



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR KERTAS UNTUK DETEKSI  
RESIDU PESTISIDA PADA SAYURAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Suhariyanti Mahardika  
NIM 142210101060**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR KERTAS UNTUK DETEKSI  
RESIDU PESTISIDA PADA SAYURAN**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Suhariyanti Mahardika  
NIM 142210101060**

**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 Soedarno dan Ibunda Anis Watin 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 Pertiwi Tuban, SD Negeri Kebonsari 1 Tuban, SMP Negeri 1 Tuban, SMA Negeri 1 Tuban 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**

“Never will you attain the good (reward) until you spend  
(in the way of Allah) from that which you love. And whatever you spend.

Indeed, Allah is knowing of it”

(QS. Ali ‘Imran: 92)<sup>1</sup>

“Badai dan gelombang yang datang merintang

Tak ‘kan merubah haluan cita-cita”

(Rhoma Irama)

---

<sup>1</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2015. *Al-Quran Terjemahan*. Bandung : Darus Sunnah

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama: Suhariyanti mahardika

NIM : 142210101060

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengembangan Biosensor Kertas untuk Deteksi Residu Pestisida pada Sayuran ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 1 Juli 2018

Yang menyatakan,

Suhariyanti Mahardika

NIM 142210101060

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR KERTAS UNTUK DETEKSI  
RESIDU PESTISIDA PADA SAYURAN**

Oleh :

Suhariyanti Mahardika

NIM 142210101060

**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**

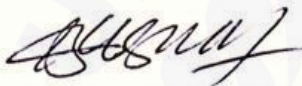
Skripsi berjudul “Pengembangan Biosensor Kertas untuk Deteksi Residu Pestisida pada Sayuran” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 12 Juli 2018

tempat : Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Ketua,

Anggota I,



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



Indah Purnama Sary, S.Si.,M.Farm.,Apt.  
NIP. 198204062006042002

Anggota II,

Anggota III,



Ari Satia N., S.F.,GdipSc,M.Sc-Res,Ph.D.,Apt.  
NIP. 197807212003121001



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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



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

NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengembangan Biosensor Kertas untuk Deteksi Residu Pestisida pada Sayuran;** Suhariyanti Mahardika, 142210101060; 2018; 107 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pestisida merupakan molekul alami atau buatan yang dapat membunuh atau mengurangi organisme hama yang berbahaya (Kavruk, 2010). Penggunaan pestisida sebagai bahan kimia pembunuh hama tentunya mempunyai batas maksimum. Menurut penelitian yang dilakukan oleh D. Mutiatikum (2009) menyimpulkan bahwa penggunaan pestisida pada produk pertanian terutama karbamat sebesar 0,0296 - 0,0755 mg/kg, sedangkan BMR (Batas Maksimum Residu) untuk karbamat yaitu sebesar 0,01 mg/kg/hari. Hal ini dapat berakibat pada besarnya residu pestisida yang melebihi batas maksimal yang terkandung. Pestisida dapat mengakibatkan kematian karena dehidrasi, kejang bronkus, paralisis otot pernafasan hingga kelumpuhan jika dikonsumsi dalam jangka panjang. Selain itu, pestisida dapat menghambat kerja enzim yang berperan dalam tubuh manusia, khususnya pestisida jenis karbamat dan organofosfat (Wispriyono dkk., 2013).

Analisis residu pestisida pada sayuran perlu dilakukan, agar dapat diketahui tingkat toksisitas serta resiko yang ditimbulkan baik terhadap makhluk hidup maupun lingkungan. Metode yang umum digunakan untuk mengetahui keberadaan pestisida yang berlebih dalam sayuran adalah *High Performance Liquid Chromatography* atau *Gas Chromatography* (Azis & Haluoleo, 2011). Namun kelemahan metode HPLC dan GC adalah biaya reagen yang mahal dan perlakuan ekstraksi serta pemurnian di laboratorium yang membutuhkan pelarut dan waktu analisis yang lebih lama sehingga mampu menimbulkan adanya resiko kesalahan. Oleh karena itu diperlukan suatu pengembangan alat pendeteksi residu pestisida yang murah, cepat dan mudah diaplikasikan (Azis & Haluoleo, 2011).



