



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR ELEKTROKIMIA UNTUK  
PESTISIDA BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE  
PADA SAMPEL SAYURAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Stevanus Ary Pratama  
NIM 142210101002**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR ELEKTROKIMIA UNTUK  
PESTISIDA BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE  
PADA SAMPEL 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

**Stevanus Ary Pratama**  
**NIM 142210101002**

**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 Sugeng Ari Bowo dan Ibunda Sundari tercinta, yang selalu selalu memberikan dukungan dan doa serta semangat yang mengalir tiada henti kepada penulis.
3. Bapak dan Ibu Guru dan dosen yang telah membimbing penulis dan memberikan ilmunya sedari penulis mengenyam bangku TK Dharma Wanita Setono Pande Kediri, SD Negeri Setono Pande 1 Kediri, SMP Negeri 2 Kediri, SMA Negeri 8 Kediri dan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.
5. Teman-teman Farmasi Angkatan 2014 (Pharmagen) yang selalu memotivasi dan memberikan semangat serta dukungan.

**MOTTO**

“ Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga,  
tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah  
dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur “

( Filipi 4:6 )

“Hidup tidak akan menghadiahkan sesuatu apapun  
tanpa kita bekerja keras ”

(Gelang)

“ Hidup adalah seni menggambar tanpa penghapus ”

(John. W. Gardner)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Stevanus Ary Pratama

NIM : 142210101002

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: Pengembangan Biosensor Elektrokimia untuk Pestisida Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase pada Sampel 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 12 Juli 2018

Yang menyatakan,

Stevanus Ary Pratama

NIM 142210101002

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR ELEKTROKIMIA UNTUK  
PESTISIDA BERBASIS INHIBISI ASETILKOLINESTERASE  
PADA SAMPEL SAYURAN**

Oleh :

Stevanus Ary Pratama

NIM 142210101002

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc, M.Sc-Res, Ph.D., Apt.



PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan Biosensor Elektrokimia untuk Pestisida Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase pada Sampel Sayuran” telah diuji dan disahkan pada:  
hari, tanggal : Kamis, 12 Juli 2018  
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember


Tim Penguji

Ketua,



Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.  
NIP. 196902011994031002

Anggota I,



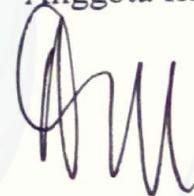
Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt.  
NIP. 198204062006042001

Anggota II,



Ari Satia Nugraha, S.F.,GdiPSc,M.Sc-Res,Ph.D.,Apt.  
NIP. 197807212003121001

Anggota III,



Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.  
NIP. 197604142002122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.  
NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengembangan Biosensor Elektrokimia untuk Pestisida Berbasis Inhibisi Asetilkolinesterase pada Sampel Sayuran;** Stevanus Ary Pratama, 142210101002; 2018; 104 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pestisida adalah bahan beracun dan berbahaya yang di dalamnya terdapat zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk membunuh atau mengendalikan hama dan beberapa jasad pengganggu lainnya. Dalam bidang pertanian, penggunaan pestisida selama dua dekade terakhir mengalami peningkatan. Peningkatan ini disebabkan karena adanya serangan hama yang tidak dapat diprediksi dan banyak menimbulkan kerugian sehingga memicu petani untuk menggunakan pestisida sebagai upaya dalam mengendalikan serangan hama.

Berdasarkan data BKPD Provinsi Sulawesi Selatan pada tahun 2012 yang diambil dari beberapa kabupaten/kota di Provinsi Sulawesi Selatan menyebutkan bahwa terdapat residu pestisida yang berasal dari golongan organofosfat, karbamat, organoklorin dan piretroid di dalam sayuran terong, sawi, kangkung, wortel, kentang dan cabe rawit.

Adanya residu pestisida dari senyawa organofosfat dan karbamat cukup membahayakan karena dapat menyebabkan kematian. Hal ini disebabkan oleh senyawa organofosfat dan karbamat yang dapat menghambat kerja dari enzim Asetilkolinesterase. Enzim Asetilkolinesterase merupakan enzim yang berperan dalam penerusan rangsangan saraf. Kematian dapat terjadi karena adanya gangguan dalam fungsi susunan saraf yang disebabkan oleh kerja senyawa organofosfat dan karbamat.

Sebagai upaya mengetahui tingkat toksisitas serta resiko yang ditimbulkan pestisida terhadap makhluk hidup dan lingkungan maka perlu dilakukan analisis residu pestisida dalam bahan pangan dan lingkungan. *Gas Chromatography* (GC) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan metode yang sering



digunakan dalam analisis pestisida. Namun kelemahan yang dimiliki oleh metode ini yaitu membutuhkan perlakuan ekstraksi dan pemurnian di laboratorium yang membutuhkan waktu analisis lebih lama dan biaya analisis yang cukup mahal. Untuk mengatasi kelemahan tersebut, saat ini dikembangkan analisis pestisida dengan menggunakan sensor. Dengan teknologi sensor memungkinkan untuk dapat dilakukan pemantauan dan pengukuran secara otomatis.

Dalam penelitian ini dikembangkan biosensor elektrokimia untuk analisis residu pestisida dari golongan karbamat dengan menggunakan metode voltametri (*Differential pulse voltametry* (DPV)). Elektroda yang digunakan adalah *screen printed electrode* (SPE) berbasis karbon yang bekerja secara adsorpsi pada sampel untuk kemudian bereaksi secara enzimatis menghasilkan sinyal-sinyal analisis terukur.

Pada biosensor elektrokimia ini, linieritas yang didapat meliputi rentang konsentrasi 0,01–33 ppm dengan persamaan regresi yang diperoleh adalah  $y = 0,085x + 0,547$  dan nilai koefisien korelasi atau  $r = 0,9884$ . Biosensor elektrokimia ini tidak akan terganggu dengan adanya komponen pengganggu berupa kuersetin dengan perbandingan kadar standar karbosulfan dan kuersetin sebesar 1:100. Nilai Batas Deteksi (LOD) yang diperoleh adalah 0,01 ppm sedangkan nilai Batas Kuantitasi (LOQ) adalah 0,03 ppm. Pada perhitungan presisi diperoleh nilai RSD = 9,603 %. Untuk penentuan akurasi dengan metode biosensor elektrokimia diperoleh % *recovery* rata-rata sebesar 98,70%.

Berdasarkan hasil aplikasi sampel, metode biosensor elektrokimia sebagai sensor pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengetahui kandungan residu pestisida pada sampel sayuran yang beredar di pasaran.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat 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 Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc, M.Sc-Res, Ph.D., 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. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Penguji I dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Penguji II yang dengan sabar memberikan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Prof.Drs.Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D 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 Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang selalu sabar dalam membantu dan memberikan saran selama penulis melakukan penelitian;
7. Orang tua tercinta Bapak Sugeng Ari Bowo dan Ibu Sundari yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi yang tak terhingga untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
8. Rekan kerja laboratorium kimia dan biosensor (Yanti, Rafli, Lelly, Arum, Alfi, Sheila, Ninik, Rizki, Resa, Zahra, Ayu, Liya, Ain, Putu, Osi, Illa, Mia, Eva, Ainun, Laili, Mila, Fajar, Agus, Fitri dan Erika) atas segala masukan, *sharing* pengalaman, cerita dan bantuan yang telah diberikan;
9. Tentor terbaik (mas Hilmi dan mbak Galen) atas masukan dan bantuan yang telah diberikan;
10. Sahabat Anjing Imut (Rafli, Sheila, Rizka, Yogi dan Joppy) yang selalu setia menemani dan memberikan semangat;
11. Sahabat IAI Kota Kediri ( Rafli, Intan dan Ratih) yang selalu menjadi penyemangat, tempat berbagi cerita dan bantuan;
12. Anak kesayangan MAMI (Ikhar Ridho, Afi, Fawwas, Azha, Dewi, Ofi, Bagus, Arfan, Atika, Septi Sud, Septi Or, Adji dan Ghea) yang selalu memberikan semangat, doa dan dukungan;
13. Kepala desa Sidomukti, Kec. Mayang, Kab. Jember dan Teman seperjuangan KKN kelompok 36 (Mas Delsa, Mas Sugeng, Mas Dika, Mbak Queen, Balgis, Nadia, Joo, Selvina dan Zahra) yang telah memberikan semangat dan dukungan;
14. Lanangan Buncit Pharmagen (Huda, Dani, Syamsu, Joppy, Fajar, Alfi, Fajar, Agus, Rafli, Mijil, Afif, Rizki dan Resa) atas segala cerita, semangat dan bantuan yang telah diberikan;

15. Rekan Pramuka dan PMR SMADELA (Ali, Chistina, Bulqis, Arif, Eka, Naila, Pranda, Yusup, Obama dan pak Didit) yang selalu memberi motivasi dan dukungan;
16. Stratum Corneum Squad (Ninik, Iped, Liya, Zahra, Rafli dan Sheila) atas segala cerita dan bantuan;
17. Kencur Squad (Agus, Ain, Dwi Ayu, Putu, Ayu Respati, Della, Fajar, Joppy, Liya, Rafli, Rizki, Rizka, Sheila, Tya, Yogi Dan Zahra) atas segala masukan, *sharing* pengalaman, cerita dan bantuan yang telah diberikan;
18. Keluarga Besar BEMF Farmasi UNEJ, UKSM ESSENSI, UKMKK FILADELFIA;
19. Teman-teman angkatan 2014 Fakultas Farmasi Universitas Jember (Pharmagen);
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Hanya doa 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, 12 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR PERSAMAAN .....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xix</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.5 Batasan Masalah .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Pestisida .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Biosensor.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Tinjauan Voltametri sebagai Metode Transduksi Biosensor .....</b>	<b>9</b>
2.3.1 Deteksi dan pengukuran AChEi.....	9
2.3.2 <i>Differential Pulse Voltammetry</i> (DPV).....	10
2.3.3 <i>Screen Printed Electrode</i> (SPE).....	11



2.3.4 Prinsip Pendeteksian AChEi dengan SPE.....	12
<b>2.4 Tinjauan tentang Enzim.....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Tinjauan tentang Enzim Asetilkolinesterase (AChE) .....</b>	<b>14</b>
<b>2.6 Inhibisi Enzim dengan Karbamat .....</b>	<b>15</b>
<b>2.7 Teknik Imobilisasi Enzim.....</b>	<b>16</b>
<b>2.8 Karakteristik Biosensor.....</b>	<b>19</b>
<b>2.9 Tinjauan Uji Residu Pestisida dengan MetodeHPLC .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 Alat dan Bahan.....</b>	<b>26</b>
<b>3.5 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.6 Optimasi biosensor elektrokimia.....</b>	<b>27</b>
3.6.1 Optimasi volume enzim Asetilkolinesterase(AChE) .....	27
3.6.2 Optimasi potensial kerja .....	27
3.6.3 Optimasi konsentrasi enzim Asetilkolinesterase(AChE).....	28
3.6.4 Optimasi konsentrasi asetilkolinklorida.....	28
3.6.5 Optimasi volume sampel.....	28
3.6.6 Optimasi waktu inhibisi .....	28
<b>3.7 Preparasi Sampel .....</b>	<b>29</b>
<b>3.8 Pengukuran Analit dengan Metode Biosensor Elektrokimia .....</b>	<b>29</b>
<b>3.9 Karakteristik Biosensor.....</b>	<b>32</b>
3.9.1 Penentuan Linieritas.....	32
3.9.2 Penentuan Selektivitas .....	32
3.9.3 Penentuan sensitivitas (LOD dan LOQ) .....	33
3.9.4 Penentuan presisi ( <i>repeatability</i> ) .....	33
3.9.5 Penentuan akurasi .....	33



<b>3.10 Pengukuran Analit dengan Menggunakan Metode High HPLC ....</b>	<b>34</b>
3.10.1 Preparasi sampel.....	34
3.10.2 Pembuatan kurva kalibrasi standar karbosulfan pada HPLC .....	34
<b>3.11 Aplikasi Metode Biosensor Elektrokimia .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Fabrikasi Biosensor Elektrokimia .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2 Optimasi Biosensor Elektrokimia .....</b>	<b>37</b>
4.2.1 Optimasi Volume Enzim Asetilkolinesterase (AChE).....	37
4.2.2 Optimasi Potensial Kerja .....	38
4.2.3 Optimasi Konsentrasi Enzim Asetilkolinesterase (AChE) .....	38
4.2.4 Optimasi Konsentrasi Substrat Asetilkolinklorida (AChCl).....	39
4.2.5 Optimasi Volume Sampel .....	40
4.2.6 Optimasi Waktu Inhibisi .....	41
<b>4.3 Karakterisasi Biosensor Elektrokimia .....</b>	<b>41</b>
4.3.1 Linieritas .....	41
4.3.2 Selektivitas .....	44
4.3.3 Sensitivitas (LOD dan LOQ) .....	45
4.3.4 Presisi .....	46
4.3.5 Akurasi .....	47
<b>4.4 Aplikasi Metode Biosensor Elektrokimia Dibandingkan dengan metode HPLC .....</b>	<b>48</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>50</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>51</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>56</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel .....	21
Tabel 2.2 Persen <i>recovery</i> analit pada konsentrasi yang berbeda.....	22
Tabel 3.1 Kondisi Analisis HPLC .....	35
Tabel 4.1 Hasil pengukuran arus AChCl dengan metode DPV .....	39
Tabel 4.2 Data hasil pengukuran inhibisi karbosulfan dengan metode DPV .....	42
Tabel 4.3 Hasil pengujian selektivitas .....	45
Tabel 4.4 Penentuan nilai RSD pada linieritas .....	46
Tabel 4.5 Nilai batas deteksi dan kuantitasi metode DPV .....	46
Tabel 4.6 Hasil uji presisi hari pertama .....	47
Tabel 4.7 Perbandingan hasil uji presisi .....	47
Tabel 4.8 Hasil uji akurasi metode biosensor elektrokimia .....	48
Tabel 4.9 Hasil pengukuran konsentrasi pestisida dengan menggunakan metode biosensor elektrokimia dan metode HPLC .....	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur kimia karbosulfan.....	7
Gambar 2.2 Prinsip kerja biosensor .....	8
Gambar 2.3 Voltamogram <i>Differential Pulse Voltammetry</i> .....	11
Gambar 2.4 Elektroda pada konfigurasi SPE.....	12
Gambar 2.5 Bagian-bagian Elektroda SPE.....	12
Gambar 2.6 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AChE .....	15
Gambar 2.7 Inhibisi AChE oleh karbamat.....	15
Gambar 2.8 Metode Adsorpsi .....	17
Gambar 2.9 Metode pengkapsulan ( <i>Encpsulasi</i> ) .....	17
Gambar 2.10 Metode pemerangkapan ( <i>Entrapment</i> ).....	18
Gambar 2.11 Metode Interaksi Elektrostatik .....	18
Gambar 2.12 Metode pembentukan ikatan kovalen.....	19
Gambar 2.13 Metode <i>crosslinking</i> .....	19
Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian .....	25
Gambar 3.2 Koneksi EmStat dengan perangkat komputer(laptop) .....	30
Gambar 3.3 Kondisi analisis pada pengukuran menggunakan metode DPV .....	30
Gambar 3.4 Diagram penentuan arus dengan metode DPV .....	31
Gambar 4.1 Hasil visual reaksi penetesan berbagai volume AChE terhadap AChCl.	37
Gambar 4.2 Voltamogram DPV pada konsentrasi enzim 100 ppm.....	38
Gambar 4.3 Voltamogram DPV pada konsentrasi enzim 1.000 ppm.....	39
Gambar 4.4 Hasil pengukuran arus AChCl dengan metode DPV .....	40
Gambar 4.5 Hasil penetesan akuades pada elektroda SPE .....	40
Gambar 4.6 Hasil pengukuran waktu inhibisi.....	41
Gambar 4.7 Kurva kalibrasi inhibisi karbosulfan terhadap AChE .....	43
Gambar 4.8 Voltamogram DPV pada penentuan linieritas.....	44

**DAFTAR PERSAMAAN**

	Halaman
Persamaan 2.1 Reaksi inhibisi AChE .....	13
Persamaan 2.2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi.....	21
Persamaan 2.3 Simpangan baku respon (SB) .....	21
Persamaan 2.4 Persen perolehan kembali (% <i>recovery</i> ).....	22
Persamaan 3.1 Perhitungan % inhibisi .....	29
Persamaan 3.2 Perhitungan % interferensi .....	32
Persamaan 3.3 Perhitungan LOQ.....	33
Persamaan 3.4 Perhitungan % <i>recovery</i> .....	34

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran A. Foto Alat .....	56
Lampiran B. Foto Bahan .....	59
Lampiran C. Korelasi Konsentrasi vs % inhibisi untuk penentuan potensial kerja....	61
Lampiran D. Perhitungan Optimasi Waktu Inhibisi .....	63
Lampiran E. Data dan Perhitungan Linieritas.....	64
Lampiran F. Data dan Perhitungan Hasil Uji Selektivitas .....	66
Lampiran G. Data dan Perhitungan LOD dan LOQ.....	68
Lampiran H. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi .....	69
Lampiran I. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Akurasi .....	73
Lampiran J. Data dan Perhitungan Penetapan Kadar Pestisida dalam Sayuran dengan Metode Biosensor Elektrokimia .....	76
Lampiran K. Analisis Pestisida dalam Sampel Sayuran dengan Metode HPLC .....	78
Lampiran L. Hasil Uji T-Test .....	85

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki perkembangan pesat dalam bidang pertanian. Badan Ketahanan Pangan Nasional tahun 2016 melaporkan bahwa pada tahun 2012 hingga 2016 terjadi fluktuasi dan penurunan pada beberapa komoditas sayur dan buah yang sering dikonsumsi oleh masyarakat seperti bayam, kubis, sawi, tomat dan anggur. Penurunan ini disebabkan karena adanya serangan hama yang tidak dapat diprediksi dan banyak menimbulkan kerugian sehingga memicu petani untuk menggunakan pestisida sebagai upaya dalam mengendalikan serangan hama.

