bioactive paper sensor based on the acetylcholinesterase for the rapid detection of organophosphate and carbamate pesticides. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2014
- Bosch, M. E., A. J. R. Sánchez, F. S. Rojas, dan C. B. Ojeda. 2007. Recent development in optical fiber biosensors. *Sensors*. 7(6):797–859.
- Damalas, C. A. dan I. G. Eleftherohorinos. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 8(5):1402–1419.
- De Meyer, T., K. Hemelsoet, V. Van Speybroeck, dan K. De Clerck. 2014. Substituent effects on absorption spectra of ph indicators: an experimental and computational study of sulfonphthaleine dyes. *Dyes and Pigments*. 102:241–250.
- Deutsch, C. H. and E. W. 1966. The use of substituent constants n the study of structure-activity relationships in cholinesterase inhibitors. 126:117–128.
- Eggins. 1996. Biosensors: an introduction. *Advances in Molecular and Cell Biology*. 15(C):349–352.

- Ermer and Nethercote. 2015. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*. Edisi Second, Co. Weinheim, Germany.
- Fukuto, T. R. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*. 87:245–254.
- Giri, S., A. Giri, G. D. Sharma, dan S. B. Prasad. 2002. Mutagenic effects of carbosulfan, a carbamate pesticide. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 519(1–2):75–82.
- Guisan, J. M. 2006. *Immobilization of Enzymes. Immobilization of Enzyme and Cells*.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 117(33):117–135.
- Huber, L. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. 2nd ed. New Yorl. Informa Healthcare USA In; 2007.
- Indraningsih. 2008. Pengaruh penggunaan insektisida karbamat terhadap kesehatan ternak dan produknya. *Wartazoa*. 18(2):101–114.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan W. I. Wiyono. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*pluchea indica* l.). *Pharmacon*. 1(1):47–52.
- Kusumadjaja, A. P. dan R. P. Dewi. 2005. Determination of optimum condition of papain enzyme from papaya var java (carica papaya) penentuan kondisi optimum enzim papain dari pepaya burung varietas jawa. *Indo J. Chem*. 5(2):147–151.
- Kuswandi, B. 2010. *Biosensor: Konsep, Desain Dan Eksperimentasi*. Jember: Jember University Press.
- Kuswandi, B., C. I. Fikriyah, dan A. A. Gani. 2007. An optical fiber biosensor for chlorpyrifos using a single sol-gel film containing acetylcholinesterase and bromothymol blue. *Talanta*. 74(4):613–618.
- Marazuela, M. D. dan M. C. Moreno-Bondi. 2002. Fiber-optic biosensors - an overview. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 372(5–6):664–682.
- Marrs, D. T. T. dan B. Ballantyne. 2004. *Pesticide Toxicology and International Regulation. Pesticide Toxicology and International Regulation*.
- Martindale. 2009. *The Complete Drug Reference*. UK: Pharmaceutical press.

- Mulchandani, A., S. Pan, dan W. Chen. 1999. Fiber-optic enzyme biosensor for direct determination of organophosphate nerve agents. *Biotechnology Progress*. 15(1):130–134.
- Munarso, Broto, Wisnu, dan Miskiyah. 2009. Studi kandungan residu pestisida pada kubis, tomat, dan wortel di malang dan cianjur. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 5:27–32.
- Mutiatikum, D. 2009. Pemeriksaan residu pestisida dalam komoditiberas yang berasal dari beberapa kota dalam upaya penetapan batas maksimum pestisida (bmr). *Media Litbang Kesehatan*. XIX(2):54–60.
- Nawayanaswamy, R. 1993. Tutorial review. 118(April):1–9.
- Pogačnik, L. dan M. Franko. 2003. Detection of organophosphate and carbamate pesticides in vegetable samples by a photothermal biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 18(1):1–9.
- Puschett, J. B., B. S. Rao, B. M. Karandikar, dan K. Matyjaszewski. 1991. Indicator characteristics of bromothymol blue derivatives. *Talanta*. 38(3):335–338.
- Quan, Q. dan Y. Zhang. 2015. Lab-on-a-tip (lot): where nanotechnology can revolutionize fibre optics. *Nanobiomedicine*. 1.
- Raini, M. 2007. Toksikologi pestisida dan penanganan akibat keracunan pestisida. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*. 17(3):10–18.
- Rowe, R., P. Sheskey, dan M. Quinn. 2009. Handbook of pharmaceutical excipients. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition*. 549–553.
- S. Miclos, T. Z. 2001. Defense technical information center compilation part notice. *Materials Research*. 3:372–376.
- Sabnis, R. W. 2008. Handbook of Acid Base Indicators. 2008.
- Tara, S., V. Helms, T. P. Straatsma, dan J. A. McCammon. 1999. Molecular dynamics of mouse acetylcholinesterase complexed with huperzine a. *Biopolymers*. 50(4):347–359.
- Topan. 2014. Efek gelombang evanescent andeskob topan indra , harmadi. 3(1):8–13.
- Wispriyono, B., A. Yanuar, dan L. Fitria. 2013. Tingkat keamanan konsumsi residu karbamat dalam buah dan sayur menurut analisis pascakolom

kromatografi cair kinerja tinggi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 7(7):317–323.

Yusiasih, R. 2009. Homogenitas target dalam matrik pada analisis residu pestisida karbamat dalam tomat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 55:1–7.