Pengembangan biosensor kertas diharapkan lebih efektif dan efisien dalam pengaplikasiannya untuk melakukan monitoring terhadap penggunaan pestisida pada sayuran dibandingkan dengan instrumen konvensional. Pengembangan biosensor kertas ini didasarkan pada reaksi inhibisi enzim asetilkolinesterase oleh pestisida.

Fabrikasi biosensor kertas pada penelitian ini dilakukan dengan mengimobilisasi bioreagen pada area deteksi kertas whatman yang telah disablon dengan ukuran diameter 0,5 cm. Pada biosensor kertas ini, linieritas yang didapat meliputi rentang konsentrasi 0,01-33 ppm dengan persamaan regresi yang diperoleh adalah  $y = 0,0846x + 0,6262$  dan nilai koefisien korelasi  $r = 0,9864$ . biosensor kertas ini tidak akan terganggu dengan adanya kuersetin dengan perbandingan kadar standar karbosulfan dan kuersetin sebesar 1:100. Nilai Batas Deteksi (LOD) yang diperoleh adalah 0,005 ppm sedangkan nilai Batas Kuantitasi (LOQ) adalah 0,0015 ppm. Pada perhitungan presisi diperoleh nilai RSD = 10,420%. Untuk penentuan akurasi dengan metode biosensor kertas diperoleh % *recovery* rata-rata sebesar 98,337%.

Berdasarkan hasil aplikasi sampel, metode biosensor kertas sebagai sensor pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengetahui kandungan residu pestisida pada 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 Kertas untuk Deteksi Residu Pestisida pada 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 Indah Purnama Sary S.Si., 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. Ibu Emma Rachmawati S.farm.,M.Farm.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama saya menjadi mahasiswa;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu dan berbagi pengalaman selama masa perkuliahan, juga staf dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama saya menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang selalu sabar dalam membantu dan memberikan saran selama penulis melakukan penelitian;
7. Orang tua tercinta Bapak Sudarno dan Ibu Anis Watin yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi yang tak terhingga untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;

8. Saudara tercinta mas Suhariyanto Mahardika dan mbak Marissa Sofia yang selalu menjadi penyemangat, tempat berbagi cerita dan bantuan;
9. Rekan kerja laboratorium kimia dan biosensor (Ary, Rafli, Zahra, Lelly, Arum, Alfi, Sheila, Ninik, Rizki, Resa, Ayu, Liya, Ain, Putu, Osi, Illa, Mia, Eva, Ainun, Laili, Mila, Fajar, Agus, Fitri dan Erika) dan tentor terbaik (mas Hilmi dan mbak Galen) atas segala masukan, *sharing* pengalaman, cerita dan bantuan yang telah diberikan;
10. Sahabat Melodi (Tara dan Vinsen) yang selalu setia menemani dan memberikan semangat;
11. Sahabat Seperjuangan (Milie dan Intan) yang selalu menjadi penyemangat, tempat berbagi cerita dan bantuan;
12. Sahabat seperantauan (Tata, Mala, Azza, Steffani) yang selalu memberikan semangat, doa dan dukungan;
13. Kepala Kelurahan Kademangan, Kec. Bondowoso, Kab. Bondowoso dan Teman seperjuangan KKN kelompok 27 (Yuli, Riflina, Erlina, Okta, Reny, Reski, Shodiq, Mas Dhito dan Stevianus) yang telah memberikan semangat dan dukungan;
14. Sahabat Kecil (Niza, Lia, Ariska, Alifia, Rani) yang selalu memberi motivasi dan dukungan;
15. Rekan Pasgassus Smansa “lovely” (Diva dan Hema) yang telah memberikan semangat dan dukungan;
16. Keluarga Besar UKMO FASSENDEN yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan;
17. Teman-teman angkatan 2014 Fakultas Farmasi Universitas Jember (Pharmagen) yang tidak dapat disebutkan satu per satu;
18. 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, 1 Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

<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 PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<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>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Batasan Masalah.....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Pestisida</b> .....	<b>3</b>
2.1.1 Jenis Pestisida .....	5
2.1.2 Tinjauan tentang insektisida karbamat.....	5
2.1.3 Bahaya Pestisida .....	6
<b>2.2 Tinjauan Sayuran</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3 Biosensor</b> .....	<b>7</b>
2.3.1 Penggunaan Biosensor .....	8
2.3.2 Biosensor Enzim .....	9
2.3.3 Karakterisasi Biosensor.....	9
<b>2.4 Tinjauan tentang Enzim Asetilkolinesterase</b> .....	<b>13</b>
2.4.1 Inhibisi enzim dengan karbamat .....	13