Menurut Arif (2017) pestisida adalah bahan beracun dan berbahaya yang di dalamnya terdapat zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk membunuh atau mengendalikan hama dan beberapa jasad pengganggu lainnya. Pestisida dapat digolongkan ke dalam kelas insektisida, fungisida dan herbisida. Dalam bidang pertanian, penggunaan pestisida organofosfat dan karbamat selama dua dekade terakhir mengalami peningkatan. Organofosfat dan karbamat merupakan salah satu contoh dari kelas insektisida (Syarfiah, 2015).

Berdasarkan data BKPD Provinsi Sulawesi Selatan pada tahun 2012 yang diambil dari beberapa kabupaten/kota di Provinsi Sulawesi Selatan menyebutkan bahwa terdapat residu pestisida yang berasal dari golongan organofosfat, karbamat, organoklorin dan piretroid di dalam sayuran terong, sawi, kangkung, wortel, kentang dan cabe rawit (Herdariani dkk., 2013).



Adanya residu pestisida dari senyawa organofosfat dan karbamat cukup membahayakan karena dapat menyebabkan kematian. Hal ini disebabkan oleh senyawa organofosfat dan karbamat yang dapat menghambat kerja dari enzim Asetilkolinesterase. Enzim Asetilkolinesterase merupakan enzim yang berperan dalam penerusan rangsangan saraf. Kematian dapat terjadi karena adanya gangguan dalam fungsi susunan saraf yang disebabkan oleh kerja senyawa organofosfat dan karbamat (Sudewa dkk., 2009).

Selain dikaitkan dalam bidang kesehatan, penggunaan pestisida juga memberikan dampak negatif terhadap kerusakan lingkungan. Beberapa diantaranya adalah munculnya resistensi serangga, peledakan hama kedua, memberikan pengaruh negatif terhadap organisme bukan sasaran, residu dalam makanan dan pengaruh langsung terhadap pengguna (Herdariani dkk., 2013).

Untuk mengontrol dampak negatif penggunaan pestisida terhadap lingkungan dan kesehatan, diatur batas maksimum residu pestisida terutama karbamat berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mutiatikum (2009) yang menyebutkan bahwa batas konsentrasi total pestisida karbamat yang diperbolehkan tidak melebihi 0,01 mg/kg/hari, berdasarkan penelitian yang dilakukan ditemukan residu penggunaan pestisida karbamat sebesar 0,0296-0,0755 mg/kg.

Sebagai upaya mengetahui tingkat toksisitas serta resiko yang ditimbulkan pestisida terhadap makhluk hidup dan lingkungan maka perlu dilakukan analisis residu pestisida dalam bahan pangan dan lingkungan. *Gas Chromatography* (GC) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan metode yang sering digunakan dalam analisis pestisida. Namun kelemahan yang dimiliki oleh metode ini yaitu membutuhkan perlakuan ekstraksi dan pemurnian di laboratorium yang membutuhkan waktu analisis lebih lama dan biaya analisis yang cukup mahal. Untuk mengatasi kelemahan tersebut, saat ini dikembangkan analisis pestisida dengan menggunakan sensor. Dengan teknologi sensor memungkinkan untuk dapat dilakukan pemantauan dan pengukuran secara otomatis (Azis, 2011). Jenis sensor

yang saat ini berkembang salah satunya adalah biosensor (Velasco-Garcia dan Mottram, 2003).

Biosensor adalah piranti analitis yang menggunakan interaksi biologi untuk menghasilkan sinyal baik secara kualitatif atau kuantitatif (Kuswandi, 2010). (Mashuni, 2012) mendefinisikan biosensor adalah penggabungan antara komponen biologi (enzim) dan transduser fisika untuk mendeteksi suatu senyawa target. Dalam hal ini digunakan enzim yang dapat bereaksi secara selektif dengan substrat. Keunggulan dari biosensor yaitu memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi, respon yang cepat, mudah dalam pengoperasian, dan dapat digunakan dalam mendeteksi komponen kimia dan biologi, obat-obatan, makanan dan monitoring lingkungan (Baeumner, 2003).

Dalam penelitian ini dikembangkan biosensor elektrokimia untuk analisis residu pestisida dari golongan karbamat dengan menggunakan metode voltametri (*Differential pulse voltametry* (DPV)). Elektroda yang digunakan adalah *screen printed electrode* (SPE) berbasis karbon yang bekerja secara adsorpsi pada sampel untuk kemudian bereaksi secara enzimatis menghasilkan sinyal-sinyal analisis terukur. Penelitian ini diharapkan mampu mendeteksi adanya residu pestisida dengan lebih mudah dan efisien.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana fabrikasi dan kondisi optimal biosensor elektrokimia untuk mendeteksi residu pestisida pada sampel sayuran?
2. Bagaimana karakteristik biosensor elektrokimia untuk deteksi residu pestisida meliputi linieritas, selektivitas, LOD & LOQ, presisi dan akurasi?
3. Apakah biosensor elektrokimia dapat diaplikasikan untuk deteksi residu pestisida jenis karbamat pada sampel sayuran?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui fabrikasi dan kondisi optimal biosensor elektrokimia dalam mendeteksi residu pestisida pada sampel sayuran.
2. Untuk mengetahui karakteristik biosensor elektrokimia dalam mendeteksi residu pestisida meliputi linieritas, selektivitas, LOD & LOQ, presisi dan akurasi.
3. Untuk mengetahui kemampuan pengaplikasian biosensor elektrokimia dalam mendeteksi residu pestisida.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Dapat mengembangkan biosensor elektrokimia sebagai deteksi residu pestisida pada sayuran.
2. Dapat mengaplikasikan langsung pengetahuan di bidang biosensor untuk mendeteksi residu pestisida pada sayuran.

### **1.5 Batasan Masalah**

1. Jenis pestisida yang dideteksi adalah golongan karbamat (karbosulfan).
2. Sayuran yang dipakai kangkung, kubis, sawi, selada dan tomat sebagai sampel model.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pestisida

Menurut Arif (2017) pestisida adalah bahan beracun dan berbahaya yang di dalamnya terdapat zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk membunuh atau mengendalikan hama dan beberapa jasad pengganggu lainnya. Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia NOMOR 107/PERMENTAN/SR.140/9/2014 tentang pengawasan pestisida disebutkan bahwa pestisida dapat digunakan untuk :

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

### 2.1.1 Jenis Pestisida

Berdasarkan cara kerjanya, pestisida dibagi dalam tiga golongan yaitu insektisida, fungisida dan herbisida (Soemirat, 2010). Pestisida menurut struktur kimianya dibagi menjadi beberapa golongan senyawa yaitu golongan organoklorin, organofosfat, karbamat, dinitrofenol, piretroid, fumigan, petroleum dan antibiotik. Organofosfat dan karbamat termasuk dalam kelas insektisida, dimana organofosfat dan karbamat merupakan golongan yang selama dua dekade terakhir mengalami pertumbuhan yang meningkat dalam penggunaan pestisida di bidang pertanian (Syarfiah, 2015).

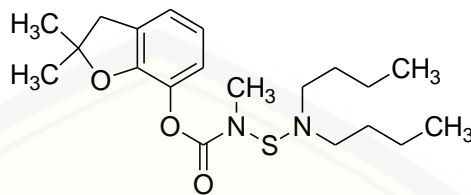
### 2.1.2 Tinjauan tentang insektisida karbamat

Berdasarkan Soemirat (2010) penggunaan insektisida golongan karbamat sangat banyak digunakan. Golongan karbamat memiliki sifat yang hampir sama dengan insektisida golongan organofosfat baik dari segi aktivitas maupun daya racunnya. Insektisida golongan karbamat memiliki residu yang tidak dapat bertahan lama di alam. Senyawa karbamat merupakan turunan dari asam karbamik HO-CO-NH<sub>2</sub>, senyawa ini juga mampu menghambat kerja enzim Asetilkolinesterase.

Pada tahun 1951 Ciba Geigy yang berasal dari Swiss berhasil menemukan insektisida golongan karbamat. Beberapa contoh produk pestisida yang mengandung golongan karbamat adalah Karbofuran, Baygon, Bayrusil, Karbaril dan Tiodikarb. Proses absorpsi insektisida golongan karbamat umumnya melalui kulit, udara dan oral dalam jumlah kecil. Gejala keracunan yang dapat timbul akibat golongan karbamat berlangsung lebih singkat dibandingkan dengan golongan organofosfat karena lebih cepat terurai di dalam tubuh dan efek keracunan yang dihasilkan bersifat *reversible* (dapat pulih) serta durasinya singkat.



Salah satu bahan aktif pestisida dari golongan karbamat adalah karbosulfan. Berikut ini adalah struktur dari karbosulfan



Gambar 2.1 Struktur kimia karbosulfan

Nama IUPAC : 2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7yl  
(dibutylaminothio)methylcarbamate  
Rumus umum : C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S  
BM : 380.5

### 2.1.3 Resiko Pestisida

Penggunaan pestisida memberikan dampak negatif bagi kesehatan dan lingkungan. Ketidaktepatan penggunaan pestisida dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, membahayakan kesehatan dan membunuh mikroorganisme non target (Yuantari dkk., 2015). Resistensi populasi hama terhadap pestisida dapat terjadi apabila penggunaan pestisida berlebih atau tidak tepat aturan. Dampak lain yang dihasilkan dapat menyebabkan peningkatan biaya pengendalian, peningkatan kematian organisme non target dan penurunan kualitas lingkungan (Laba, 2010).

## 2.2 Biosensor

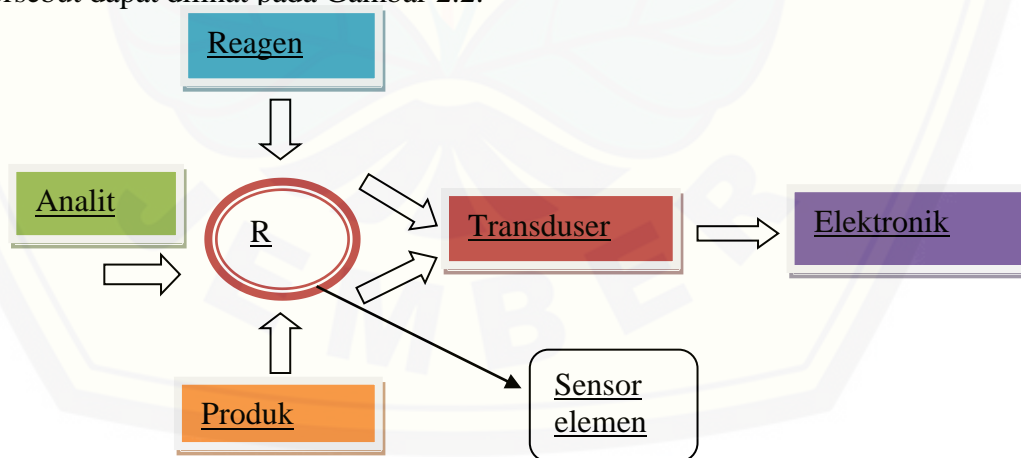
Biosensor merupakan sebuah perangkat analisis yang menggunakan material biologi atau biomolekul (misalnya jaringan, organel, sel, enzim, antibodi, DNA dan sebagainya) secara terintegrasi dengan sebuah transduser fisika-kimia (optik, elektrokimia, termometrik, piezoelektrik atau magnetik) yang dapat menghasilkan sinyal elektronik yang proporsional dengan jumlah suatu analit atau kelompok analit tertentu (Kuswandi, 2010). Secara umum, prinsip kerja biosensor adalah molekul



yang secara spesifik dan selektif hanya bereaksi dengan analit tertentu untuk menghasilkan sinyal yang baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

Bagian-bagian penting yang terdapat dalam biosensor untuk dapat bekerja secara optimal meliputi :

- a. Bagian pengenalan biologis (pendeteksian secara biomolekul/biokimia). Pada bagian inilah biasanya biomolekul atau bioelemen (misalnya enzim, antibodi, DNA atau sel) ditempatkan atau diintegrasikan, sering pula disebut diimobilisasi pada permukaan sensor.
- b. Bagian transduksi (pengubah menjadi sinyal). Bagian ini biasanya dapat berupa transduksi elektrokimia atau optik.
- c. Bagian pemrosesan sinyal (*signal processing*) yang kemudian ditampilkan dalam bentuk tampilan atau *data display*. Bagian ini biasanya berupa sirkuit elektronik yang mengubah atau memproses sinyal menjadi sinyal listrik yang kemudian dilakukan penguatan untuk meningkatkan sensitivitas kerja suatu biosensor, yang kemudian pula dapat diberikan dalam bentuk tampilan dari suatu sinyal listrik (*display* pada monitor/data) (Kuswandi, 2010). Secara singkat bagian-bagian tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Prinsip kerja biosensor (Kuswandi, 2010)

### 2.2.1 Penggunaan Biosensor

Salah satu teknologi yang saat ini berkembang pesat adalah biosensor. Dengan adanya teknologi biosensor ini dapat dimungkinkan untuk dilakukan pemantauan dan pengukuran secara otomatis dengan tingkat keakuratan dan kepresisian yang baik (Hiskia, 2007). Beberapa contoh pengaplikasian biosensor meliputi bidang kesehatan seperti pemanfaatan biosensor amperometri untuk deteksi glukosa (Asnawati dkk., 2013), dalam bidang lingkungan seperti pemanfaatan biosensor untuk mengukur kadar BOD<sub>5</sub> dalam air, bidang pangan dan industri farmasi (Kuswandi, 2010).

### 2.2.2 Biosensor Enzim

Biosensor enzim merupakan suatu perangkat analisis yang menggunakan enzim sebagai elemen sensoran dengan sebuah transduser untuk menghasilkan sinyal yang proporsional dengan konsentrasi dari target analit (substrat, inhibitor dan aktivator). Sinyal ini dapat dihasilkan dari perubahan konsentrasi proton, dihasilkannya atau dikonsumsinya gas-gas tertentu (seperti NH<sub>3</sub>, O<sub>2</sub> atau CO<sub>2</sub>), cahaya emisi, reflektansi, absorpsi, perubahan panas, massa dan sebagainya. Sinyal tersebut kemudian dikonversi menjadi sebuah respon sinyal yang dapat diukur baik dalam bentuk arus, tegangan, absorpsi cahaya, perubahan temperatur atau massa melalui transduksi elektrokimia, piezoelektrik, optik, ataupun termometrik. Setelah itu sinyal tersebut diproses lebih lanjut untuk dapat dianalisis (Kuswandi, 2010). Biosensor enzim untuk mendeteksi pestisida didasarkan pada pengukuran inhibisi enzim atau pada pengukuran langsung dari senyawa yang terlibat dalam reaksi enzimatik (Sassolas dkk., 2012).

## 2.3 Tinjauan Voltametri sebagai Metode Transduksi Biosensor

### 2.3.1 Deteksi dan pengukuran AChEi

Metode transduksi secara elektrokimia merupakan salah satu metode yang telah banyak dikembangkan dalam biosensor enzim (Kuswandi, 2010). Voltametri

merupakan teknik analisis yang sering digunakan dalam bidang kimia analitik. Pada teknik voltametri, arus dari elektroda kerja diukur sebagai fungsi dari potensial. Hasil dari pengukuran tersebut digambarkan dalam bentuk voltamogram. Teknik voltametri memiliki keuntungan yaitu memiliki sensitivitas yang tinggi untuk rentang konsentrasi yang besar, baik untuk spesi organik maupun anorganik (Mahendra, 2012).