LAMPIRAN

Lampiran A. Foto Alat



A.1 Rangkaian Optik dan Mikropipet



A.2 Laptop



A.3 Mikropipet



A.4 Vial



A.5 Timbangan Analitik



A.6 Ultrasonik Homogenizer



A.7 HPLC



A.8 Ultrasonic homogenizer



A.9 Saringan *buchner*



A.10 Alat – alat gelas



A.11 Lemari pendingin



A.12 *Filter holder*



A.13 pH meter

Lampiran B. Foto Bahan



B.1 Substrat Asetilkolin klorid (AChCl)



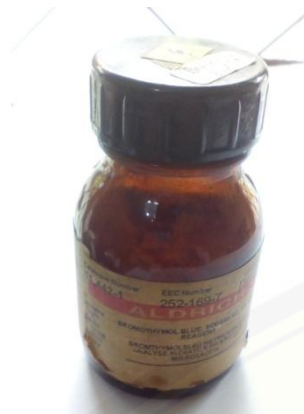
B.2 Enzim Asetilkolinesterase (AChE)



B.3 Pestisida karbosulfan



B.4 Kertas *whatman*

B.5 Indikator *bromothymol blue*

Lampiran C. Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang (nm)	Substrat (ppm)				
	0	10.000	20.000	30.000	40.000
551,35	128,47	129,13	130,72	131,26	132,69
551,67	128,45	129,11	130,71	131,25	132,67
552	128,44	129,09	130,68	131,26	132,66
552,32	128,42	129,07	130,68	131,26	132,67
552,65	128,42	129,06	130,67	131,25	132,68
552,98	128,49	129,04	130,68	131,25	132,78
553,3	128,52	129,04	130,69	131,26	132,78
553,63	128,51	129,1	130,83	131,37	132,79
553,95	128,51	129,1	130,81	131,35	132,76
554,28	128,49	129,09	130,8	131,34	132,76
554,6	128,48	129,08	130,8	131,32	132,75
554,93	128,48	129,06	130,8	131,32	132,75
555,25	128,45	129,05	130,8	131,33	132,77
555,58	128,45	129,04	130,79	131,34	132,76
555,9	128,45	129,01	130,75	131,3	132,76

Lampiran D. Data Penentuan Substrat Optimum

Konsentrasi (ppm)	10.000	20.000	30.000	40.000	50.000
Intensitas	139,29	139,86	140,61	142,86	142,67

Lampiran E. Data dan Perhitungan Optimasi Waktu Inhibisi

E.1 Hasil Optimasi Waktu Inhibisi

Waktu	Intensitas	% inhibisi
5	132,350	0,680%
10	132,210	0,785%
15	131,670	1,191%
20	131,920	1,013%
25	132,600	0,493%
Blangko	133,257	

E.2 Contoh Perhitungan % inhibisi

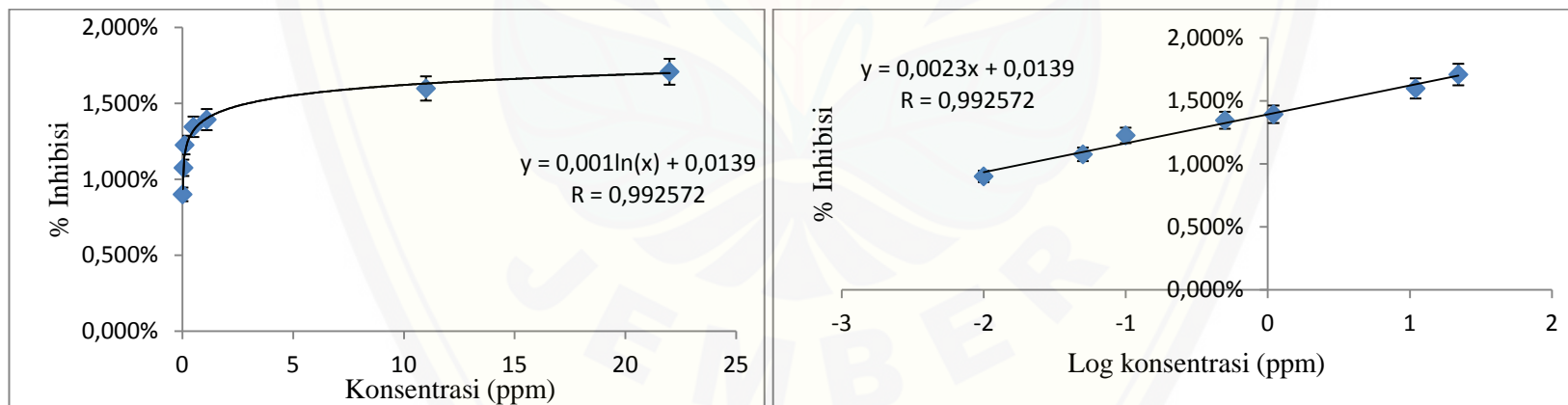
$$\begin{aligned} \text{\% inhibisi} &= \frac{\text{respon sensor sebelum diinhibisi} - \text{respon sensor setelah diinhibisi}}{\text{respon sensor sebelum diinhibisi}} \times 100\% \\ &= \frac{133,257 - 131,373}{133,257} \times 100\% \\ &= 1,413\% \end{aligned}$$

Lampiran F. Data dan Perhitungan Linieritas

F.1 Data konsentrasi Standar Pestisida

konsentrasi	Blangko	Repikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	rata" intensitas	Δ intensas	% inhibisi	SD	RSD
0,01	133,257	132,010	132,070	132,090	132,057	1,200	0,009005	0,042	0,032%
0,05	133,257	131,250	132,430	131,790	131,823	1,433	0,010756	0,591	0,448%
0,1	133,257	131,750	131,580	131,540	131,623	1,633	0,012257	0,112	0,085%
0,5	133,257	131,530	131,170	131,690	131,463	1,793	0,013458	0,266	0,203%
1,1	133,257	131,540	131,820	130,840	131,400	1,857	0,013933	0,505	0,384%
11	133,257	130,170	131,410	131,800	131,127	2,130	0,015984	0,851	0,649%
22	133,257	131,040	131,190	130,710	130,980	2,277	0,017085	0,246	0,187%