2.4.2 Substrat Asetilkolin klorida.....	14
<b>2.5 Immobilisasi Enzim .....</b>	<b>15</b>
<b>2.6 Teknik Sablon.....</b>	<b>18</b>
2.6.1 Alat.....	18
2.6.2 Proses Cetak Sablon.....	19
<b>2.7 Pembuatan Biosensor Kertas.....</b>	<b>20</b>
2.7.1 Prinsip Kerja Biosensor Kertas .....	20
<b>2.8 Indikator penentuan pH.....</b>	<b>21</b>
<b>2.9 Tinjauan tentang <i>Image J</i> .....</b>	<b>22</b>
<b>2.10 . Tinjauan Uji Residu Pestisida dengan Metode <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>26</b>
3.3.2 Diagram Alur Penelitian .....	27
<b>3.4 Alat dan Bahan.....</b>	<b>29</b>
3.4.1. Alat.....	29
3.4.2. Bahan .....	29
<b>3.5 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>29</b>
3.5.1 Preparasi Bahan .....	29
<b>3.6 Desain Konstruksi Biosensor Kertas.....</b>	<b>30</b>
<b>3.7 Pengukuran Analit Terhadap Biosensor Kertas.....</b>	<b>31</b>
<b>3.8 Optimasi Biosensor Kertas.....</b>	<b>32</b>
3.8.1 Optimasi Warna Red/Green/Blue/RGB pada <i>Image J</i> .....	32
3.8.2 Optimasi Volume Substrat dan Indikator BCP .....	33
3.8.3 Optimasi Konsentrasi Substrat Asetilkolin Klorida.....	33
3.8.4 Optimasi Waktu Inhibisi.....	33
<b>3.9 Karakteristik Biosensor Kertas.....</b>	<b>34</b>
3.9.1 Linieritas .....	34
3.9.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	34
3.9.3 Selektivitas (interferensi).....	34



3.9.4 Presisi.....	35
3.9.5 Akurasi.....	35
<b>3.10 Pengukuran Analit dengan Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....</b>	<b>36</b>
3.10.1 Preparasi Sampel.....	36
3.10.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Karbosulfan pada HPLC.....	36
<b>3.11 Aplikasi Metode Biosensor Kertas pada Sampel Sayuran Dibandingkan dengan Metode HPLC .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Fabrikasi Biosensor Kertas .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2 Optimasi Biosensor Kertas.....</b>	<b>57</b>
4.2.1 Optimasi Warna Red/Green/Blue/RGB pada <i>Image J</i> .....	57
4.2.2 Optimasi Volume Substrat dan Indikator <i>Bromocresol Purple</i> .....	58
4.2.3 Optimasi Konsentrasi Substrat Asetilkolin .....	60
Keterangan : .....	61
4.2.4 Optimasi Waktu Inhibisi .....	61
<b>4.3 Karakteristik Biosensor Pestisida.....</b>	<b>62</b>
4.3.1 Linieritas .....	62
4.3.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	65
4.3.3 Selektivitas (% interferensi).....	66
4.3.4 Presisi.....	67
4.3.5 Akurasi.....	68
<b>4.4 Metode Biosensor Kertas pada Sampel Sayuran dibandingkan dengan metode HPLC.....</b>	<b>69</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>71</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>71</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>72</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>73</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>58</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Persen <i>recovery</i> analit pada konsentrasi yang berbeda.....	12
Tabel 2.2 Rentang Kesalahan yang Dijinkan pada setiap Konsentrasi Analit pada Sampel.....	12
Tabel 3.1 Kondisi analisis HPLC.....	36
Tabel 4. 1 Optimasi volume substrat dan Indikator.....	59
Tabel 4. 2 Optimasi konsentrasi substrat .....	60
Tabel 4. 3 Tabel hasil karakterisasi linieritas.....	63
Tabel 4. 4 Penentuan nilai RSD pada linieritas.....	66
Tabel 4. 5 Nilai batas deteksi dan kuantitasi.....	66
Tabel 4. 6 Hasil pengujian selektivitas .....	67
Tabel 4. 7 Hasil uji presisi selama 3 hari .....	68
Tabel 4. 8 Hasil pengujian akurasi (n=5).....	69
Tabel 4. 9 Hasil pengukuran konsentrasi pestisida dengan menggunakan metode biosensor kertas dan metode HPLC .....	70