Biosensor voltametri didasarkan pada sistem enzim yang secara katalis mengubah analit non-aktif menjadi produk yang dapat dioksidasi atau direduksi pada elektroda kerja. Secara umum, arus yang dihasilkan dari reaksi ini linier atau proporsional dengan konsentrasi produk elektroaktif, yang mana konsentrasi produk ini juga proporsional dengan konsentrasi substrat enzim yang non-elektroaktif (Tavakoli dan Ghourchian, 2010).

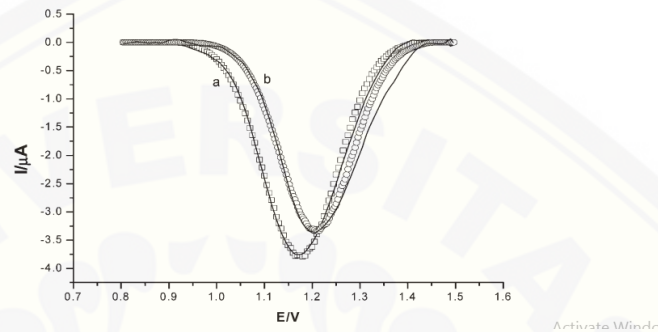
### 2.3.2 *Differential Pulse Voltammetry* (DPV)

*Differential pulse voltammetry* (DPV) merupakan teknik yang digunakan untuk pengukuran bahan organik maupun anorganik dalam jumlah yang kecil karena memiliki limit deteksi yang rendah. DPV memiliki sinyal potensial yang bersifat tetap (konstan) pada amplitudo yang kecil (10-100 mV) serta terlapsi oleh perubahan basis potensial yang rendah (Andriani, 2007). Metode lain yang dapat digunakan dalam analisis elektrokimia adalah *Linear Sweep Voltammetry*, *Cyclic Voltammetry*, *Square Wave Voltammetry*, *Normal (and Reverse) Pulse Voltammetry*, *Stripping Voltammetry*, *Pulse Amperometry* dan *Multi Pulse Voltammetry*.

*Differential Pulse Voltammetry* (DPV) adalah metode elektrokimia yang sering digunakan pada analisis kimia lingkungan terutama analisis kandungan AChEi pada sampel pertanian contohnya pestisida. Keunggulan dari metode DPV adalah memiliki performa analisis yang tinggi, selektivitas dan sensitivitas yang tinggi, analisis data yang mudah serta data yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh warna dan

turbiditas sampel (matriks atau pengganggu non-analit dalam sampel herbal cukup besar) (Kuswandi, 2010).

Berikut ini adalah contoh bentuk voltamogram yang dihasilkan dari pengukuran menggunakan metode DPV.

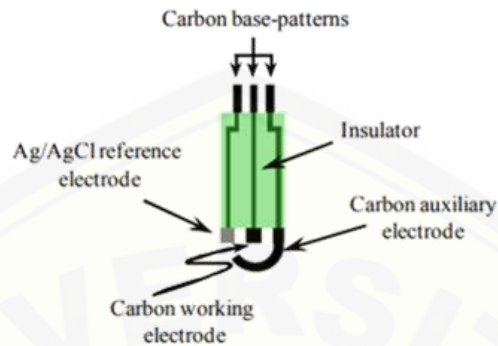


Gambar 2.3 Voltamogram *Differential Pulse Voltammetry* (He dkk., 2007)

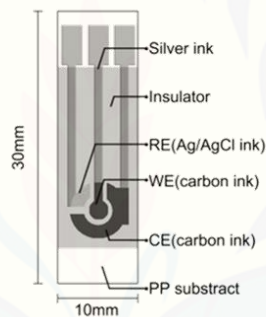
### 2.3.3 *Screen Printed Electrode* (SPE)

Beberapa tahun terakhir telah banyak dikembangkan tinta karbon konduktif dalam SPE, terutama digunakan sebagai elektroda biosensor. Strategi yang dilakukan yaitu dengan cara menempatkan (mengimobilisasi) suatu enzim pada elektroda kerja dan menghasilkan peningkatan respon elektrokimia analit dalam sampel (Murti, 2013).

Beberapa jenis SPE yang sering digunakan adalah SPE berbasis karbon dan SPE berbasis elektroda referensi AgCl. Perbedaan dari kedua jenis SPE tersebut adalah pada bahan tinta yang digunakan untuk fabrikasi elektroda. Tinta karbon konduktif digunakan sebagai bahan dasar untuk menyablون (*printing*) elektroda kerja pada jenis SPE berbasis karbon, sedangkan SPE berbasis elektroda referensi AgCl menggunakan Ag/AgCl sebagai bahan dasar pembuatan elektroda referensi. Selain kedua jenis tersebut, terdapat jenis-jenis SPE lainnya seperti SPE berbasis emas, platina, perak dan karbon nanotube (Murti, 2013). Berikut ini adalah contoh gambar SPE berbasis elektroda karbon.



Gambar 2.4 Elektroda pada konfigurasi SPE (Sanllorrente-Méndez dkk., 2010)

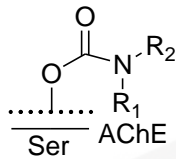


Gambar 2.5 Bagian-bagian Elektroda SPE yang terdiri dari *Working Electrode (WE)*, *Auxiliary Electrode (AE)* dan *Reference Electrode (RE)* (Sanllorrente-Méndez dkk., 2010)

#### 2.3.4 Prinsip Pendeteksian AChEi dengan SPE

Menurut Sanllorrente-Méndez (2010) penentuan kondisi optimum pada imobilisasi enzim menggunakan biosensor AChE dalam SPE beberapa diantaranya telah dilakukan penelitian. Biosensor AChE dalam SPE akan menghasilkan sinyal voltametrik dimana sinyal tersebut sensitif terhadap konsentrasi Asetilkolin klorida. Prinsip pengukurannya didasarkan pada efek inhibisi AChEi yang terdapat dalam sampel terhadap aktivitas enzim AChE yang terimobilisasi dalam elektroda SPE.





Asam asetat sebagai produk reaksi enzimatik Asetilkolinesterase memiliki sifat elektroaktif. Asam Asetat akan mengalami oksidasi pada anoda sehingga memberikan sinyal yang cukup untuk mendeteksi senyawa-senyawa AChEi. Dengan adanya interaksi antara senyawa AChEi dengan AChE untuk menginaktivasi enzim, tiokolin akan berkurang jumlahnya dan nilai arus yang dihasilkan dari proses oksidasi akan diterjemahkan kedalam fungsi konsentrasi AChEi yang terdapat pada sampel analisis (di bawah kondisi analisis yang sama) (Sanlloriente-Méndez dkk., 2010).

## 2.4 Tinjauan tentang Enzim

Enzim adalah suatu protein yang berfungsi sebagai katalisator reaksi-reaksi kimia dalam sistem biologis. Enzim memiliki daya katalitik yang tinggi sehingga mampu meningkatkan kecepatan reaksi hingga satu juta kali lebih cepat dibandingkan reaksi-reaksi tanpa enzim. Tidak hanya mampu mengkatalis reaksi-reaksi dalam sistem biologis, enzim juga mampu mengkatalis reaksi-reaksi luar sistem biologis asalkan dipaparkan pada kondisi yang sesuai. Kemampuan suatu enzim untuk mengkatalis suatu reaksi dapat dilihat melalui aktivitasnya (Kusumadjaja dan Dewi, 2005). Menurut Suhara (2008) faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim adalah :

### a. Suhu

Enzim sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungannya. Setiap terjadi kenaikan suhu 10°C, kecepatan enzim akan menjadi dua kali lipat, sampai batas suhu tertentu. Enzim dan protein pada umumnya dinonaktifkan pada suhu tinggi.

b. pH

Semua enzim sangat peka terhadap perubahan pH, enzim akan menjadi nonaktif ketika berada pada lingkungan dengan pH sangat rendah (asam kuat) dan pH tinggi (basa kuat).

c. Konsentrasi enzim, substrat dan kofaktor

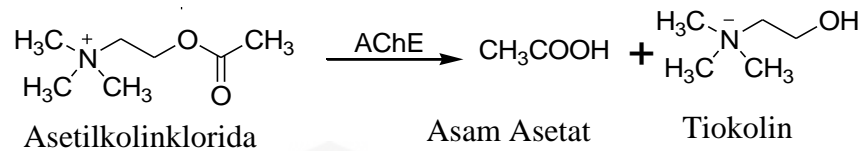
Apabila pH dan suhu konstan, dan jumlah substrat berlebihan, maka laju reaksi sebanding dengan jumlah enzim yang ada. Sebaliknya jika pH, suhu dan konsentrasi enzim konstan, maka laju reaksi sebanding dengan jumlah substrat.

d. Inhibitor

Inhibitor adalah senyawa yang dapat menghambat aktivitas suatu enzim. Inhibitor digolongkan menjadi 2 jenis utama yaitu inhibitor yang bekerja secara *irreversible* (tidak dapat balik) dan yang bekerja secara *reversible* (dapat balik).

## 2.5 Tinjauan tentang Enzim Asetilkolinesterase (AChE)

Enzim Asetilkolinesterase adalah salah satu enzim yang terlokalisasi pada jaringan otak manusia. Enzim Asetilkolinesterase mengendalikan transmisi impuls saraf pada sinaps neuron kolinergik dan sel kolinoseptif (analog dengan sel eritrosit pada mamalia) dengan menghidrolisis transmitter asetilkolin (ACh) pada sistem saraf sentra dan perifer. Mekanisme kerja enzim dijelaskan pada gambar 2.7. Mekanisme hidrolisis ACh berlangsung secara bertahap melalui mekanisme asilenzim yang melibatkan serin nukleofilik dari sisi esteratik AChE. Dengan adanya penghambatan ini mampu meningkatkan konsentrasi ACh dan menyebabkan peningkatan aktivasi reseptor nikotinik dan sinaps muskarinik yang merupakan molekul target untuk insektisida organofosfat dan karbamat. Mekanisme ini berlangsung secara tepat dengan kecepatan katalis yang bergantung pada kecepatan difusi (*diffusion rate*) antara substrat dan enzim dengan waktu penggantian sekitar 100 mikrosekon (Kamal dan Al-Jafari, 1999).

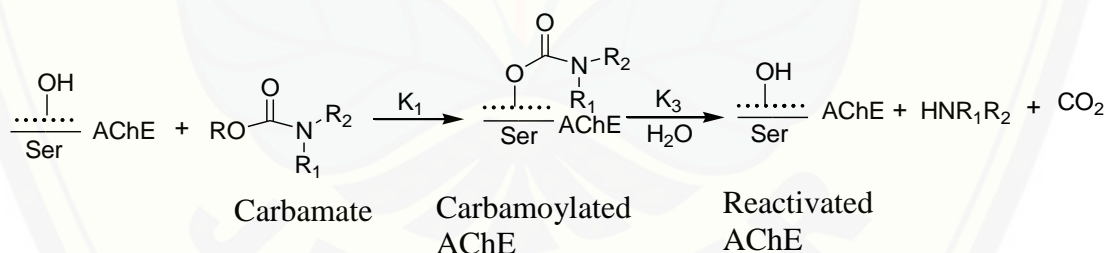


Gambar 2.6 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AChE

Prinsip kerja AChE adalah dengan mengubah neurotransmitter asetilkolin menjadi bentuk esternya (asam asetat dan kolin). Nitrogen yang bermuatan positif dalam molekul asetilkolin akan berikatan dengan bagian anionic molekul enzim dan terjadinya hidrolisis dikatalis oleh ikatan ester antara serin dengan –O karbonil pada asetilkolin (Badawy dan El-Aswad, 2014).

## 2.6 Inhibisi Enzim dengan Karbamat

Pestisida karbamat merupakan inhibitor kolinesterase. Senyawa karbamat memiliki beberapa struktur yang hampir sama dengan asetilkolin (ACh) yang merupakan substrat alami dari kolinesterase. Mekanisme inhibisi yang terjadi berlangsung dalam dua tahap : pembentukan secara *reversible* kompleks enzim inhibitor ( $K_d = K_{-1}/K_1$ ) dan ( $K_2$ ) yang menghasilkan enzim yang tidak aktif.



Gambar 2.7 Inhibisi AChE oleh karbamat

Karena terjadinya reaksi karbamilasi AChE relatif cepat, karbamat dapat dianggap sebagai inhibitor reversibel. Struktur kimia dari karbamat akan berubah ketika menghambat AChE karena pada karbamat terjadi pergantian gugus nukleofilik yang akan berikatan secara kovalen dengan sisi serin pada enzim (Marrs, 2004).

## 2.7 Teknik Imobilisasi Enzim

Sebuah biosensor agar dapat memiliki performansi yang sangat baik, maka biomolekul/bioreseptor yang menentukan biodeteksi terhadap target analit harus selalu terikat secara permanen pada permukaan sensor atau transduser. Imobilisasi dari biomolekul memegang peranan penting dalam menentukan performansi secara keseluruhan dari sebuah biosensor (Kuswandi, 2010).

Tantangan utama dalam imobilisasi biomolekul seperti enzim, antibodi, protein atau DNA pada permukaan sensor atau transduser adalah menentukan atau mempertahankan gugus fungsi yang akan digunakan dalam ikatan imobilisasi, sementara membiarkan gugus aktif dari biomolekul tersebut dapat bekerja dengan baik dan optimal. Teknik imobilisasi yang tepat dari biomolekul akan menghasilkan stabilitas dan sensitivitas yang tinggi pada sebuah sistem biosensor (Kuswandi, 2010).

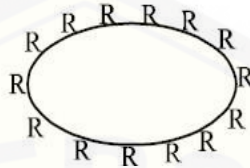
Menurut Kuswandi (2010) imobilisasi biomolekul pada permukaan sensor dapat dilakukan dengan beragam cara dan teknik yang telah dikembangkan. Secara umum imobilisasi reagen terbagi menjadi dua jenis metode yaitu fisika, yang meliputi proses penyerapan (adsorpsi), pemerangkapan (*entrapment*), pengkapsulan (*encapsulasi*), dan interaksi elektrostatis, serta metode kimia yang meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *crosslinking*.

### 2.7.1 Metode Fisika

#### a. Penyerapan (Adsorpsi)

Metode adsorpsi merupakan metode yang paling mudah dan sering digunakan karena dapat mengikat berbagai macam reagen dari material organik maupun anorganik. Namun, adhesi dari reagen dari fase padat lebih lemah karena ikatan yang terbentuk selama proses adsorpsi tidak mudah ditentukan. Teknik ini biasanya melibatkan ikatan hidrogen van der Waals. Adsorpsi biasanya digunakan untuk proses dimana reagen diserap oleh material pendukung (adsorben).

Terdapat 3 (tiga) jenis adsorben yang biasa digunakan dalam imobilisasi, antara lain polimer berpori, material karbon dan material organik (Kuswandi, 2010). Berikut merupakan gambar metode adsorpsi:



Gambar 2.8 Metode Adsorpsi (Kuswandi, 2010)

b. Pengkapsulan (*Encapsulasi*)

Teknik ini disebut juga teknik mikroenkapsulasi. Teknik pengkapsulan menggunakan membran semipermeable untuk memerangkap reagen kimia pada permukaan sensor. Material membran yang sering digunakan misalnya PVC (*polyvinylchloride*), *cellulose acetat*, *polycarbonate*, dan *polytetrafluoroethylene* (teflon). Teknik ini dapat bertahan terhadap perubahan kondisi misalnya perubahan suhu, pH, kekuatan ion dan komposisi kimia (Kuswandi, 2010). Berikut merupakan gambar metode pengkapsulan (*encapsulasi*):

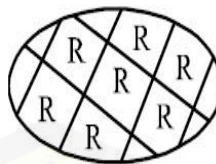


Gambar 2.9 Metode pengkapsulan (*Encapsulasi*) (Kuswandi, 2010)

c. Pemerangkapan (*Entrapment*)

Teknik pemerangkapan melibatkan pencampuran antara reagen dengan sebuah larutan monomer, yang kemudian mengalami polimerisasi membentuk membran baik berupa gel maupun lapisan tipis film, sehingga reagen dapat terperangkap di dalamnya (Kuswandi, 2010). Berikut adalah gambar metode pemerangkapan (*Entrapment*):

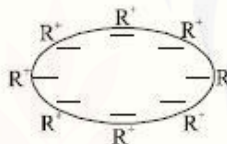




Gambar 2.10 Metode pemerangkapan (*Entrapment*) (Kuswandi, 2010)

d. Metode Interaksi Elektrostatis

Interaksi elektrostatis atau ionik biasanya digunakan untuk reagen yang mempunyai muatan negatif dengan fase pendukung yang bermuatan positif atau sebaliknya. Fase pendukung yang biasa digunakan dalam teknik ini adalah resin penukar ion (Kuswandi, 2010). Berikut ini adalah gambar metode interaksi elektrostatis:



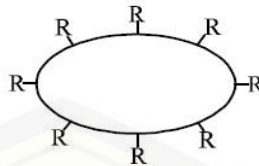
Gambar 2.11 Metode Interaksi Elektrostatis (Kuswandi, 2010)

## 2.7.2 Metode Kimia

### a. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen melibatkan ikatan antara molekul reagen dengan fase pendukungnya. Reaksi kimia yang biasa digunakan untuk imobilisasi ini adalah sililasi (*silylation*) dimana reagent diikatkan secara ikatan kovalen pada material pendukung secara langsung, misalnya untuk material bersilika. Dan reaksi Mannich, dimana reagen dengan atom hidrogen aktif diikat secara kovalen pada resin gelas pendukung (Kuswandi, 2010). Berikut ini adalah gambar metode pembentukan ikatan kovalen:

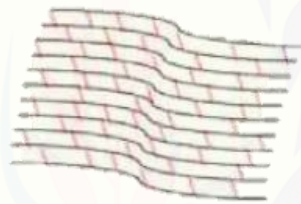




Gambar 2.12 Metode pembentukan ikatan kovalen (Kuswandi, 2010)

b. *Crosslinking*

*Crosslinking* adalah metode yang menggunakan senyawa kimia yang memiliki dua gugus fungsi yang dapat mengikatkan reagen pada membran. Kekurangan dari metode ini adalah kerusakan pada spesifikasi reagen dan hasil *crosslinking* merupakan senyawa yang sangat kaku (Eggins, 1996). Berikut ini adalah gambar metode *crosslinking*:



Gambar 2.13 Metode *crosslinking* (Kuswandi, 2010)

## 2.8 Karakteristik Biosensor

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pengembangan biosensor adalah performansi atau unjuk kerja dari biosensor tersebut dalam mendeteksi suatu analit. Menurut (Kuswandi, 2010) performansi suatu biosensor meliputi:

a. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik dan proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linieritas dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan

persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit yang digunakan (Harmita, 2004).