F.2 Kurva Hasil Penentuan Linieritas



Lampiran G. Perhitungan Penentuan LOD dan LOQ

G.1 Penentuan LOQ

$$\text{LOQ} = \frac{10}{3} \times 0,01 \text{ ppm}$$

$$= 0,03 \text{ ppm}$$

Lampiran H. Data dan Perhitungan Hasil Uji Selektivitas

H.1 Tabel Hasil Uji Selektivitas

Perbandingan	Bahan	Intensitas			Rata-rata intensitas	Δ intensitas	% inhibisi	% interferensi
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
1:0	0,1 ppm Standar	131,020	131,930	131,660	131,537	1,720	1,291%	-
1:1	0,1 ppm Standar + 0,1 ppm kuersetin	131,730	131,740	131,200	131,557	1,700	1,276%	1,163%
1:10	0,1 ppm Standar + 1 ppm kuersetin	131,870	131,670	130,970	131,503	1,753	1,316%	-1,938%
1:100	0,1 ppm Standar + 10 ppm kuersetin	131,190	131,430	131,980	131,533	1,723	1,293%	-0,194%
1:1	0,1 ppm Standar + 0,1 ppm amilum	131,320	131,820	131,610	131,583	1,673	1,256%	2,713%
1:10	0,1 ppm Standar + 1 ppm amilum	131,300	131,770	131,350	131,473	1,783	1,338%	-3,682%
1:100	0,1 ppm Standar + 10 ppm amilum	131,820	131,440	131,290	131,517	1,740	1,306%	-1,163%

H.2 Perhitungan Selektivitas

a. Pestisida 0,1 ppm : Kuersetin / Amilum 0,1 ppm

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pestisida 0,1 ppm <ul style="list-style-type: none"> ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,1 \text{ ppm}$ | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kuersetin / Amilum 0,1 ppm <ul style="list-style-type: none"> ▪ $1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1000 = 10 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1 = 0,1 \text{ ppm}$ |
|--|--|

b. Pestisida 0,1 ppm : Kuersetin / Amilum 1 ppm

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pestisida 0,1 ppm <ul style="list-style-type: none"> ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,1 \text{ ppm}$ | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kuersetin / Amilum 0,1 ppm <ul style="list-style-type: none"> ▪ $1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1000 = 10 \text{ ppm}$ ▪ $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$ |
|--|--|

c. Pestisida 0,1 ppm : Kuersetin / Amilum 10 ppm

- Pestisida 0,1 ppm
 - 1 ml/10 ml x 11.000 = 1.100 ppm
 - 1 ml/10 ml x 1.100 = 110 ppm
 - 1 ml/10 ml x 110 = 11 ppm
 - 1 ml/10 ml x 11 = 1,1 ppm
 - 1 ml/10 ml x 1,1 = 0,1 ppm
- Kuersetin / Amilum 0,1 ppm
 - 1 ml/100 ml x 1000 = 10 ppm

H.3 Perhitungan % Interferensi

a. Kuersetin

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\% \text{ inhibisi standar} - \% \text{ inhibisi standar dengan pengganggu}}{\% \text{ inhibisi standar}}$$

$$(1:1) = \frac{1,291\% - 1,256\%}{1,291\%} \times 100\% = 2,713\%$$

$$(1:10) = \frac{1,291\% - 1,338\%}{1,291\%} \times 100\% = -1,938\%$$

$$(1:100) = \frac{1,291\% - 1,293\%}{1,291\%} \times 100\% = -0,194\%$$

b. Amilum

$$(1:1) = \frac{1,291\% - 1,276\%}{1,291\%} \times 100\% = 1,163\%$$

$$(1:10) = \frac{1,291\% - 1,316\%}{1,291\%} \times 100\% = -3,682\%$$

$$(1:100) = \frac{1,291\% - 1,306\%}{1,291\%} \times 100\% = -1,163\%$$

Lampiran I. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi

Persamaan regresi yang didapatkan : $y = 0,0023x + 0,0139$

I.1 Hasil Pengujian Repeatabilitas Presisi

Hasil Uji Presisi Hari Pertama

Sampel	Intensitas	Δ Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	% Kadar b/b
1	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
2	131,40	1,857	1,393%	1,0305	0,002059
3	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
4	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001919
5	131,39	1,867	1,401%	1,1163	0,002230
6	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
Rata-rata				0,9983	0,001995
SD				$12,81 \times 10^{-5}$	
%RSD				6,42	

Hasil Uji Presisi Hari Ke dua

Sampel	Intensitas	Δ Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	% Kadar b/b
1	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
2	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
3	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
4	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
5	131,40	1,857	1,393%	1,0305	0,002059
6	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
Rata-rata				0,9724	0,001943
SD				$5,69 \times 10^{-5}$	
%RSD				2,93 %	

Hasil Uji Presisi Hari Ke tiga

Sampel	Intensitas	Δ Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	% Kadar b/b
1	131,40	1,857	1,393%	1,0305	0,002059
2	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
3	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
4	131,39	1,867	1,401%	1,1163	0,002231
5	131,40	1,857	1,393%	1,0305	0,002059
6	131,41	1,847	1,386%	0,9608	0,001920
Rata-rata				1,0099	0,002018
SD				$12,44 \times 10^{-5}$	
%RSD				6,16 %	