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Struktur Kimia Karbosufan (Martindale, 2009).....	5
Gambar 2.2 Prinsip Kerja Biosensor (Kuswandi, 2010).....	8
Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AChE (Badawy & El-aswad, 2014) .....	13
Gambar 2.4 Inhibisi AChE oleh Karbamat (Marrs, 2004).....	14
Gambar 2.5 metode <i>Cross linking</i> (Kuswandi, 2010).....	16
Gambar 2.6 Metode Ikatan Kovalen (Kuswandi, 2010) .....	16
Gambar 2.7 Metode Adsorpsi (Kuswandi, 2010) .....	17
Gambar 2.8 Metode Enkapsulasi (Kuswandi, 2010) .....	17
Gambar 2.9 Metode <i>Entrapment</i> (Kuswandi, 2010).....	17
Gambar 2.10 Prinsip Kerja Biosensor Kertas. ....	21
Gambar 2.11 Struktur Kimia <i>Bromocresol purple</i> (Sabnis, 2008). ....	22
Gambar 2.12 Program <i>Image J</i> (Reinking, 2007).....	23
Gambar 2.13 Sistem RGB <i>Image J</i> .....	24
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian.....	27
Gambar 3.2 Desain Biosensor Kertas Deteksi Pestisida (dimodifikasi dari (Shi dan Iang, 2002) .....	31
Gambar 4. 1 Biosensor kertas simulasi.....	57
Gambar 4. 2 Biosensor kertas nyata.....	57
Gambar 4. 3 Hasil kurva penentuan warna image j .....	58
Gambar 4. 4 Grafik optimasi volume substrat Asetilkolin dan indikator BCP.....	59
Gambar 4. 5 Grafik optimasi konsentrasi substrat .....	60
Gambar 4. 6 Optimasi waktu inhibisi .....	61
Gambar 4. 7 Kurva kalibrasi inhibisi karbosulfan terhadap konsentrasi AChE ...	64
Gambar 4. 8 Kurva kalibrasi inhibisi karbosulfan terhadap log konsentrasi AChE .....	65



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara agraris, yakni negara yang produk-produk pertaniannya diunggulkan. Berdasarkan Data Laporan Tahunan Badan Ketahanan Pangan Tahun 2016, ditunjukkan bahwa komoditas sayur dan buah yang sering dikonsumsi masyarakat seperti bayam, kubis, sawi, tomat dan anggur dari tahun 2012-2016 sangat fluktuatif dan menurun. Hal ini dapat disebabkan karena serangan hama yang tidak dapat diprediksi dan menimbulkan kerugian yang besar. Untuk mengatasi masalah ini, para petani memilih untuk menggunakan pestisida.

Pestisida merupakan molekul alami atau buatan yang dapat membunuh atau mengurangi organisme hama yang berbahaya (Kavruk, 2010). Pestisida telah cukup lama digunakan terutama dalam bidang pertanian. Penggunaan pestisida sebagai bahan kimia pembunuh hama tentunya mempunyai batas maksimum. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mutiatikum (2009) menyimpulkan bahwa penggunaan pestisida pada produk pertanian terutama karbamat sebesar 0,0296 - 0,0755 mg/kg, sedangkan BMR (Batas Maksimum Residu) untuk karbamat yaitu sebesar 0,01 mg/kg/hari (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016). Hal ini dapat berakibat pada besarnya residu pestisida yang melebihi batas maksimal yang terkandung. Pestisida dapat mengakibatkan kematian karena dehidrasi, kejang bronkus, paralisis otot pernafasan hingga kelumpuhan jika dikonsumsi dalam jangka panjang. Selain itu, pestisida dapat menghambat kerja enzim yang berperan dalam tubuh manusia, khususnya pestisida jenis karbamat dan organofosfat (Wispriyono dkk., 2013).