Dalam praktik, digunakan satu seri larutan standar yang berbeda konsentrasinya antara 50-150 % kadar analit dalam sampel. Di dalam pustaka, sering digunakan rentang konsentrasi antara 0-200 %. Jumlah sampel yang dianalisis sekurang-kurangnya delapan buah sampel blangko. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisiensi korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $Y = bX + a$  dan nilai  $V_{x0}$ . Hubungan linier yang ideal dicapai dengan nilai  $r = +1$  atau  $-1$  bergantung dengan arah garis (Harmita, 2004) dan nilai  $V_{x0} < 5\%$  (Ermer, 2005).

b. Selektivitas

Selektivitas atau spesifisitas merupakan kemampuan suatu metode yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Harmita, 2004). Parameter ini adalah karakteristik yang paling penting dari sebuah biosensor karena merupakan suatu penentu apakah metode yang digunakan bebas dari adanya senyawa pengganggu yang terkandung dalam sampel. Karena tidak ada metode analisis yang terjamin bebas dari adanya senyawa pengganggu, seperti ion-ion yang dapat mengganggu analisis (Kuswandi, 2010).

c. Sensitivitas

Sensitivitas dapat dinyatakan dalam *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ). LOD merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan mampu memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Sedangkan batas kuantitasi (LOQ) adalah parameter pada analisis yang diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat terdeteksi (Harmita, 2004). Biosensor biasanya memiliki sensitivitas yang berkisar submilimolar ( $\mu\text{M}$ ) hingga pada konsentrasi yang sangat rendah yaitu femtomolar ( $10^{-15}$ ) (Kuswandi, 2010).

Menurut Harmita (2004) pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko dan formula seperti persamaan 2.2 dibawah ini :

$$Q = \frac{k \times S_b}{S_1} \dots \dots \dots (2.2)$$

Keterangan :

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (Batas kuantitasi)

k = 3 untuk LOD atau 10 untuk LOQ

S<sub>b</sub> = simpangan baku respon analitik dari blangko

S<sub>1</sub> = arah garis linier dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope

Simpangan baku respon (S<sub>b</sub>) dapat dihitung dengan persamaan 2.3 berikut :

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n-2}} \dots \dots \dots (2.3)$$

dengan  $y_i = a + bx$

#### d. Presisi

Presisi merupakan keterdekatan respon biosensor untuk analit yang sama. Pada umumnya dinyatakan dengan standar deviasi (s), baik standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (CV) (Skoog, 2017). Presisi biosensor terhadap analit dapat dikatakan baik apabila ada kesesuaian antara satu respon dengan respon lainnya yang dinyatakan dengan standar deviasi relatif (RSD) < 5% (Kuswandi, 2010). Kriteria penerimaan koefisien variasi pada uji presisi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel

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

Sumber : (Huber, 2007)

e. Akurasi

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004). Biosensor biasanya memiliki akurasi (% *recovery*) yang baik yaitu dibawah ± 5%. Perhitungan % *recovery* yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel 2.4.

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots(2.4)$$

Tabel 2.2 Persen *recovery* analit pada konsentrasi yang berbeda

Analit pada matrik sampel (%)	Unit	Rata-rata yang diperoleh
100	100%	98-102
≥10	10%	98-102
≥1	1%	97-103
≥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

Sumber : (Huber, 2007)

## 2.9 Tinjauan Uji Residu Pestisida dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah teknik pemisahan pada proses analisis senyawa yang paling banyak digunakan, selain pemisahan HPLC dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi komponen campuran dalam fase larutan. Pada komponen yang padat, perlu dilakukan preparasi menjadi larutan terlebih dahulu. HPLC dapat digunakan untuk analisis senyawa yang tidak mudah menguap, termolabil dan memiliki berat molekul yang tinggi. Perbedaan afinitas antara komponen fase diam dan fase gerak merupakan dasar dari proses pemisahan. Komponen yang ditahan oleh fase gerak memiliki tingkat pergerakan yang lebih lambat daripada komponen yang ditahan oleh fase diam. Fase cair dipompa dengan laju yang konstan pada kolom yang diselubungi oleh fase diam. Sebelum memasuki kolom, sampel analisis disuntikkan dalam aliran pembawa. Saat mencapai kolom komponen sampel secara selektif akan berinteraksi sesuai dengan sifat fisika kimia (Arora dan Bhanot, 2014)

Penetapan residu pestisida secara kuantitatif 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. Panjang gelombang yang digunakan adalah 275 nm (Yusiasih, 2009).



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Kimia dan Biosensor, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2018 sampai selesai.

### 3.3 Rancangan Penelitian

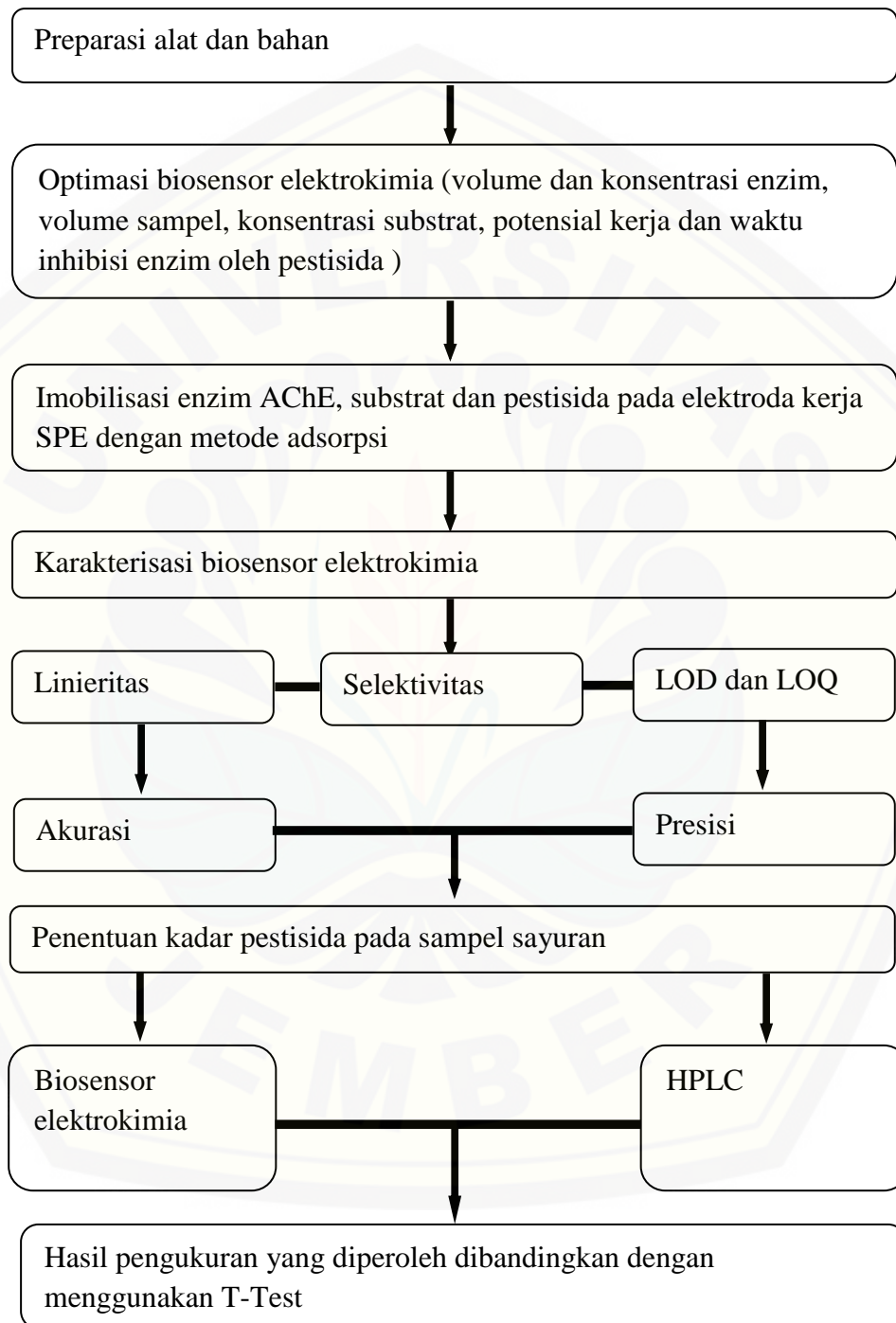
#### 3.3.1 Rancangan Operasional

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Optimasi biosensor elektrokimia meliputi optimasi volume dan konsentrasi enzim, optimasi volume sampel yang dibutuhkan, optimasi konsentrasi substrat, optimasi potensial kerja dan optimasi waktu inhibisi enzim oleh pestisida.
- b. Karakterisasi biosensor meliputi linieritas, selektivitas, sensitivitas (LOD dan LOQ), presisi dan akurasi.
- c. Aplikasi biosensor elektrokimia pada sampel sayuran



### 3.3.2 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1 Alat

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah *screen printed electrode* (SPE) dari EDAQ<sup>®</sup>, EmStat PalmSens<sup>®</sup> versi 1.8, perangkat lunak *PSTrace* versi 5.3 PalmSens<sup>®</sup>, laptop, pH meter, beaker glass, gelas ukur, lemari es, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, neraca analitik, mikropipet, *ball filler*, batang pengaduk, tabung *ependorf*, botol semprot, vial, *stopwatch*, penyaring Buchner, membran penyaring, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Shimadzu).

#### 3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah substrat Asetilkolinklorida (AChCl) (Sigma Aldrich), enzim Asetilkolinesterase (AChE) (EC. 3.1.1.7, *Electrophorus electricus*, 518 U/mg solid) (Sigma Aldrich), standar pestisida karbosulfan 11 gram/L, Tris-base (Merck), larutan *buffer* pH 7,5, HCl 0,1 N, akuades, asetonitril, metanol, sampel sayuran.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Bahan

##### a. Pembuatan larutan *buffer*

Larutan *buffer* tris (7,5 mM) dengan pH 7,5 dibuat dari larutan tris (*hidroxymethyl*) aminometan dan HCL masing-masing dengan konsentrasi 7,5 mM dengan jumlah yang tepat (diuji dengan pH meter).

##### b. Pembuatan larutan Asetilkolinklorida

Pembuatan larutan Asetilkolinklorida dengan menimbang 0,02 gram Asetilkolinklorida ( $\text{CH}_3\text{COOH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)\text{Cl}^-$ ) dalam *buffer* tris 7,5 mM pH 7,5 (yang diperoleh dari hasil 3.5.1) hingga mencapai 1 ml untuk mendapatkan larutan Asetilkolinklorida 20.000 ppm.

c. Pembuatan larutan Asetilkolinesterase

Pembuatan larutan Asetilkolinesterase dengan menimbang 1 mg Asetilkolinesterase dalam *buffer* tris 7,5 mM pH 7,5 hingga mencapai 1 ml untuk mendapatkan larutan Asetilkolinesterase 1.000 ppm. Dimana dalam 1.000 ppm mengandung 518 unit/mg.

d. Pembuatan larutan standar karbosulfan

Larutan induk karbosulfan 11 g/L (11.000 ppm) diencerkan dengan *buffer* tris 7,5 mM (pH 7,5) dalam labu ukur 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi karbosulfan mulai dari 0,11-1.100 ppm

### 3.6 Optimasi biosensor elektrokimia

#### 3.6.1 Optimasi volume enzim Asetilkolinesterase(AChE)

Optimasi volume AChE dilakukan untuk menentukan volume enzim yang optimal untuk diimobilisasikan pada elektroda SPE. Optimasi dilakukan dengan cara meneteskan enzim AChE sebanyak 2  $\mu$ l, 4  $\mu$ l, 8  $\mu$ l dan 12  $\mu$ l pada plat tetes lalu menambahkan Asetilklorinklorida (AChCl) dengan volume 2  $\mu$ l pada masing-masing sumuran enzim pada plat tetes. Setelah 5 menit, masing-masing sumuran diuji dengan kertas lakmus biru dan diamati perubahan warna lakmus (dari biru ke merah) yang paling signifikan secara visual dari keempat volume tersebut.

#### 3.6.2 Optimasi potensial kerja

Penentuan potensial kerja dilakukan dengan menguji nilai arus pada voltamogram yang menunjukkan lonjakan arus paling signifikan pada satu titik potensial tertentu dengan menggunakan metode DPV. Puncak ini dapat dilihat pada voltamogram yang dihasilkan dari beberapa titik potensial kerja. Potensial kerja yang dipilih adalah potensial kerja yang memberikan nilai arus yang tinggi dengan syarat mempunyai nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang memenuhi persyaratan dari seri konsentrasi standar yang dibuat.

### 3.6.3 Optimasi konsentrasi enzim Asetilkolinesterase(AChE)

Optimasi konsentrasi Asetilkolinesterase (AChE) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimal AChE yang akan digunakan sebagai konsentrasi kerja enzim dalam pengukuran inhibisi enzim. Optimasi dilakukan dengan menggunakan metode DPV untuk mengetahui arus yang dihasilkan oleh AChE pada nilai konsentrasi 100 dan 1.000 ppm. Kondisi optimum apabila arus yang dihasilkan dari kedua konsentrasi tersebut menghasilkan arus lebih besar dan memiliki reproduibilitas yang baik.

### 3.6.4 Optimasi konsentrasi Asetilkolinklorida

Optimasi konsentrasi Asetilkolinklorida (AChCl) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimal AChCl yang akan digunakan sebagai konsentrasi kerja substrat dalam pengukuran inhibisi enzim. Optimasi ini dilakukan menggunakan metode DPV dengan nilai konsentrasi pengukuran 10.000 ppm, 20.000 ppm dan 30.000 ppm. Kondisi optimum apabila menghasilkan nilai arus yang lebih besar pada potensial kerja terpilih.

### 3.6.5 Optimasi volume sampel

Volume sampel ditentukan dengan memipet larutan akuades sebanyak 1  $\mu$ l, 2  $\mu$ l, 3  $\mu$ l dan 4  $\mu$ l hingga memenuhi elektroda SPE secara optimal. Kondisi optimum volume sampel ditentukan dengan melihat elektroda SPE yang berisi akuades dengan jumlah sesuai hasil optimasi volume enzim dan substrat terisi semua dengan larutan akuades yang ditetaskan.