I.2 Contoh perhitungan % b/b

a. Kadar sampel :

$$y = 0,0023x + 0,0139$$

$$0,01386 = 0,0023x + 0,0139$$

$$x = -0,0174$$

antilog x = 0,9608 ppm (dalam 10 ml sampel)

b. Masa analit

$$0,9608 \times 10 = 9,608 \text{ ppm}$$

$$9,608 \text{ } \mu\text{l/ml} = 0,009608 \text{ mg/ml}$$

$$\text{c. \%b/b} = \frac{\text{massa analit}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

$$\frac{0,009608 \text{ mg}}{500,4 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,001920 \%$$

I.3 Contoh Perhitungna SD dan % RSD

% b/b	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
0,001920	-0,007466	$5,57 \times 10^{-5}$
0,002059	0,006415	$4,12 \times 10^{-5}$
0,001920	-0,007466	$5,57 \times 10^{-5}$
0,001919	-0,007542	$5,69 \times 10^{-5}$
0,002230	0,023563	$5,55 \times 10^{-4}$
0,001920	-0,007504	$5,63 \times 10^{-5}$
Rata-rata %b/b	0,001995	$\sum(x - \bar{x})^2$
	SD	$1,28 \times 10^{-4}$
	% RSD	6,42

I.4 Hasil Uji Presisi Antara (Selama 3 Hari Berbeda)

Hari Ke-	Kadar % b/b	% RSD (n=6)
1	0,001995	6,42
2	0,001943	2,93
3	0,002018	6,16
Rata-rata RSD/CV		5,17

I.5 Penentuan Konsentrasi Hasil Uji Presisi

Hari ke-	Konsentrasi (ppm)
1	0,998
2	0,972
3	1,010
Rata-rata	0,994

Lampiran J. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Akurasi

Persamaan regresi yang didapat : $y = 0,0023x + 0,0139$

J.1 Hasil Pengujian Akurasi

Adisi 30%	Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi Percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% recovery
Replikasi 1	131,38	1,4083%	1,197	0,01197	0,01292	92,69%
Replikasi 2	131,38	1,4083%	1,197	0,01197	0,01292	92,69%
Replikasi 3	131,37	1,4158%	1,297	0,01297	0,01292	100,41%
Rata-rata % recovery						95,27%
SD						$5,76 \times 10^{-4}$
% RSD						4,68

Adisi 45%	Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi Percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% recovery
Replikasi 1	131,36	1,4233%	1,391	0,01391	0,01441	96,55%
Replikasi 2	131,36	1,4233%	1,391	0,01391	0,01441	96,55%
Replikasi 3	131,35	1,4308%	1,507	0,01507	0,01441	104,59%
Rata-rata % recovery						99,23%
SD						$6,69 \times 10^{-4}$
% RSD						4,68

Adisi 60%	Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi Percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% recovery
Replikasi 1	131,34	1,438%	1,616	0,01616	0,01590	101,66%
Replikasi 2	131,34	1,438%	1,616	0,01616	0,01590	101,66%
Replikasi 3	131,35	1,431%	1,507	0,01507	0,01590	94,79%
Rata-rata % recovery						99,37%
SD						$6,31 \times 10^{-4}$
% RSD						3,99

J.2 Contoh Perhitungan % recovery

$$\% Recovery = \frac{\text{massa hasil percobaan}}{\text{massa teoritis}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery R1} &= \frac{0,01197}{0,01292} \times 100\% \\ &= 92,69\% \end{aligned}$$

J.3 Perhitungan Pembuatan Sampel Adisi

Konsentrasi rata-rata yang didapatkan dari hasil uji presisi 0,5 gram sampel yang dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml adalah 0,993 ppm

- Perhitungan penambahan sampel adisi
 - 30% = 30% x 0,9935 = 0,30 ppm
 - 45% = 45% x 0,9935 = 0,45 ppm
 - 60% = 60% x 0,9935 = 0,60 ppm
- Perhitungan standar karbosulfan (11 g/L = 11.000 ppm)
 - 1ml/10ml x 11.000 ppm = 1.100 ppm
 - 1ml/10ml x 1.100 ppm = 110 ppm
 - 0,5ml/10ml x 110 ppm = 6,0 ppm (untuk sampel adisi 60%)
 - 5ml/10ml x 6 ppm = 3,0 ppm (untuk sampel adisi 30%)
 - 4ml/10ml x 11 ppm = 4,5 ppm (untuk sampel adisi 45%)
- Perhitungan sampel teoritis
 - Sampel adisi 30%

0,5 gram sampel diadkan dalam 10 ml aquadest, diultrasonik, disentrifugasi dan filtrat yang diperoleh + 1 ml standar pestisida 3 ppm dilarutkan dalam aquadest 10 ml.

Konsentrasi teoritis = 0,993 + 0,300 ppm = 1,293 ppm

Massa teoritis = $\frac{1,293}{1000} \times 10 = 0,01293$ mg
 - Sampel adisi 45%

0,5 gram sampel diadkan dalam 10 ml aquadest, diultrasonik, disentrifugasi dan filtrat yang diperoleh + 1 ml standar pestisida 4,5 ppm dilarutkan dalam aquadest 10 ml.