Hal tersebut menunjukkan bahwa meskipun diketahui berdampak negatif bagi kesehatan dan lingkungan penggunaan pestisida secara berlebihan tetap terjadi. Sebenarnya peraturan tentang sistem pertanian organik telah dimuat dalam Peraturan Menteri Pertanian No. 64/Permentan/OT.140/5/2013. Namun, tetap ditemukan beberapa petani-petani yang tidak bertanggung jawab dalam penggunaan pestisida di berbagai tempat.

Analisis residu pestisida pada sayuran perlu dilakukan, agar dapat diketahui tingkat toksisitas serta resiko yang ditimbulkan baik terhadap makhluk hidup maupun lingkungan. Metode yang umum digunakan untuk mengetahui keberadaan pestisida yang berlebih dalam sayuran adalah *High Performance Liquid Chromatography* atau *Gas Chromatography* (Azis & Haluoleo, 2011). Namun kelemahan metode HPLC dan GC adalah biaya reagen yang mahal dan perlakuan ekstraksi serta pemurnian di laboratorium yang membutuhkan pelarut dan waktu analisis yang lebih lama sehingga mampu menimbulkan adanya resiko kesalahan. Oleh karena itu diperlukan suatu pengembangan alat pendeteksi residu pestisida yang murah, cepat dan mudah diaplikasikan (Azis & Haluoleo, 2011).

Biosensor adalah piranti analitis yang menggunakan interaksi biologi untuk menghasilkan sinyal baik secara kualitatif atau kuantitatif (Kuswandi, 2010). Material biologi tersebut terintegrasi dengan sebuah *transducer* fisika-kimia yang bisa berupa optik, elektrokimia, kolorimetri dan akustik (Grabowska dkk., 2014). Dari beberapa jenis *transducer*, kolorimetri merupakan metode deteksi yang paling mudah, murah dan cepat untuk diaplikasikan. Biosensor optik dengan kolorimetri tentunya membutuhkan adanya penanda yani dengan suatu indikator asam basa. Salah satu indikator asam basa yang dapat digunakan untuk reaksi inhibisi enzim adalah *Bromocresol Purple* (BCP) (Andreou dan Clonis, 2002). Indikator BCP mempunyai rentang pH 5,2-6,8 (Sabins, 2008), hal ini memungkinkan terjadinya perubahan warna pada hasil reaksi antara bioreagen yang digunakan. Terdapat sebuah komponen yang mendukung fungsi dari biosensor, yaitu *platform* yang merupakan tempat terjadinya reaksi biokimia antara komponen biologis dan analit. Biosensor kertas merupakan salah satu *platform* yang mampu mendeteksi analit dengan kebutuhan reagen yang lebih murah, tidak memerlukan volume sampel dalam jumlah banyak, dan waktu analisis yang cukup singkat (Noh dkk., 2011). Penelitian ini diharapkan dapat mendeteksi keberadaan residu pestisida dengan lebih mudah dan efisien



## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana fabrikasi biosensor dan kondisi optimal biosensor untuk deteksi residu pestisida meliputi konsentrasi substrat Asetilkolinesterase, volume substrat dan indikator BCP dan waktu inhibisi enzim oleh pestisida?
2. Bagaimana karakteristik biosensor kertas untuk deteksi residu pestisida meliputi linieritas, LOD & LOQ, selektivitas, presisi dan akurasi dengan menggunakan perubahan warna?
3. Apakah biosensor kertas dapat diaplikasikan untuk deteksi residu pestisida pada sayuran?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui fabrikasi dan kondisi optimal biosensor kertas untuk deteksi residu pestisida.
2. Untuk mengetahui karakteristik biosensor kertas untuk deteksi residu pestisida meliputi linieritas, LOD & LOQ, selektivitas dan presisi dan akurasi dengan menggunakan perubahan warna,
3. Untuk mengetahui aplikasi biosensor kertas dalam deteksi residu pestisida.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Pengembangan biosensor kertas yang mampu mendeteksi residu pestisida pada sayuran secara cepat, tepat, mudah.
2. Mengasah kemampuan, kreativitas, dan keahlian mahasiswa pelaksana di bidang pengembangan biosensor.
3. Penilitan diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.