### 3.6.6 Optimasi waktu inhibisi

Optimasi waktu inhibisi merupakan waktu yang dibutuhkan untuk pestisida agar dapat menginhibisi Asetilkolinesterase. Waktu inhibisi ditentukan dengan meneteskan pestisida dengan konsentrasi 0,1 ppm pada area kerja elektroda yang terdapat enzim, kemudian ditetaskan substrat sebanyak 2  $\mu$ l. Selanjutnya dilakukan pengukuran arus pada elektroda kerja SPE dengan metode DPV dan dilihat arus yang

dihasilkan selama 5, 10, 15, 20 dan 25 menit. Waktu inhibisi ditentukan dengan menghitung % inhibisi melalui persamaan 3.1.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Arus blanko} - \Delta \text{ arus}}{\text{ arus blanko}} \times 100 \% \text{ (Zuhra dkk., 2008) .....(3.1)}$$

Dimana : arus blanko = respon sebelum diinhibisi

$\Delta$  arus = respon setelah diinhibisi

### 3.7 Preparasi Sampel

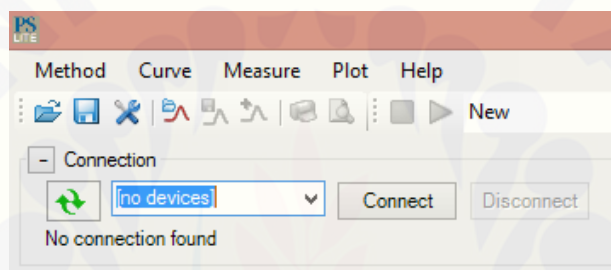
Sampel sayur yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang tinggi seperti kangkung, kubis, sawi, selada dan tomat yang diperoleh dari salah satu pasar tradisional yang terletak di Kabupaten Jember. Masing-masing sampel dihancurkan menggunakan mortir dan stamper, kemudian ditimbang sebanyak 0,5 g. Selanjutnya sampel sayur diadkan dengan akuades 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 digunakan untuk mendeteksi residu pestisida dengan menggunakan biosensor elektrokimia.

### 3.8 Pengukuran Analit dengan Metode Biosensor Elektrokimia

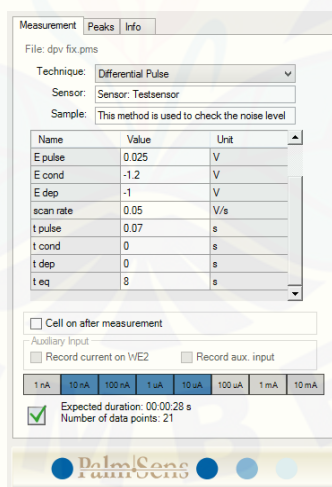
Pengukuran analit dengan metode biosensor elektrokimia diawali dengan proses imobilisasi enzim yang dilakukan dengan metode adsorpsi. Dua mikroliter AChE ditetaskan pada elektroda kerja (*working electrode/WE*) SPE kemudian didiamkan selama 20 menit hingga enzim terimobilisasi sempurna. Sampel sejumlah dua mikroliter kemudian ditetaskan pada permukaan elektroda (*working electrode/WE*, *auxillary electrode/AE* dan *reference electrode/RE*) lalu didiamkan kembali 20 menit. Kemudian ditetaskan substrat AChCl sebanyak dua mikroliter pada elektroda SPE. Elektroda SPE dihubungkan dengan Laptop dan EmStat PalmSens<sup>®</sup> yang sudah dirangkai sesuai dengan prosedur. Kemudian arus diukur dengan metode DPV seperti pada diagram 3.4.



Penentuan dengan metode DPV dilakukan dengan cara merangkai laptop dan EmStat PalmSens<sup>®</sup> sesuai dengan prosedur. Perangkat lunak PalmSens<sup>®</sup> dibuka dan dikoneksikan dengan cara meng-klik *connect* sehingga muncul tanda *found EmStat* (Gambar 3.2.). Pengukuran voltamogram dilakukan secara DPV dengan cara meng-klik *Technique-Differential Pulse*. Langkah berikutnya adalah pengisian kondisi analisis yang meliputi (*E condition, t condition, E deposition, t deposition, t equilibrium, E begin, E end, E step, E pulse, t pulse* dan *scan rate*) sesuai nilai yang diperlihatkan pada Gambar 3.3.



Gambar 3.2 Koneksi EmStat dengan perangkat komputer (laptop)



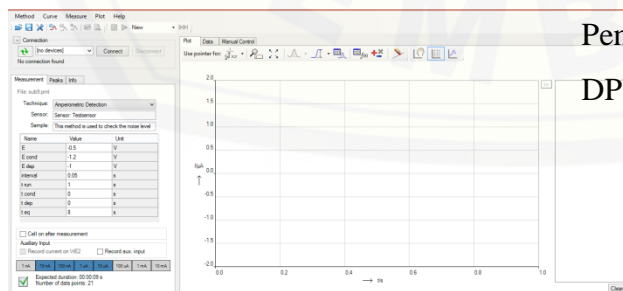
Gambar 3.3 Kondisi analisis pada pengukuran menggunakan metode DPV

Arus pengukuran berada pada rentang arus 10 nA-10  $\mu$ A. Setelah semua pengaturan kondisi analisis selesai, dilakukan pengukuran sesuai prosedur. Pengukuran dilakukan dengan cara meng-klik *start* atau tanda panah berwarna hijau pada *display* dan ditunggu hingga pengukuran selesai (menghasilkan voltamogram)





Penentuan arus dengan metode DPV



Gambar 3.4 Diagram penentuan arus dengan metode DPV

### 3.9 Karakteristik Biosensor

#### 3.9.1 Penentuan Linieritas

Penentuan daerah linier dilakukan dengan mengukur potensial arus setiap konsentrasi larutan standar yaitu 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,11 ppm, 0,55 ppm, 1,1 ppm, 11 ppm, 22 ppm dan 33 ppm yang direaksikan dengan AChE sehingga terjadi efek inhibisi saat ditambahkan substrat (AChCl) pada rentang arus 10 nA-10  $\mu$ A. Pengukuran dilakukan setelah enzim terimobilisasi dengan baik dalam elektroda kerja SPE. Hasil yang didapat lalu dianalisis sehingga diperoleh persamaan linieritas dan daerah linear untuk tiap standar yang sekaligus dapat digunakan juga sebagai kurva kalibrasi. Data yang diperoleh pada pengujian linieritas dapat dikatakan linier apabila memiliki nilai koefisien korelasi (r) mendekati +1 atau -1 (Harmita, 2004) dan nilai  $V_{x0} < 5\%$  (Ermer, 2005).

#### 3.9.2 Penentuan Selektivitas

Penentuan selektivitas dilakukan dengan cara menggunakan standar karbosulfan 0,1 ppm yang kemudian ditambah dengan kuersetin yang diasumsikan sebagai komponen pengganggu yang banyak terkandung dalam sayuran (Koirewoa dkk., 2012). Preparasi sampel dapat dilihat pada bab 3.7. Penentuan selektivitas dilakukan dengan membuat perbandingan konsentrasi antara standar dan sampel 1:1, 1:10 dan 1:100. Penentuan selektivitas dilakukan dengan mengukur nilai % inhibisi, langkah selanjutnya adalah membandingkan nilai % inhibisi dari standar karbosulfan 0,1 ppm yang tidak mengandung komponen pengganggu dengan nilai % inhibisi standar kalbosulfan 0,1 ppm yang telah diberi komponen pengganggu. Selektivitas suatu metode analisis terhadap analit dapat digolongkan baik jika % interferensi < 5%. Nilai % interferensi dihitung berdasarkan perasamaan 3.2.

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\% \text{ inhibisi standar dengan pengganggu} - \% \text{ inhibisi standar}}{\% \text{ inhibisi standar}} \times 100 \dots \dots (3.2)$$

### 3.9.3 Penentuan sensitivitas (LOD dan LOQ)

Sensitivitas ditentukan melalui parameter LOD dan LOQ. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi dilakukan dengan membuat sejumlah larutan standar pestisida dengan konsentrasi terkecil dari rentang pengujian linieritas. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program *Validation Method of Analysis.exe* sehingga diperoleh kurva linieritas konsentrasi berbanding dengan % inhibisi. Dari hasil analisis data akan diperoleh  $X_p$ , dimana nilai tersebut menunjukkan nilai LOD dihitung dari persamaan regresi (Wulandari, 2012). Untuk nilai LOQ dapat dihitung melalui persamaan 3.3.

$$LOQ = \frac{10}{3} LOD \dots \dots \dots (3.3)$$

### 3.9.4 Penentuan presisi (*repeatability*)

Presisi diukur dengan melakukan pengulangan untuk tiap-tiap konsentrasi uji pada setiap analit. Jumlah pengulangan yang digunakan adalah 6 pengulangan (replikasi) pada biosensor yang berbeda. Penentuan presisi dilakukan dengan menimbang sampel kubis sebanyak 6 kali replikasi dan dipreparasi seperti pada bab 3.7. Selanjutnya dilakukan pengukuran analit pada biosensor elektrokimia seperti pada bab 3.8. Presisi sensor terhadap analit dapat digolongkan baik apabila memenuhi kriteria penerimaan presisi konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada tabel 2.1.

### 3.9.5 Penentuan akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan metode penambahan standar adisi yaitu dengan persen *recovery* dari tiga kali penambahan analit sebesar 30, 45 dan 60 % dari konsentrasi sampel hasil pengukuran presisi. Penentuan akurasi dilakukan dengan melakukan preparasi sampel sayur kubis seperti pada bab 3.7. Kemudian ditambah 1 ml standar adisi dalam labu ukur 10 ml. Larutan kemudian diteteskan pada elektroda kerja SPE yang mengandung enzim dan diamati nilai arus. Nilai arus yang didapat kemudian digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi. Nilai % inhibisi hasil pengukuran kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi sehingga diperoleh

konsentrasi pestisida dalam sampel. Dari konsentrasi pestisida yang diperoleh akan dapat ditentukan massa pestisida yang terdapat dalam sampel. Massa pestisida hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan massa pestisida secara teoritis, sehingga dapat ditentukan harga % *recovery*.

Nilai % *recovery* dihitung berdasarkan persamaan :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.4)$$

Kriteria penerimaan % *recovery* untuk konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.2.

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

#### **3.10.1 Preparasi sampel**

Sampel sayur yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang tinggi seperti kangkung, kubis, sawi, selada 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 diadkan 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.

#### **3.10.2 Pembuatan kurva kalibrasi standar karbosulfan pada HPLC**

Kurva kalibrasi standar karbosulfan pada HPLC dibuat dengan membuat seri konsentrasi sebesar 1,1 ppm, 2,2 ppm, 5,5 ppm, 8,8 ppm dan 11 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

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

### 3.11 Aplikasi Metode Biosensor Elektrokimia 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 kangkung, kubis, sawi, selada, tomat. Selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan biosensor elektrokimia dengan melakukan preparasi sampel seperti pada bab 3.7. Pengujian menggunakan biosensor elektrokimia dilakukan dengan cara meneteskan 2 µl AChE pada elektroda kerja SPE kemudian didiamkan selama 20 menit hingga enzim terimobilisasi sempurna. Sampel sejumlah 2 µl kemudian diteteskan pada permukaan elektroda (*working electrode*/WE, *auxillary electrode*/AE dan *reference electrode*/RE) lalu didiamkan kembali 20 menit. Kemudian diteteskan substrat AChCl sebanyak dua mikroliter pada elektroda SPE. Didapatkan nilai arus yang 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, 2006).



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Fabrikasi dan kondisi optimum analisis biosensor elektrokimia meliputi :
  - a. Elektroda yang digunakan adalah jenis *screen printed electrode* (SPE) dari EDAQ<sup>®</sup> yang berbasis karbon yang bekerja secara adsorpsi pada sampel untuk kemudian bereaksi secara enzimatis menghasilkan sinyal-sinyal analisis terukur.
  - b. Proses imobilisasi reagen. Enzim Asetilkolinesterase diimobilisasi dalam elektroda kerja, kemudian ditetaskan sampel pestisida dan substrat Asetilkolin klorida untuk mengetahui adanya reaksi enzimatis dan inhibisi.
  - c. Kondisi optimum dalam analisis inhibisi enzim dengan bioreagen AChE teradsorpsi dalam elektroda kerja SPE adalah sebagai berikut :
    - Range arus yang digunakan 10 nA – 10  $\mu$ A dengan potensial kerja terpilih adalah -0,5 V.
    - Volume optimum sampel yang digunakan adalah sebesar 2  $\mu$ l.
    - Pelarut yang digunakan adalah *Buffer* Tris-HCl pH 7,5.
    - Konsentrasi AChCl optimum adalah 20.000 ppm dan konsentrasi enzim sejumlah 1.000 ppm.
2. Karakterisasi biosensor elektrokimia sebagai sensor pestisida meliputi :
  - a. Linieritas diperoleh dari kurva kalibrasi antara *log* konsentrasi vs % inhibisi. Persamaan regresi yang didapat adalah  $y = 0,085x + 0,547$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9884. Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan validasi yaitu mendekati (+1) atau (-1).

- b. Biosensor elektrokimia tidak akan terganggu dengan adanya komponen pengganggu berupa kuersetin dengan perbandingan kadar standar karbosulfan dan kuersetin sebesar 1:100, sehingga biosensor elektrokimia dapat dikatakan selektif.
- c. Nilai batas deteksi (LOD) biosensor elektrokimia adalah 0,005 ppm sedangkan nilai batas kuantitasi (LOQ) adalah 0,015 ppm.
- d. Nilai RSD yang diperoleh dari pengukuran metode biosensor elektrokimia telah memenuhi persyaratan RSD <11 % yaitu 9,603 %.
- e. Metode biosensor elektrokimia sebagai sensor pestisida memenuhi parameter akurasi dengan % *recovery* rata-rata sebesar 98,70%.
- f. Metode biosensor elektrokimia sebagai sensor pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengetahui kandungan pestisida pada sampel sayuran yang beredar di pasaran.

## 5.2 Saran

Penelitian mengenai pengembangan biosensor elektrokimia berbasis inhibisi Asetilkolinesterase untuk mendeteksi residu pestisida dalam sampel sayuran perlu dikembangkan dengan beberapa saran sebagai berikut :

1. Mengembangkan metode biosensor elektrokimia dalam mendeteksi residu pestisida pada golongan selain karbamat untuk mengetahui residu pestisida lain yang ada di pasaran.
2. Melakukan pengujian residu pestisida pada sampel sayuran yang lain dan dapat dikembangkan pada sampel buah-buahan.
3. Mengembangkan penilaian validasi yang lebih luas, seperti ketangguhan metode ( *ruggedness*) dan kekuatan ( *robustness*).

**DAFTAR PUSTAKA**

- Andriani, V. 2007. Pengembangan Sensor Voltametri N<sub>2</sub>O Dengan Optimalisasi Polarisasi Elektroda Dan Konsentrasi Elektrolit Menggunakan Elektroda Kerja Perak (Ag). Skripsi:Universitas Jember.
- Andres, R. T., & Narayanaswamy, R. 1997. Fibre-optic pesticide biosensor based on covalently immobilized acetylcholinesterase and thymol blue. *Talanta*, 44(8): 1335-1352.
- Arif, A. 2017. Pengaruh bahan kimia terhadap penggunaan pestisida lingkungan. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*. 3(4):134–143.
- Arora, S. dan D. Bhanot. 2014. *Introduction to High Performance Liquid Chromatography by Lab-Trainin.com*. New Delhi, India: Kirti Nagar Industrial Area.
- Asnawati, D. Indarti, T. Mulyono, dan G. K. B. 2013. Biosensor amperometri untuk deteksi glukosa berbasis immobilisasi glukosa oksidase dalam membran selulosa asetat dengan ferrocene sebagai mediator. *Jurnal ILMU DASAR*. 14(1):45–51.
- Azis, T. 2011. Analisis residu pestisida diazinon dalam tanaman kubis (*Brassica oleracea*) menggunakan biosensor elektrokimia secara voltametri siklik. *Progres Kimia Sains*. 1(1):32–40.
- Badawy, M. E. I. dan A. F. El-Aswad. 2014. Bioactive paper sensor based on the *acetylcholinesterase* for the rapid detection of organophosphate and carbamate pesticides. *International Journal of Analytical Chemistry*. Hindawi Publishing Corporation.1-9.
- Baeumner, A. J. 2003. Biosensors for environmental pollutants and food contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 377(3):434–445.