Konsentrasi teoritis = 0,993 + 0,450 = 1,443 ppm

Massa teoritis = $\frac{1,443}{1000} \times 10 = 0,01443$ mg
 - Sampel adisi 60%

0,5 gram sampel diadkan dalam 10 ml aquadest, diultrasonik, disentrifugasi dan filtrat yang diperoleh + 1 ml standar pestisida 6 ppm dilarutkan dalam aquadest 10 ml.

Konsentrasi teoritis = $0,993 + 0,600 = 1,593$ ppm

Massa teoritis = $\frac{1,593}{1000} \times 10 = 0,01593$ mg



Lampiran K. Data dan Perhitungan Penetapan Kadar Pestisida dalam Sayuran dengan Metode Biosensor Kertas

K.1 Hasil Penetapan Kadar Sampel

Sampel	Replikasi	Intensitas	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata konsentrasi (ppm)
Sawi	1	131,40	1,318%	1,03	1,00
	2	131,41	1,326%	0,96	
	3	131,41	1,326%	0,96	
Tomat	1	131,50	1,416%	0,49	0,51
	2	131,49	1,423%	0,53	
	3	131,49	1,416%	0,53	
Kubis	1	131,37	1,378%	1,30	1,33
	2	131,36	1,378%	1,39	
	3	131,37	1,371%	1,30	
Beras organik	1	131,42	1,356%	0,89	0,87
	2	131,42	1,356%	0,89	
	3	131,43	1,356%	0,83	
Beras non organik	1	131,45	1,393%	0,71	0,71
	2	131,45	1,386%	0,71	
	3	131,45	1,386%	0,71	

K.2 Contoh perhitungan kadar sampel

Persamaan regresi : $y = 0,001\ln(x) + 0,0139$

Sawi dengan intensitas 131,40 dengan inhibisi 1,318%

$$y = 0,0023x + 0,0139$$

$$0,01386 = 0,0023x + 0,0139$$

$$(x) = -0,0174$$

Antilog $x = 0,9608$ ppm

Lampiran L. Analisis Pestisida dalam Sampel Menggunakan HPLC

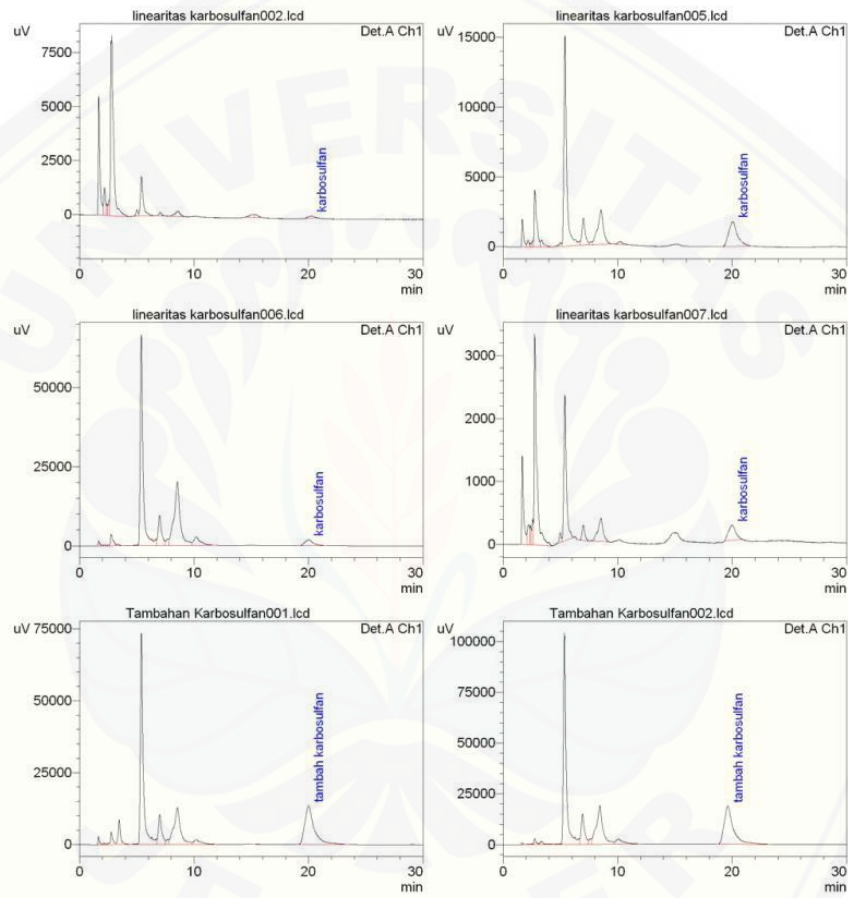
Parameter	Hasil
Linieritas	$y = 138049x - 4106,4$ $R=0,9982$
LOD	0,05
LOQ	0,166
<i>p-value</i>	$4,53 \times 10^{-7}$

L.1 Hasil Kromatogram Pestisida Konsentrasi 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1,1 ppm, 5 ppm, 8 ppm, 15 ppm