## 1.5 Batasan Masalah

1. Jenis pestisida yang dideteksi adalah karbamat (karbosulfan) karena lebih banyak beredar di pasaran.
2. Sayuran yang digunakan yaitu kangkung, kubis, sawi, selada dan tomat sebagai sampel model.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pestisida

Secara harfiah, “pestisida” berarti pembunuh hama. (*pest* : hama dan *cide* : membunuh). Pestisida merupakan senyawa yang dapat berupa molekul alami maupun buatan yang berfungsi untuk membunuh bahkan mengurangi organisme hama yang berbahaya/merugikan (Kavruk, 2010). Selain itu, berdasarkan SK Menteri Pertanian RI Nomor 434.1/Kpts/TP.270/7/2001, tentang Syarat dan Tata Cara Pendaftaran Pestisida, Pestisida merupakan semua zat kimia atau bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk tujuan berikut :

- a. Memberantas dan mencegah hama yang merusak tanaman, bagian tanaman dan hasil pertanian.
- b. Memberantas rerumputan.
- c. Mematikan daun dan mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan.
- d. Mengatur atau merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian-bagian tanaman.
- e. Memberantas atau mencegah hama- hama pada hewan peliharaan.
- f. Memberantas hama – 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-binatang yang bisa menyebabkan penyakit pada manusia (Djojsumarto, 2008).

Pestisida dapat diklasifikasikan menurut kegunaannya menjadi Bakterisida, fungisida, herbisida, insektisida, mitisida, larvisida dll. Dari semua golongan pestisida tersebut, yang paling sering digunakan dalam jumlah cukup besar adalah herbisida, insektisida dan fungisida. Menurut Badan Perlindungan Lingkungan (EPA) Amerika, saat ini tercatat sebanyak 2.600 bahan aktif pestisida yang masih diperdagangkan. Dari sekian banyak bahan aktif, 575 berupa herbisida, 610 insektisida, 670 fungisida dan nematisida, 125 rodentisida dan 600 jenis disinfektan (Sastroutomo, 1992).



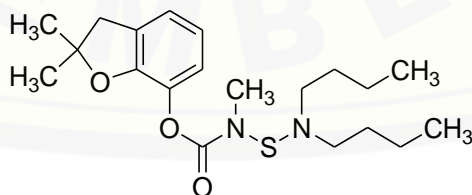
### 2.1.1 Jenis Pestisida

Berdasarkan Departemen Kesehatan Republik Indonesia Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan (2000), pestisida digolongkan menurut bahan aktifnya menjadi organoklorin, dinitrifenol, pyretoid, *fumigant*, organofosfat dan karbamat. Dari berbagai jenis bahan aktif yang terkandung dalam pestisida, golongan karbamat dan organofosfat lebih sering digunakan oleh kalangan petani karena mempunyai sifat toksis yang luas (Endang Puji dkk., 2007). Insektisida golongan karbamat yang sering digunakan dalam bidang pertanian adalah karbofuran (Furadan®), aldikarb (Temik®) dan karbaril (Sevin®) (Indraningsih, 2008). Jenis pestisida yang mudah didapatkan yakni karbosulfan yang tergolong dalam golongan karbamat.

### 2.1.2 Tinjauan tentang insektisida karbamat

Insektisida ini pertama kali diperkenalkan oleh Ciba Geigy dari Swiss pada tahun 1951. Insektisida golongan karbamat lebih banyak digunakan di masa kini. Sifat-sifat senyawa golongan ini hampir mirip dengan sifat yang dimiliki oleh golongan organofosfat, baik dari segi aktivitas maupun daya racunnya. Senyawa karbamat adalah turunan dari asam karbamik HO-CO-NH<sub>2</sub>. Senyawa karbamat mampu menghambat enzim kolinesterase (Sastroutomo, 1992).

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



Gambar 2.1 Struktur Kimia Karbosulfan (Martindale, 2009)

Nama IUPAC : 2,3-Dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl  
(dibutylaminothio) methylcarbamate.

Rumus umum :  $C_{20}H_{32}N_2O_3S$

BM : 380,5

Karbosulfan merupakan salah satu pestisida golongan karbamat yang berfungsi sebagai larvisida pada bidang pertanian.