- Dahlan, Sopiudin. 2004. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Bina Mitra Press.1:94-95.
- Eggins, B. R. 1996. *Immobilisation of Biological Component*. In: *Biosensors: An Introduction*. Verlag: Weisbaden.
- Ermer, J. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis Edited by J. Ermer and J. H. McB. Miller:LC / MS Applications in Drug Development*. French: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 202-204.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. I(3):117–135.
- He, X., Q. Zhu, F. Liao, L. Zhu, dan Z. Ai. 2007. Differential pulse voltammetric determination and application of square-wave voltammetry of yRNA on a cpb-cellulose modified electrode. *Electroanalysis*. 19(13):1375–1381.
- Herdariani, E., A. Daud, dan M. Selomo. 2013. Identifikasi residu pestisida klorpirifos dalam sayuran kol mentah di pasar terong kota makassar dan sayuran kol siap santap di kantin jasper universitas hasanuddin makassar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*
- Hiskia. 2007. Perkembangan teknologi sensor dan aplikasinya untuk diteksi radiasi nuklir. *Pusat Penelitian Elektronika Dan Telekomunikasi LIPI*. ISSN 0216-3128
- Huber, L. 2007. *Validation and qualification in analytical laboratories*. Edisi second edi. New York: Informa Healthcare USA. Inc
- Kamal, M. A. dan A. A. Al-Jafari. 1999. Kinetic constants for the inhibition of camel retinal acetylcholinesterase by the carbamate insecticide lannate. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 13(1):41–46.
- Kusumadjaja, A. P. dan R. P. Dewi. 2005. Penentuan kondisi optimum enzim papain dari pepaya burung varietas jawa. *Indonesian Journal Chemistry*. 5(2):147–151.

- Kuswandi, B. 2010. *Biosensor: Konsep, desain dan Eksperimentasi*, Jember: Jember University Press.
- Laba, I. W. 2010. Analisis empiris penggunaan insektisida menuju pertanian berkelanjutan. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 3(2):120–137.
- Marrs, T. T., & Ballantyne, B. 2004. *Pesticide toxicology and international regulation*. London,UK: John Wiley & Sons Ltd. (Vol. 1).
- Mashuni. 2012. Pengembangan biosensor elektrokimia berbasis enzim asetilkolinesterase untuk analisis residu pestisida pada produk pertanian. *Jurnal Agroteknos*. 2(2):69–76.
- Mutiatikum, D., & Sukmayati, A. 2009. Pemeriksaan Residu Pestisida Dalam Komoditi Beras yang Berasal dari Beberapa Kota Dalam Upaya Penetapan Batas Maksimum Pestisida (BMR). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*.
- Murti, B.T. 2013. Pengembangan Biosensor Berbasis Asetilkolinesterase Untuk Skrining Aktivitas Herbal Anti-alzheimer Pada Genus *Piper*. Skripsi:Universitas Jember.
- Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 107/Permentan/SR.140/9/2014 Tentang Pengawasan Pestisida.
- Prieto-Simón, B., M. Campàs, S. Andreescu, dan J. L. Marty. 2006. Trends in flow-based biosensing systems for pesticide assessment. *Sensors*. 6(10):1161–1186.
- Sanllorente-Méndez, S., O. Domínguez-Renedo, dan M. Julia Arcos-Martínez. 2010. Immobilization of acetylcholinesterase on screen-printed electrodes. application to the determination of arsenic(iii). *Sensors*. 10(3):2119–2128.
- Sassolas, A., B. Prieto-Simón, dan J.-L. Marty. 2012. Biosensors for pesticide detection: new trends. *American Journal of Analytical Chemistry*. 3(3):210–232.



- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. 2017. *Principles of instrumental analysis*. Boston, USA: Cengage learning.
- Soemirat. 2010. *Toksikologi Lingkungan, Cetakan III*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sudewa, K. A., D. N. Suprpta, dan M. S. Mahendra. 2009. Residu pestisida pada sayuran kubis (*brassica oleracea* l.) dan kacang panjang (*vigna sinensis* l.) yang dipasarkan di pasar badung Denpasar. *Echotropic*. 4(2):125–130.
- Suhara. 2008. *Dasar-Dasar Biokimia*. Bandung: Prisma Press.
- Syarfiah. 2015. Desain Biosensor Enzimatis Dengan Variasi Komposisi Membran Selulosa Asetat Untuk Analisis Pestisida Klorpirifos. Skripsi: Universitas Halu Oleo.
- Tavakoli, H. dan H. Ghourchian. 2010. Mono-enzyme biosensor for the detection of organophosphorous compounds. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 7(2):322–332.
- Velasco-Garcia, M. N. dan T. Mottram. 2003. Biosensor technology addressing agricultural problems. *Biosystems Engineering*. 84(1):1–12.
- Wulandari, L., M. Yuwono, & Indrayanto, G. 2012. Densitometric determination of mebydrolin napadisylate in tablets. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. 25(1):60-64.
- Yuantari, M. G. C., B. Widianarko, dan H. R. Sunoko. 2015. Analisis Risiko Pajanan Pestisida Terhadap Kesehatan Petani. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 10(2):239–245.
- Yusiasih, R. 2009. Homogenitas Target dalam Matrik pada Analisis Residu Pestisida Karbamat dalam Tomat. Bandung: *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 55:1–7.

LAMPIRAN

Lampiran A. Foto Alat



A.1 Em-Stat PalmSense®



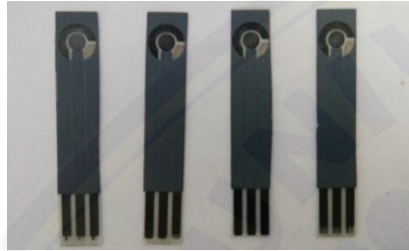
A.2 Laptop



A.3 Kabel konektor Em-Stat PalmSense® dengan elektroda



A.4 Kabel konektor Em-Stat PalmSense® dengan laptop



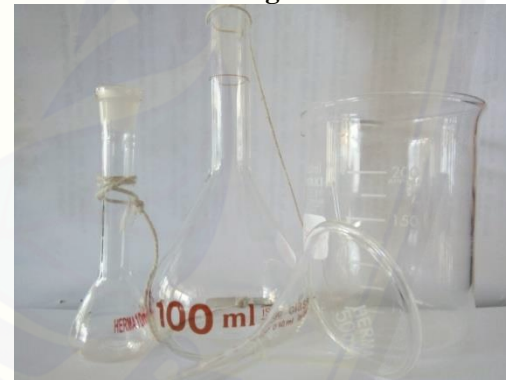
**A.5** *Screen printed electrode (SPE) dari EDAQ®*



**A.6** Timbangan analitik



**A.7** pH meter



**A.8** Alat- alat gelas



**A.9 Vial**



**A.10 Ultrasonik Homogenizer**



**A.11 Sentrifuse**



**A.12 HPLC**

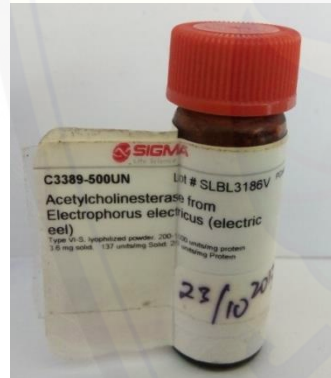


A.13 Filter holder dan spuit

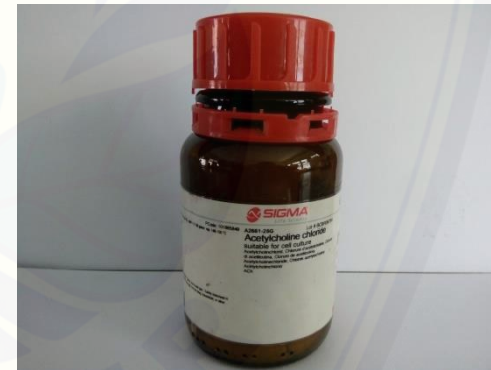


A.14 Lemari pendingin

**Lampiran B. Foto Bahan**



B.1 Enzim Asetilkolinesterase (AChE)



B.2 Substrat Asetilkolinklorida (AChCl)





**B.3 Pestisida Karbosulfan**

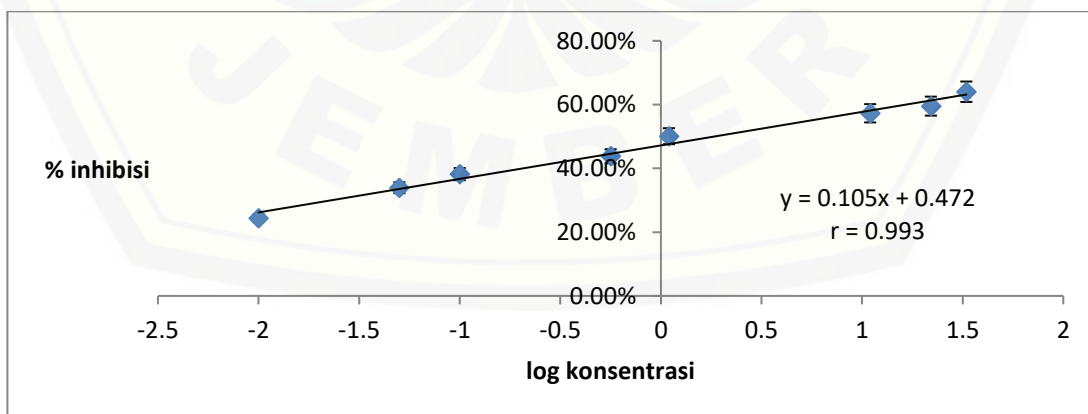
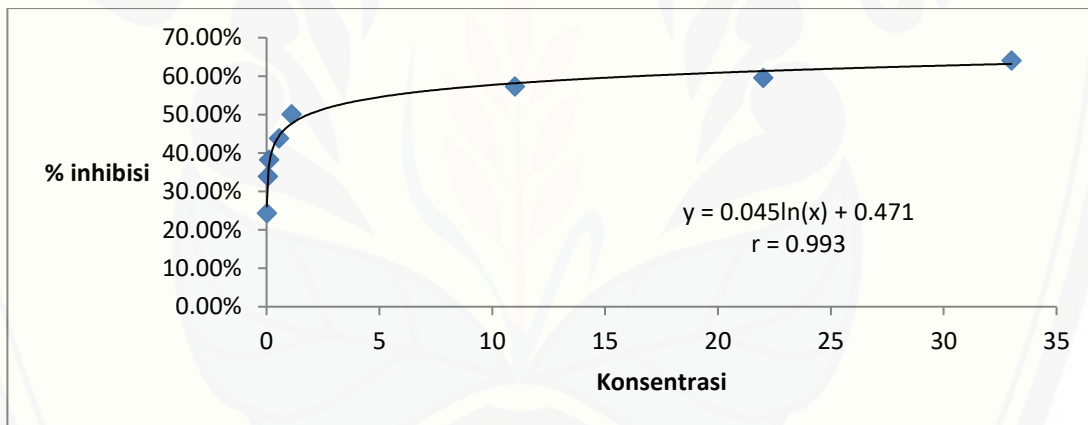


**B.4 Sampel Sayuran**

**Lampiran C. Korelasi konsentrasi vs % inhibisi untuk penentuan potensial kerja**

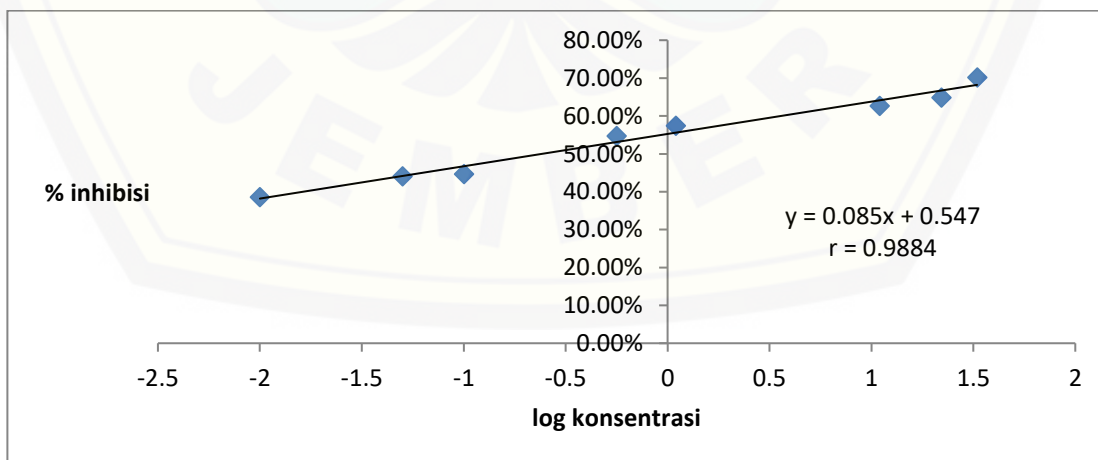
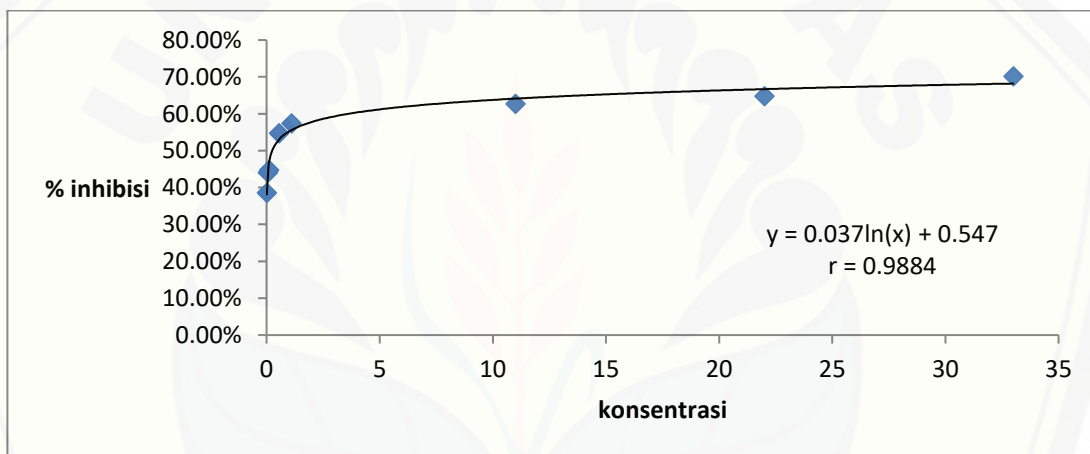
**C.1. Penentuan potensial pada -0,4 V**

Konsentrasi	log Konsentrasi	Rata-rata arus	$\Delta$ arus	% inhibisi
0,01	-2	0,826	2,564	24,37%
0,05	-1,3	1,15	2,24	33,92%
0,11	-1	1,295	2,095	38,20%
0,55	-0,25	1,485	1,905	43,81%
1,1	0,04	1,698	1,692	50,09%
11	1,04	1,942	1,448	57,29%
22	1,342	2,018	1,372	59,53%
33	1,518	2,171	1,219	64,04%



**C.2. Penentuan potensial pada -0,5 V**

Konsentrasi	log Konsentrasi	Rata-rata arus	Δ arus	% inhibisi
0,01	-2	1,3	2,09	38,55%
0,05	-1,3	1,49	1,9	44,02%
0,11	-1	1,52	1,87	44,67%
0,55	-0,25	1,85	1,54	54,67%
1,1	0,04	1,94	1,45	57,36%
11	1,04	2,12	1,27	62,66%
22	1,342	2,2	1,19	64,79%
33	1,518	2,38	1,01	70,11%



**Lampiran D. Perhitungan Optimasi Waktu Inhibisi****D.1. Hasil Optimasi Waktu Inhibisi**

Waktu	Arus	$\Delta$ arus	% inhibisi
Blanko	3,39	-	-
5	0,655	2,73	19,23%
10	0,865	2,52	25,44%
15	1,245	2,13	36,98%
20	1,541	1,84	45,56%
25	1,540	1,84	45,56%