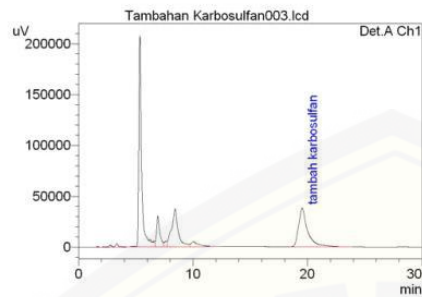
9/20/2005 04:55:04 1 / 2

==== Shimadzu LCsolution Summary Report ====

<Summary Report>



9/20/2005 04:55:04 2 / 2



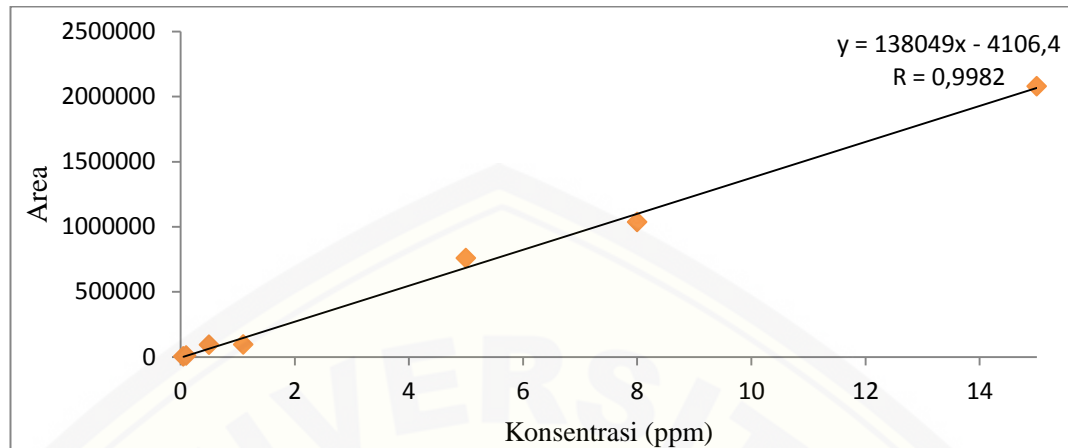
<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: karbosulfan

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units
linearitas karbosulfan002	earitas karbosulfan	STD-0002	20.262	4138	0.050	0.050	mg/L
linearitas karbosulfan005	earitas karbosulfan	STD-0005	20.051	93436	0.500	0.297	mg/L
linearitas karbosulfan006	earitas karbosulfan	STD-0006	20.006	95266	1.100	0.565	mg/L
linearitas karbosulfan007	earitas karbosulfan	STD-0007	20.019	10460	0.100	-0.110	mg/L
Tambahan Karbosulfan00	bahan Karbosulfan	STD-0001	20.006	759250	5.000	5.000	mg/L
Tambahan Karbosulfan00	bahan Karbosulfan	STD-0002	19.625	1036503	8.000	8.000	mg/L
Tambahan Karbosulfan00	bahan Karbosulfan	STD-0003	19.536	2079174	15.000	15.113	mg/L
Average			19.929	582604		4.131	
%RSD			1.282	133.244		139.203	
Maximum			20.262	2079174		15.113	
Minimum			19.536	4138		-0.110	
Standard Deviation			0.256	776284		5.750	

Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
5197.604	48.099	0.963	4.445	11.052
3439.707	72.681	1.366	9.816	10.962
3558.860	70.247	1.357	8.766	10.943
4397.739	56.847	1.070	11.815	10.970
3754.464	66.587	1.700	4.747	11.088
3819.322	65.457	1.707	8.750	10.966
3927.643	63.651	1.724	8.708	10.856
4013.620	63.367	1.412	8.150	10.977
15.080	13.274	22.219	32.687	0.688
5197.604	72.681	1.724	11.815	11.088
3439.707	48.099	0.963	4.445	10.856
605.234	8.411	0.314	2.664	0.075

L.2 Kurva Kalibrasi Standar Pestisida



L.3 Penambahan Sampel Adisi

Masing-masing sampel yang akan digunakan dari hasil preparasi sampel akan diadisi menggunakan standar pestisida d 1,5 ppm. Perhitungan penambahan adisi sebagai berikut :

$$\frac{4ml}{5ml} \times 11 \text{ ppm} = 8,8 \text{ ppm}$$

$$\frac{1000 \mu l}{3000 \mu l} \times 8,8 \text{ ppm} = 3 \text{ ppm}$$

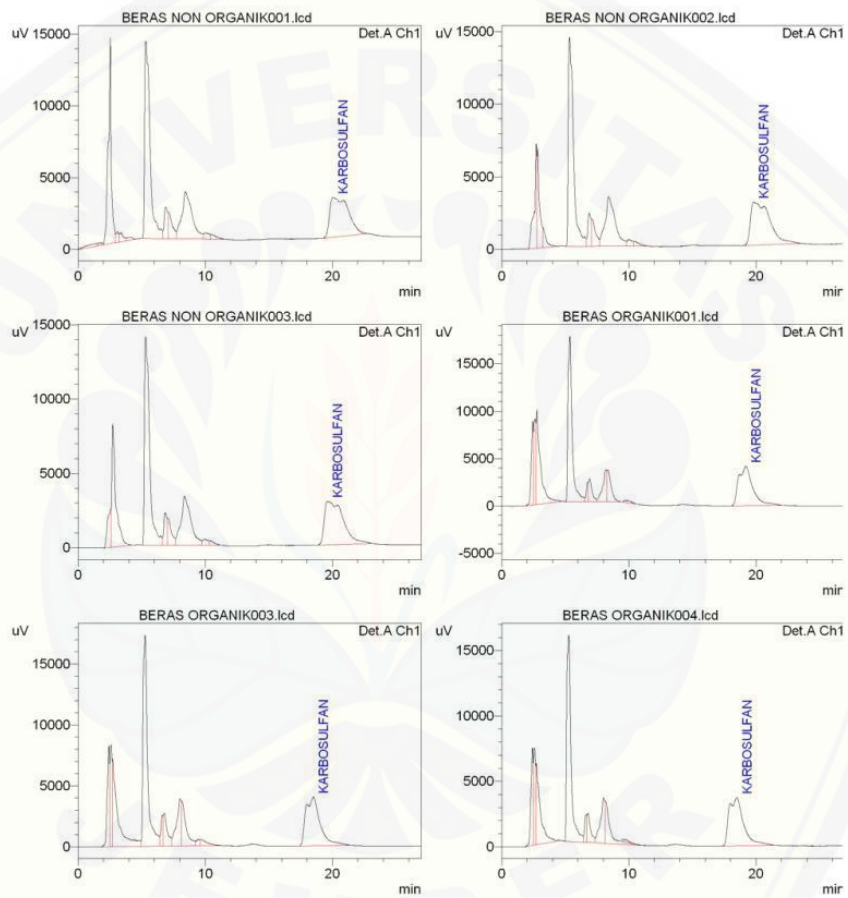
Selanjutnya sampel diambil sebanyak 500 μ l dan ditambahkan dengan standar 3 ppm sebanyak 500 μ l.