### 2.1.3 Bahaya Pestisida

Pencemaran lingkungan terutama di bidang pertanian disebabkan oleh penggunaan bahan kimia. Bukti adanya penggunaan bahan kimia, dalam hal ini adalah pestisida, mampu meningkatkan produksi dan membuat dampak lebih efisien dan ekonomis pada bidang pertanian itu sendiri. Pencemaran akibat adanya pestisida tidak saja pada lingkungan, namun juga dapat membahayakan manusia dan hewan. Dimana, residu pestisida dapat terakumulasi pada produk pertanian maupun perairan (Sofia, 2001). Apabila penggunaan pestisida dilakukan sesuai aturan dapat memberikan keuntungan, namun apabila tidak, akan menimbulkan berbagai kerugian seperti keracunan, gangguan kesehatan, pencemaran lingkungan dan residu pada produk pangan (Indraningsih, 2008).

## 2.2 Tinjauan Sayuran

Sayuran adalah setiap bagian tanaman yang dapat dimakan oleh manusia. Jika dilihat dari sudut botani, sayuran dapat digolongkan sebagai berikut :

- a. Sayuran berupa daun : bayam, kangkung, katuk, sawi dan selada, kubis.
- b. Sayuran berupa batang muda dari tanaman : asparagus dan rebung.
- c. Sayuran berupa umbi : wortel, lobak.
- d. Sayuran berupa bunga tanaman : kembang kol, brokoli dan jantung pisang.
- e. Sayuran berupa buah : tomat, terung, kacang panjang, cabai, mentimun dan buncis.
- f. Sayuran berupa jenis kacang-kacangan : kacang merah dan kacang kapri.



Sayuran juga memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh. Hal ini disebabkan kandungan zat gizi di dalam sayuran sangat beragam. Diantaranya sebagai berikut:

- a. Kadar air tinggi : 70-95%
- b. Kadar lemak rendah : kurang dari 0,5%
- c. Kadar protein rendah : kurang dari 3,5%
- d. Kadar karbohidrat tinggi
- e. Sumber mineral (Fe dan Ca)
- f. Sumber vitamin (A dan C) (Wirakusumah, 2010).

### 2.3 Biosensor

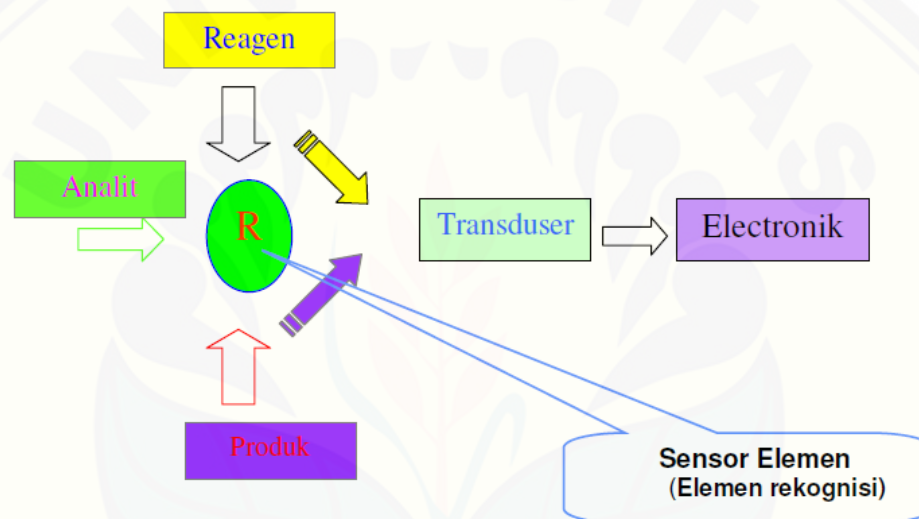
Biosensor adalah sebuah peralatan analisis yang menggunakan material biologi atau biomolekul (misalnya jaringan, organel, sel, antibodi, enzim, DNA dan sebagainya) secara terintegrasi dengan sebuah transduser fisika-kimia (misalnya optik, termometrik, elektrokimia, piezoelektrik atau magnetik) yang dapat menghasilkan sinyal elektronik (diskret dan kontinyu) yang proporsional dengan jumlah suatu analit atau kelompok analit tertentu (Kuswandi, 2010). Secara umum, prinsip kerja biosensor yaitu molekul yang secara spesifik dan selektif hanya bereaksi dengan analit tertentu untuk menghasilkan sinyal baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