**D.2. Contoh Perhitungan % Inhibisi**

$$I = \frac{(\text{Arus blanko} - \Delta \text{ arus})}{\text{Arus blanko}} \times 100 \%$$

$$I = \frac{(3,39 - 1,84)}{3,39} \times 100 \%$$

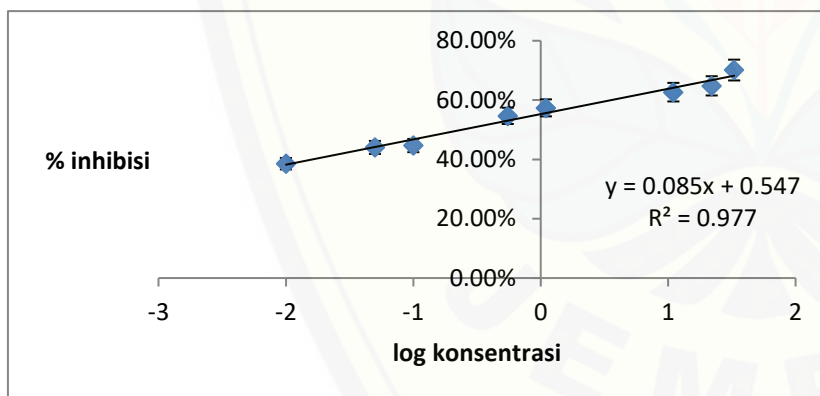
$$= 45,56 \%$$

## Lampiran E. Data dan Perhitungan Linieritas

### E.1. Data Konsentrasi Standar Pestisida

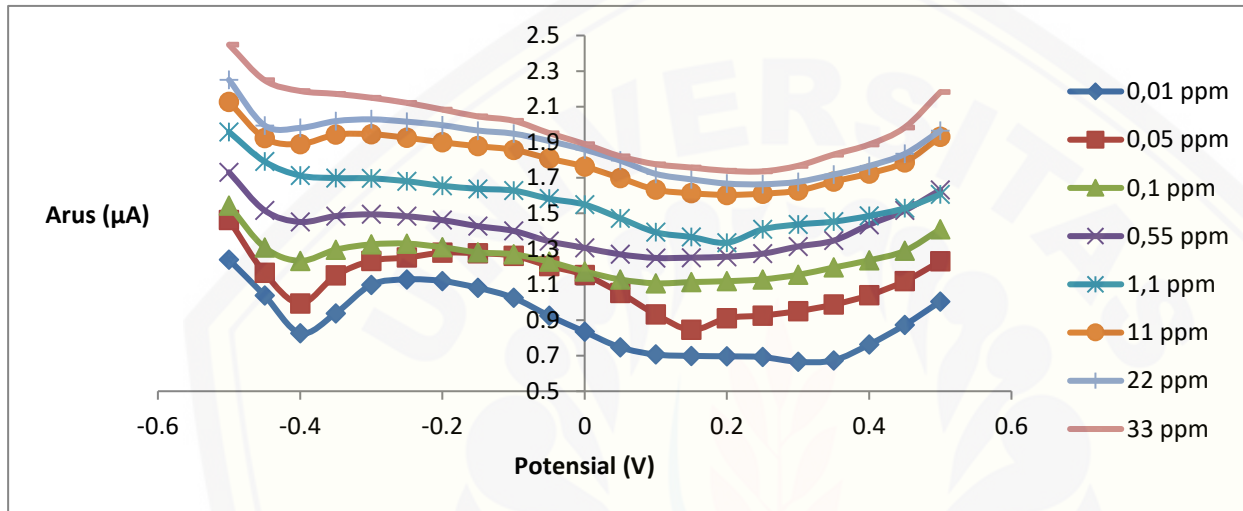
Standar (ppm)	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata arus	SD	RSD	Δarus	%inhibisi
0,01	3,39	1,23	1,34	1,34	1,30	0,066	5,12%	2,08	38,555%
0,05	3,39	1,46	1,54	1,49	1,49	0,039	2,66%	1,89	44,024%
0,1	3,39	1,54	1,52	1,15	1,52	0,014	0,93%	1,87	44,675%
0,55	3,39	1,73	1,90	1,94	1,85	0,112	6,04%	1,53	54,675%
1,1	3,39	1,93	1,95	1,96	1,94	0,017	0,88%	1,44	57,367%
11	3,39	2,12	2,13	2,13	2,12	0,008	0,38%	1,26	62,663%
22	3,39	2,09	2,25	2,26	2,20	0,095	4,34%	1,19	64,793%
33	3,39	2,25	2,44	2,45	2,38	0,112	4,74%	1,01	70,118%

### E.2. Kurva Hasil Penentuan Linieritas





**E.3. Voltamogram Penentuan Linieritas**



## Lampiran F. Data dan Perhitungan Hasil Uji Selektivitas

### F.1. Tabel Hasil Uji Selektivitas

Perbandingan	Bahan	Nilai arus ( $\mu\text{A}$ )			Rata-rata arus	$\Delta$ arus	% Inhibisi	%interferensi
		Rep 1	Rep 2	Rep 3				
-	Standar 0,1 ppm	1,540	1,526	1,517	1,527	1,87	44,83 %	-
1:1	0,1 ppm standar + 0,1 ppm kuersetin	1,547	1,551	1,553	1,550	1,84	45,72 %	1,985 %
1:10	0,1 ppm standar + 1 ppm kuersetin	1,561	1,544	1,563	1,556	1,834	45,89 %	2,364 %
1:100	0,1 ppm standar + 10 ppm kuersetin	1,568	1,569	1,569	1,568	1,821	46,28 %	3,234 %

### F.2. Perhitungan Selektivitas

#### a. Pestisida 0,1 : kuersetin 0,1 ppm

- Pestisida 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,11 \text{ ppm}$$

- Kuersetin 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1.000 = 10 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1 = 0,1 \text{ ppm}$$

b. Pestisida 0,1 : kuersetin 1 ppm

▪ Pestisida 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,11 \text{ ppm}$$

▪ Kuersetin 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1.000 = 10 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$$

c. Pestisida 0,1 : kuersetin 10 ppm

▪ Pestisida 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,11 \text{ ppm}$$

▪ Kuersetin 0,1 ppm

$$1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1.000 = 10 \text{ ppm}$$

### F.3. Perhitungan % Interferensi

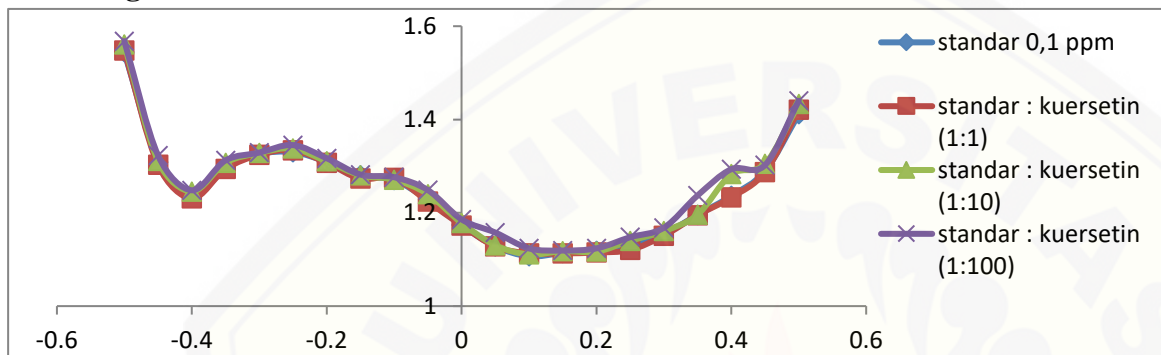
$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\% \text{ inhibisi standar dengan pengganggu} - \% \text{ inhibisi standar}}{\% \text{ inhibisi standar}} \times 100 \%$$

$$(1 : 1) = \frac{45,72 \% - 44,83 \%}{44,83 \%} \times 100 \% = 1,985 \%$$

$$(1 : 10) = \frac{45,89 - 44,83 \%}{44,83 \%} \times 100 \% = 2,364 \%$$

$$(1 : 100) = \frac{46,28 \% - 44,83 \%}{44,83 \%} \times 100 \% = 3,234 \%$$

**F.4. Voltamogram Penentuan Selektivitas**



**Lampiran G. Perhitungan nilai LOQ**

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10}{3} \times 0,005 \\ &= 0,015 \end{aligned}$$

**Lampiran H. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi**

Persamaan regresi :  $y = 0,085x + 0,547$

**H.1. Hasil Pengujian Repeatabilitas Presisi**

▪ Hasil Uji Presisi Hari Pertama

Sampel	Nilai arus	$\Delta$ arus	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b (%)
1	1,64	1,75	48,38 %	0,1778	0,000356
2	1,63	1,76	48,08 %	0,1659	0,000332
3	1,65	1,74	48,67 %	0,1954	0,000391
4	1,64	1,75	48,38 %	0,1778	0,000356
5	1,65	1,74	48,67 %	0,1954	0,000391
6	1,65	1,74	48,67 %	0,1954	0,000391
Rata- rata				0,1846	0,000369
SD				$2,51 \times 10^{-5}$	
% RSD				6,80 %	

▪ Hasil Uji Presisi Hari Kedua

Sampel	Nilai arus	$\Delta$ arus	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b (%)
1	1,65	1,74	48,67 %	0,1954	0,000391
2	1,66	1,73	48,97 %	0,2116	0,000423
3	1,64	1,75	48,38 %	0,1778	0,000356
4	1,67	1,72	48,26 %	0,2292	0,000458
5	1,66	1,73	48,97 %	0,2116	0,000423
6	1,66	1,73	48,97 %	0,2116	0,000423
Rata- rata				0,2062	0,000412
SD				$3,48 \times 10^{-5}$	
% RSD				8,44 %	



▪ Hasil Uji Presisi Hari Ketiga

Sampel	Nilai arus	Δ arus	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b (%)
1	1,64	1,75	48,38 %	0,1803	0,000391
2	1,64	1,75	48,38 %	0,1803	0,000423
3	1,66	1,73	48,97 %	0,2116	0,000356
4	1,63	1,76	48,08 %	0,1665	0,000458
5	1,67	1,72	49,26 %	0,2292	0,000423
6	1,63	1,76	48,08 %	0,1665	0,000423
Rata- rata				0,1891	0,000378
SD				5,13 x 10 <sup>-5</sup>	
% RSD				13,569 %	

## H.2. Contoh Perhitungan % b/b

▪ Kadar sampel

$$y = 0,085x + 0,547$$

$$0,4838 = 0,085x + 0,547$$

$$x = -0,743$$

antilog  $x = 0,1778$  ppm (dalam 10 ml sampel)

▪ Massa analit

$$0,1778 \times 10 = 1,778 \text{ ppm}$$

$$1,778 \text{ } \mu\text{g/ml} = 0,001778 \text{ mg/ml}$$

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

$$\% \text{ b/b} = \frac{0,001778}{500 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,000356 \%$$

### H.3. Contoh Perhitungan SD dan % RSD

% b/b (%)	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
0,000356	-0,000013	$1,69 \times 10^{-10}$
0,000332	-0,000037	$1,36 \times 10^{-9}$
0,000391	0,000022	$4,84 \times 10^{-10}$
0,000356	-0,000013	$1,69 \times 10^{-10}$
0,000391	0,000022	$4,84 \times 10^{-10}$
0,000391	0,000022	$4,84 \times 10^{-10}$
= 0,000369	$\sum(x - \bar{x})^2$	$3,15 \times 10^{-9}$
	SD	$2,51 \times 10^{-5}$
	%RSD	6,80 %

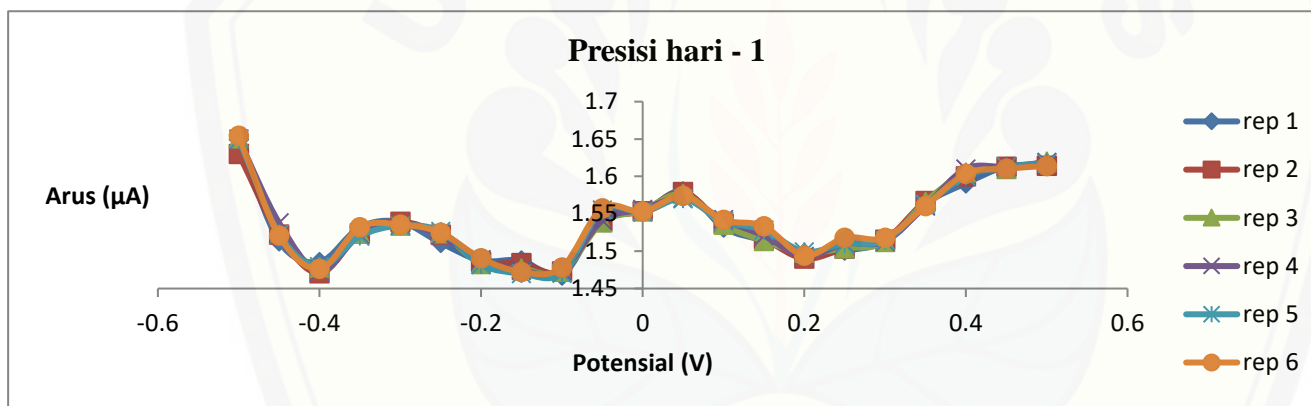
### H.4. Hasil Uji Presisi Antara ( pada 3 Hari Berbeda)

Hari ke-	Kadar b/b (%)	RSD (n=6)(%)
1	0,000369	6,80 %
2	0,000412	8,44 %
3	0,000378	13,56 %
Rata-rata RSD/CV		9,603 %

### H.5. Penentuan Konsentrasi Hasil Uji Presisi

Hari	Konsentrasi ( ppm)
1	0,1846
2	0,2062
3	0,1891
Rata-rata	0,193

### H.6. Voltamogram Penentuan Presisi



**Lampiran I. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Akurasi**

Persamaan regresi :  $y = 0,085x + 0,547$

**I.1. Hasil Pengujian Akurasi**

Adisi 30 %	Nilai arus	$\Delta$ arus	% Inhibisi	Konsentrasi percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% <i>recovery</i>
REP 1	1,679	1,711	49,53%	0,244	0,00244	$2,48 \times 10^{-3}$	98,39%
REP 2	1,674	1,716	49,38%	0,238	0,00238	$2,48 \times 10^{-3}$	95,97%
REP 3	1,679	1,711	49,53%	0,244	0,00244	$2,48 \times 10^{-3}$	98,39%
REP 4	1,680	1,71	49,56%	0,264	0,00248	$2,48 \times 10^{-3}$	100,00%
REP 5	1,676	1,714	49,44%	0,238	0,00238	$2,48 \times 10^{-3}$	95,97%
Rata-rata % recovery							97,74%
SD							0,0175
RSD							1,79 %

Adisi 45 %	Nilai arus	$\Delta$ arus	% Inhibisi	Konsentrasi percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% <i>Recovery</i>
REP 1	1,696	1,694	50,03%	0,279	0,00279	$2,73 \times 10^{-3}$	102,20%
REP 2	1,689	1,701	49,82%	0,265	0,00265	$2,73 \times 10^{-3}$	97,07%
REP 3	1,695	1,695	50,00%	0,279	0,00279	$2,73 \times 10^{-3}$	102,20%
REP 4	1,692	1,698	49,91%	0,272	0,00272	$2,73 \times 10^{-3}$	99,63%
REP 5	1,690	1,700	49,85%	0,272	0,00272	$2,73 \times 10^{-3}$	99,63%
Rata-rata % recovery							100,15%
SD							0,0214
RSD							2,14 %

Adisi 60 %	Nilai arus	$\Delta$ arus	% Inhibisi	Konsentrasi percobaan (ppm)	Massa percobaan (mg)	Massa teoritis (mg)	% <i>Recovery</i>
REP 1	1,709	1,681	50,41%		0,00313	$3,03 \times 10^{-3}$	103,30%
REP 2	1,703	1,687	50,24%	0,289	0,00289	$3,03 \times 10^{-3}$	95,38%
REP 3	1,699	1,691	50,12%	0,287	0,00287	$3,03 \times 10^{-3}$	94,72%
REP 4	1,708	1,682	50,38%	0,304	0,00304	$3,03 \times 10^{-3}$	100,33%
REP 5	1,705	1,685	50,29%	0,295	0,00295	$3,03 \times 10^{-3}$	97,36%
Rata-rata % recovery							98,22%
SD							0,0358
RSD							3,65 %

## I.2. Contoh Perhitungan % *recovery*

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Massa Hasil Percobaan}}{\text{Massa Hasil Teoritis}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ recovery Rep 1} = \frac{0,00244}{0,00248} \times 100 \% = 98,39\%$$

## I.3. Perhitungan Pembuatan Sampel Adisi

- Konsentrasi rata- rata hasil uji presisi pada 0,5 gram sampel yang dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml = 0,193 ppm
- Perhitungan penambahan sampel adisi
  - 30 % = 30 % x 0,193 = 0,055
  - 45 % = 45 % x 0,193 = 0,08
  - 60 % = 60 % x 0,193 = 0,11
- Pengenceran standar karbosulfan (11 g/L = 11.000 ppm )
  - 1 ml/10 ml x 11.000 = 1.100 ppm



$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$$

$$1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm (untuk sampel adisi 60 \% )}$$

$$5 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,55 \text{ ppm (untuk sampel adisi 30 \% )}$$

$$3 \text{ ml}/4 \text{ ml} \times 1,1 = 0,8 \text{ ppm ( untuk sampel adisi 45 \% )}$$

▪ 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 0,55 ppm dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml.