L.4 Kromatogram Penetapan Kadar Sampel

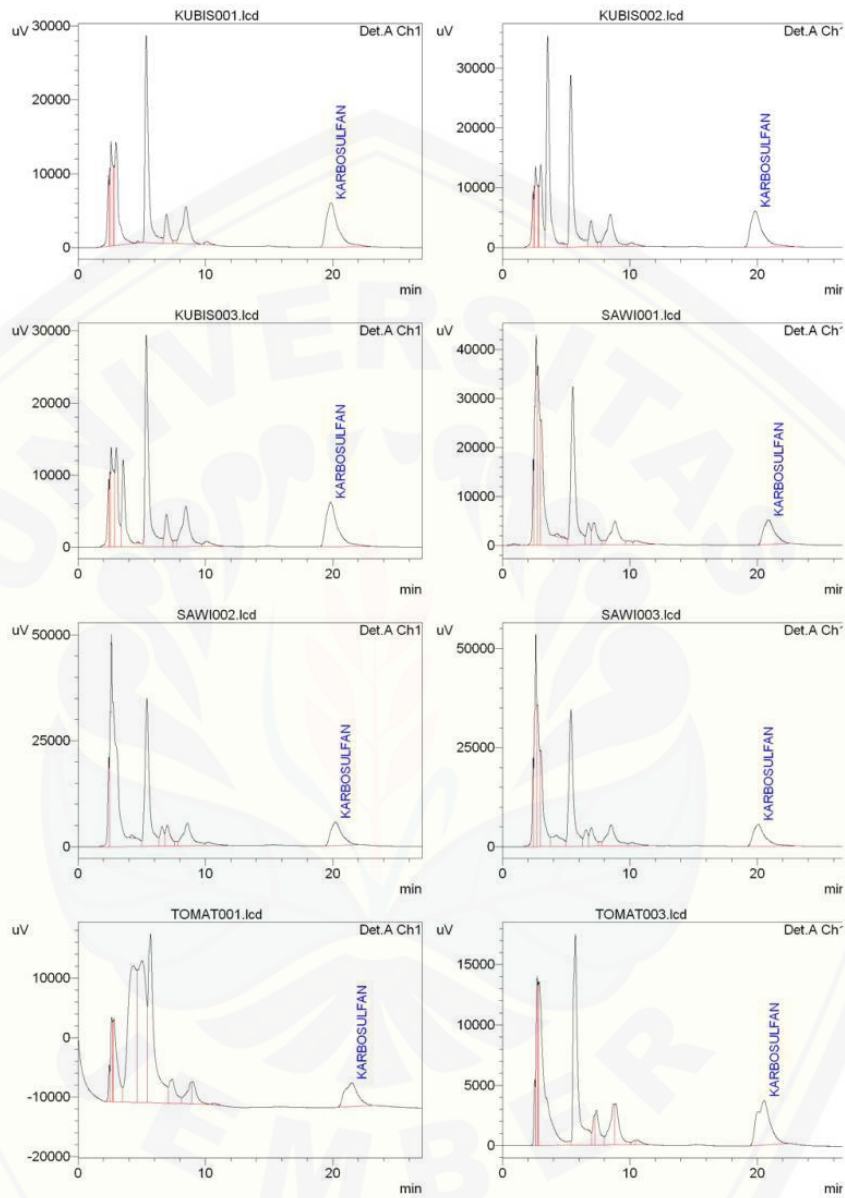
9/20/2005 00:03:49 1 / 3

==== Shimadzu LCsolution Summary Report ====

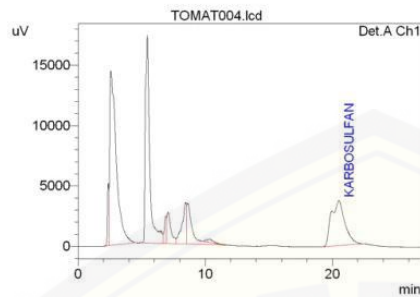
<Summary Report>



9/20/2005 00:03:49 2 / 3



9/20/2005 00:03:49 3 / 3



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: KARBOSULFAN

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units
BERAS NON ORGANIK0AS NON ORGANIK	UNK-0001	20.030	277710	--	0.000	mg/L	
BERAS NON ORGANIK0AS NON ORGANIK	UNK-0002	19.802	308668	--	0.000	mg/L	
BERAS NON ORGANIK0AS NON ORGANIK	UNK-0003	19.603	303250	--	0.000	mg/L	
BERAS ORGANIK001.lcd	BERAS ORGANIK UNK-0001	19.200	317632	--	0.000	mg/L	
BERAS ORGANIK003.lcd	BERAS ORGANIK UNK-0003	18.501	311153	--	0.000	mg/L	
BERAS ORGANIK004.lcd	BERAS ORGANIK UNK-0004	18.481	291340	--	0.000	mg/L	
KUBIS001.lcd	KUBIS UNK-0001	19.865	388859	--	0.000	mg/L	
KUBIS002.lcd	KUBIS UNK-0002	19.848	389751	--	0.000	mg/L	
KUBIS003.lcd	KUBIS UNK-0003	19.830	396858	--	0.000	mg/L	
SAWI001.lcd	SAWI UNK-0001	20.885	316133	--	0.000	mg/L	
SAWI002.lcd	SAWI UNK-0002	20.216	339515	--	0.000	mg/L	
SAWI003.lcd	SAWI UNK-0003	20.069	369715	--	0.000	mg/L	
TOMAT001.lcd	TOMAT UNK-0001	21.487	292212	--	0.000	mg/L	
TOMAT003.lcd	TOMAT UNK-0003	20.536	263921	--	0.000	mg/L	
TOMAT004.lcd	TOMAT UNK-0004	20.506	273353	--	0.000	mg/L	
Average		19.924	322671		0.000		
%RSD		4.016	13.728		0.000		
Maximum		21.487	396858		0.000		
Minimum		18.481	263921		0.000		
Standard Deviation		0.800	44296		0.000		

Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
1198.196	125.188	2.513	1.415	12.579
1150.788	130.345	3.287	1.390	6.289
1176.280	127.521	3.267	1.390	6.648
2015.973	74.406	1.545	6.866	6.871
1900.946	78.908	1.588	4.218	6.657
1869.621	80.230	1.601	6.125	6.645
2929.498	51.203	1.901	8.991	7.320
2982.308	50.297	1.922	8.018	7.295
2972.243	50.467	1.932	6.323	7.261
3030.889	49.490	1.475	5.907	22.409
2937.607	51.062	1.502	5.991	7.381
2878.535	52.110	2.051	5.704	7.338
2350.798	63.808	1.232	8.139	7.764
2253.264	66.570	1.206	5.854	7.117
1970.564	76.120	1.157	7.101	7.632
2241.167	75.182	1.879	5.562	8.480
31.264	39.114	35.758	43.940	48.628
3030.889	130.345	3.287	8.991	22.409
1150.788	49.490	1.157	1.390	6.289
700.667	29.407	0.672	2.444	4.124

L.5 Perhitungan Penetapan Kadar Sampel dengan Metod HPLC

Persamaan regresi : $y = 138049x - 4106,4$

Perhitungan sawi :

Replikasi 1 : $y = 138049x - 4106,4$

$$316133 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,320 \text{ ppm}$$

$$2,320 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,820 \text{ ppm}$$

Replikasi 2 : $y = 138049x - 4106,4$

$$339515 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,490 \text{ ppm}$$

$$2,490 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 1,37 \text{ ppm}$$

Replikasi 3 : $y = 138049x - 4106,4$

$$369715 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,708$$

$$2,708 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 1,208 \text{ ppm}$$

Perhitungan kubis :

Replikasi 1 : $y = 138049x - 4106,4$

$$288859 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,847 \text{ ppm}$$

$$2,847 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 1,347 \text{ ppm}$$

Replikasi 2 : $y = 138049x - 4106,4$

$$389751 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,853 \text{ ppm}$$

$$2,853 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 1,353 \text{ ppm}$$

Replikasi 3: $y = 138049x - 4106,4$

$$396858 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,904 \text{ ppm}$$

$$2,904 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 1,405 \text{ ppm}$$

Perhitungan tomat :

$$\text{Replikasi 1 : } y = 138049x - 4106,4$$

$$292212 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,146 \text{ ppm}$$

$$2,146 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,646 \text{ ppm}$$

$$\text{Replikasi 2 : } y = 138049x - 4106,4$$

$$263921 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,666 \text{ ppm}$$

$$2,666 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,442$$

$$\text{Replikasi 3: } y = 138049x - 4106,4$$

$$273353 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,010 \text{ ppm}$$

$$2,010 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,510 \text{ ppm}$$

Perhitungan beras organik :

$$\text{Replikasi 1 : } y = 138049x - 4106,4$$

$$317632 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,331 \text{ ppm}$$

$$2,311 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,831 \text{ ppm}$$

$$\text{Replikasi 2 : } y = 138049x - 4106,4$$

$$311153 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,284 \text{ ppm}$$

$$2,284 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,784 \text{ ppm}$$

Replikasi 3: $y = 138049x - 4106,4$

$$291340 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,140 \text{ ppm}$$

$$2,140 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,640$$

Perhitungan beras non organik :

Replikasi 1 : $y = 138049x - 4106,4$

$$277710 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,041 \text{ ppm}$$

$$2,041 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,541 \text{ ppm}$$

Replikasi 2 : $y = 138049x - 4106,4$

$$308668 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,266 \text{ ppm}$$

$$2,266 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,766 \text{ ppm}$$

Replikasi 3: $y = 138049x - 4106,4$

$$303250 = 138049x - 4106,4$$

$$X = 2,226 \text{ ppm}$$

$$2,226 \text{ ppm} - 1,5 \text{ ppm} = 0,726 \text{ ppm}$$

L.6 Hasil Uji *T-Test*

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HPLC	.240	5	.200 [*]	.934	5	.625
BIOSENSOR	.173	5	.200 [*]	.984	5	.954

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 HPLC - BIOSOENSO R	-.01200	.06611	.02956	-.09408	.07008	-.406	4	.706

Lampiran M. Desain kemasan