- Konsentrasi teoritis =  $0,193 + 0,055 = 0,248 \text{ ppm}$

- Massa teoritis =  $\frac{0,248}{1000} \times 10 = 2,48 \times 10^{-3} \text{ mg}$

- Sampel adisi 45 %

- 0,5 gram sampel diadkan dalam 10 ml aquadest, diultrasonik, disentrifugasi dan filtrat yang diperoleh + 1 ml standar pestisida 0,8 ppm dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml

- Konsentrasi teoritis =  $0,193 + 0,08 = 0,273 \text{ ppm}$

- Massa teoritis =  $\frac{0,273}{1000} \times 10 = 2,73 \times 10^{-3} \text{ mg}$

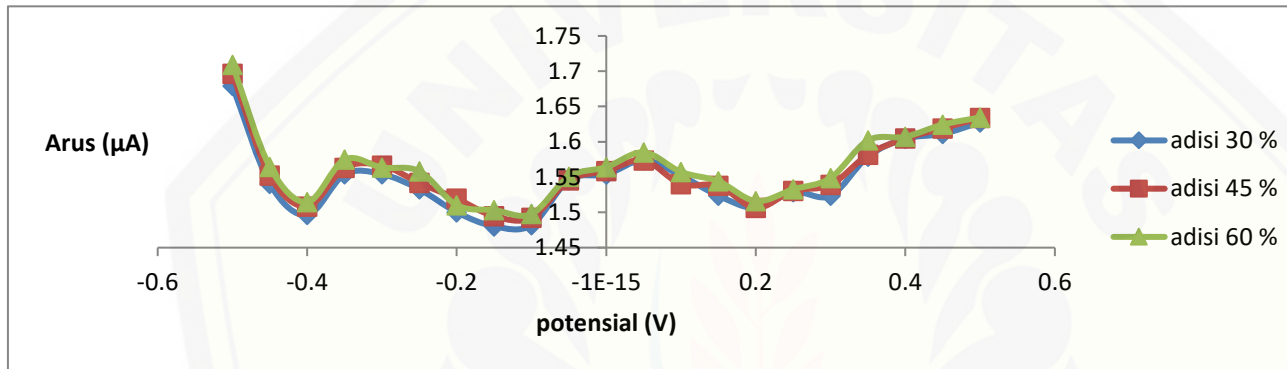
- Sampel adisi 60 %

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

- Konsentrasi teoritis =  $0,193 + 0,11 = 0,303 \text{ ppm}$

- Massa teoritis =  $\frac{0,303}{1000} \times 10 = 3,03 \times 10^{-3}$  mg

**I.4. Voltamogram Penambahan Sampel Adisi**



**Lampiran J. Data dan Perhitungan Penetapan Kadar Pestisida dalam Sayuran dengan Metode BiosensorElektrokimia**

**J.1. Hasil Penetapan Kadar Sampel**

Sampel	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata arus	Δ arus	% inhibisi	Konsentrasi ( ppm)
Kubis	1,759	1,752	1,762	1,758	1,633	51,84%	0,45
Sawi	1,781	1,788	1,796	1,788	1,602	52,75%	0,58
Selada	1,542	1,555	1,547	1,548	1,842	45,66%	0,08
Kangkung	1,742	1,754	1,757	1,751	1,639	51,65%	0,43
Tomat	1,599	1,594	1,596	1,596	1,794	47,09%	0,12

## J.2. Perhitungan Kadar Sampel

Persamaan regresi  $y = 0,085x + 0,547$

- Kubis

$$\begin{aligned}y &= 0,085x + 0,547 \\0,518 &= 0,085x + 0,547 \\x &= -0,34 \\ \text{antilog } x &= 0,45 \text{ ppm}\end{aligned}$$

- Sawi

$$\begin{aligned}y &= 0,085x + 0,547 \\0,527 &= 0,085x + 0,547 \\x &= -0,23 \\ \text{antilog } x &= 0,58 \text{ ppm}\end{aligned}$$

- Selada

$$\begin{aligned}y &= 0,085x + 0,547 \\0,456 &= 0,085x + 0,547 \\x &= -1,07 \\ \text{antilog } x &= 0,08 \text{ ppm}\end{aligned}$$

- Kangkung

$$\begin{aligned}y &= 0,085x + 0,547 \\0,516 &= 0,085x + 0,547 \\x &= -0,36 \\ \text{antilog } x &= 0,43 \text{ ppm}\end{aligned}$$

- Tomat

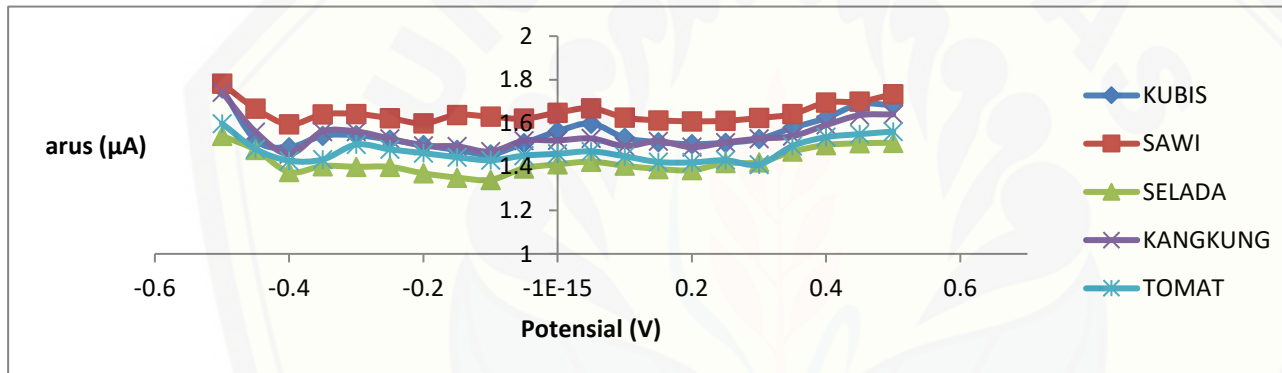
$$y = 0,085x + 0,547$$

$$0,470 = 0,085x + 0,547$$

$$x = -0,9$$

$$\text{antilog } x = 0,12 \text{ ppm}$$

### J.3 Voltamogram Sampel Sayuran



### Lampiran K. Analisis Pestisida dalam Sampel Sayuran dengan Metode HPLC

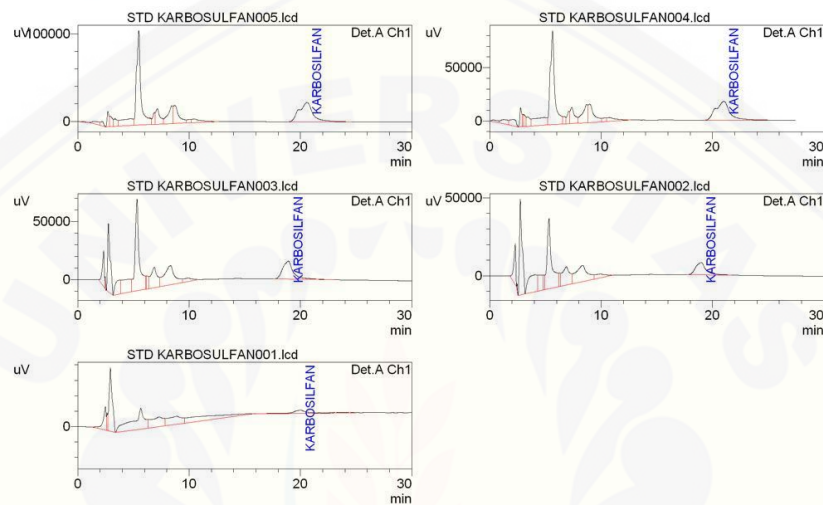
Parameter	Hasil
Linieritas	$y = 152679,4886x + 201088,0054$ $r = 0,9995$
LOD dan LOQ	LOD = 0,854 LOQ = 2,562

**K.1. Kromatogram Standar Pestisida Konsentrasi 1,1 ppm, 2,2 ppm, 5,5 ppm, 8,8 ppm dan 11 ppm**

9/20/2005 03:20:08 1 / 1

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

<Summary Report>



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: KARBOSILFAN

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units
STD KARBOSULFAN005D	KARBOSULFAN	STD-0005	20.602	1891196	11.000	11.065	mg/L
STD KARBOSULFAN004D	KARBOSULFAN	STD-0004	21.028	1532495	8.800	8.787	mg/L
STD KARBOSULFAN003D	KARBOSULFAN	STD-0003	18.909	1044513	5.500	5.532	mg/L
STD KARBOSULFAN002D	KARBOSULFAN	STD-0002	18.983	511735	2.200	2.200	mg/L
STD KARBOSULFAN001D	KARBOSULFAN	STD-0001	19.997	392134	1.100	1.100	mg/L
Average			19.904	1074415		5.737	
%RSD			4.765	59.958		73.824	
Maximum			21.028	1891196		11.065	
Minimum			18.909	392134		1.100	
Standard Deviation			0.948	644201		4.235	

Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
1664.314	150.212	1.208	3.562	39.370
1680.787	148.740	1.197	3.387	64.373
2540.913	98.390	1.432	3.433	7.146
2632.287	94.974	1.249	0.000	7.311
2508.293	99.669	1.288	0.000	10.319
2205.319	118.397	1.275	3.461	25.704
22.151	24.010	7.463	2.614	99.214
2632.287	150.212	1.432	3.562	64.373
1664.314	94.974	1.197	3.387	7.146
488.502	28.428	0.095	0.090	25.502

**K.2. Kurva Kalibrasi Standar Pestisida**

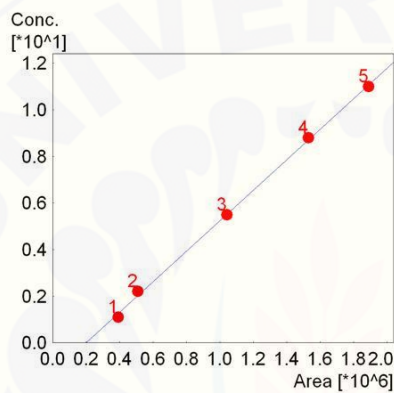


==== SHIMADZU ====

<Calibration Curve>

E:\PESTISIDA 2018 BIOSEN\LINIERITAS\STD KARBOSULFAN005.lcd

ID# : 1  
 Name : KARBOSILFAN  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=6.54396e-006*x-1.31093$   
 Rr = 0.9995644  
 FitType : Linear



No.	Conc (Ratio)	Area	Area	MeanArea	Area%RSD
1	1.100	392134.3	392134	392134.3	0.000000
2	2.200	511734.8	511735	511734.8	0.000000
3	5.500	1044513.1	1044513	1044513.1	0.000000
4	8.800	1532495.2	1532495	1532495.2	0.000000
5	11.000	1891196.0	1891196	1891196.0	0.000000

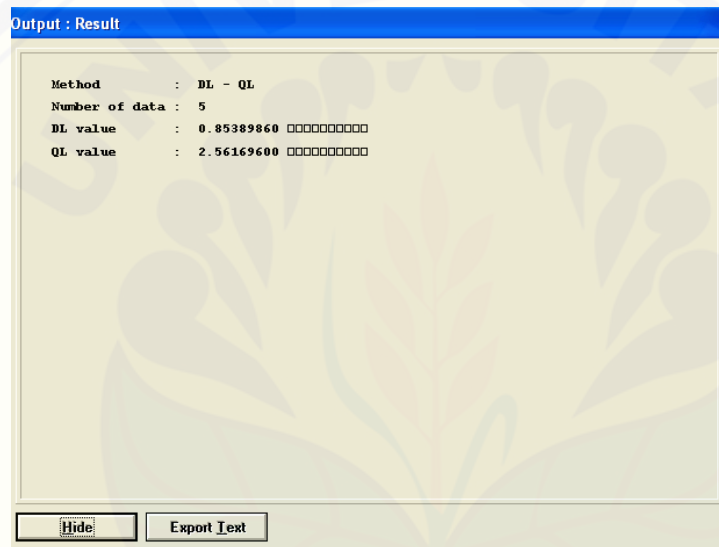
**K.3. Hasil Penentuan LOD dan LOQ**

Output : Result

```

Method          : Linearity
Probability      : 95%
Number of data  : 5
Line equation    : Y = 201088.10000000 + 152679.50000000X
Correlation coefficient : 0.99956430
Sy value        : 21953.44000000
Vx0 value       : 2.51377200%
Xp value        : 0.85389860

The Correlation coefficient is fulfilled the requirement ( > 0.99 )
The Vx0 value is fulfilled the requirement ( 0% to 5% )
The Xp value is OK ( < 1.10000000 )
    
```



#### K.4. Penambahan Sampel Adisi

- Masing-masing sayuran hasil preparasi sampel diadisi dengan menggunakan standar pestida sebesar 1,5 ppm.
- Perhitungan penambahan adisi :

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

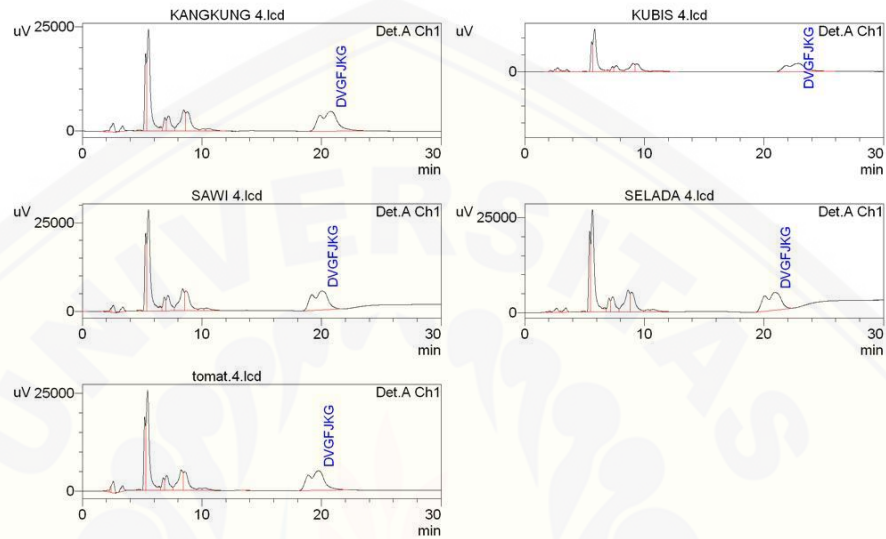
$$\frac{1.000 \mu\text{l}}{3.000 \mu\text{l}} \times 8,8 \text{ ppm} = 3 \text{ ppm}$$

Kemudian sampel diambil sebanyak 500  $\mu\text{l}$  dan ditambah dengan standar 3 ppm sebanyak 500  $\mu\text{l}$ .

#### **K.5. Kromatogram Penetapan Kadar Sampel**

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

<Summary Report>



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: DVGfJKG

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units
KANGKUNG 4.lcd	KANGKUNG 4	UNK-0024	20.761	481273	--	0.000	mg/L
KUBIS 4.lcd	KUBIS 4	UNK-0022	22.866	519656	--	0.000	mg/L
SAWI 4.lcd	SAWI 4	UNK-0025	20.051	495371	--	0.000	mg/L
SELADA 4.lcd	SELADA 4	UNK-0023	20.912	441925	--	0.000	mg/L
tomat.4.lcd	tomat.4	UNK-0028	19.751	466701	--	0.000	mg/L
Average			20.868	480985		0.000	
%RSD			5.830	6.090		0.000	
Maximum			22.866	519656		0.000	
Minimum			19.751	441925		0.000	
Standard Deviation			1.217	29293		0.000	

Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
1261.170	198.229	1.109	5.581	10.556
1304.353	191.666	1.096	5.725	11.121
1320.685	189.296	0.936	5.671	221.211
1337.266	186.949	0.884	5.804	10.672
1349.755	185.219	1.066	4.298	9.841
1314.646	190.272	1.018	5.416	52.680
2.620	2.664	9.987	11.636	178.838
1349.755	198.229	1.109	5.804	221.211
1261.170	185.219	0.884	4.298	9.841
34.447	5.069	0.102	0.630	94.213

**K.6. Perhitungan Penetapan Kadar Sampel dengan Metode HPLC**

Persamaan regresi  $y = 152679,4886x + 201088,0054$

- Kangkung

$$y = 152679,4886x + 201088,0054$$

$$481273 = 152679,4886x + 201088,0054$$

$$x = 1,83 \text{ ppm}$$
$$1,83 - 1,5 = 0,33 \text{ ppm}$$

▪ Kubis

$$y = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$519656 = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$x = 2,086 \text{ ppm}$$
$$2,086 - 1,5 = 0,586 \text{ ppm}$$

▪ Sawi

$$y = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$495371 = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$x = 1,927 \text{ ppm}$$
$$1,927 - 1,5 = 0,427 \text{ ppm}$$

▪ Selada

$$y = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$441925 = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$x = 1,577 \text{ ppm}$$
$$1,577 - 1,5 = 0,077 \text{ ppm}$$

▪ Tomat

$$y = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$466701 = 152679,4886x + 201088,0054$$
$$x = 1,739 \text{ ppm}$$
$$1,739 - 1,5 = 0,239 \text{ ppm}$$



**Lampiran L. Hasil Uji T-Test**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BIOSENSOR	.272	5	.200*	.877	5	.297
HPLC	.114	5	.200*	1.000	5	1.000

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	BIOSENSOR – HPLC	.000200	.128525	.057478	-.159385	.159785	.003	4	.997