Ditinjau dari bagian-bagian yang ada dalam sebuah biosensor untuk dapat bekerja secara optimal sesuatu penggunaannya, maka sebuah biosensor dibagi dalam 3 (tiga) bagian penting, yaitu :

- (a) Bagian pengenalan biologis (pendeteksiannya secara biomolekul/biokimia). Pada bagian inilah biomolekul atau bioelemen (enzim, antibodi, DNA dan sel) ditempatkan atau diintegrasikan, sering disebut diimmobilisasi pada permukaan sensor.
- (b) Bagian transduksi (pengubah menjadi sinyal). Bagian ini dapat berupa transduksi elektrokimia atau optik.

(c) Bagian pemrosesan sinyal (*signal processing*) yang kemudian ditampilkan dalam bentuk tampilan atau *data display*. Bagian ini dapat berupa sirkuit elektronik yang mengubah atau memproses sinyal menjadi sinyal listrik yang kemudian dilakukan penguatan untuk meningkatkan sensitivitas kerja suatu biosensor, setelah itu dapat diberikan dalam bentuk tampilan dari suatu sinyal *display* pada monitor/data (Kuswandi, 2010).

Secara skematis, bagian – bagian tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Prinsip Kerja Biosensor (Kuswandi, 2010)

### 2.3.1 Penggunaan Biosensor

Penggunaan biosensor telah berkembang sangat luas, diantaranya meliputi bidang kesehatan (diagnosis klinik maupun biomedis) misalnya pada pengembangan teknologi molekular untuk diagnosa penyakit kanker (Keith E. Herold, 2012), pertanian dan pangan, farmasi industri (manufakturing dan uji kualitas obat, kosmetik dan zat-zat toksik) (Kuswandi, 2010)

Dalam literatur yang lain, penggunaan biosensor dapat digunakan sebagai sensor keamanan dan bioteroris yang memanfaatkan deteksi pada senjata yang digunakan (Nikolelis, 2016).

### 2.3.2 Biosensor Enzim

Biosensor enzim merupakan piranti analitik yang menggunakan enzim sebagai elemen pensensoran 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 dikonsumsi gas – gas tertentu (misalnya  $\text{NH}_3$ ,  $\text{O}_2$  atau  $\text{CO}_2$ ), cahaya emisi, reflektansi atau 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 dianalisa (Kuswandi, 2010).

### 2.3.3 Karakterisasi Biosensor

Karakterisasi digunakan untuk mengetahui unjuk kerja reagen dalam biosensor kertas. Karakteristik ini 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 praktek, 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 koefisien 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 suatu metode merupakan kemampuan yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam 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 atau zat-zat lain yang dapat mengganggu hasil analisis (Kuswandi, 2010).

#### c. Batas Deteksi (LOD) dan batas Kuantitasi (LOQ)

LOD merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang mampu memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. 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).

Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko dan formula seperti persamaan 2.1 dibawah ini (Harmita, 2004) :

$$Q = \frac{k \times SB}{s_1} \dots\dots\dots(2.1)$$

Keterangan :

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

$k$  = 3 untuk LOD atau 10 untuk LOQ

$S_b$  = simpangan baku respon analitik dari blanko

$S_1$  = arah garis linier dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope  
 Simpangan baku respon ( $S_b$ ) dapat dihitung dengan persamaan 2.2 berikut :

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2}} \dots\dots\dots(2.2)$$

dengan  $y_i = a + bx$

#### d. Akurasi

Akurasi atau kecermatan merupakan ukuran yang dapat menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan. Biasanya biosensor memiliki akurasi yang baik, yakni di bawah  $\pm 5\%$  (Harmita, 2004). Kecermatan dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Kecermatan yang tinggi dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematik seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan plarut yang baik, pengontrolan suhu dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004). Perhitungan % *recovery* yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel 2.1.

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots(2.3)$$



Tabel 2.1 Persen *recovery* analit pada konsentrasi yang berbeda

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

Sumber : Huber (2007)

#### e. Presisi

Presisi merupakan keterdekatan respon biosensor untuk analit yang sama. Pada umumnya dinyatakan dengan standart deviasi (s), baik standart deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (CV) (Douglas A. 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 2.2

Tabel 2.2 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel

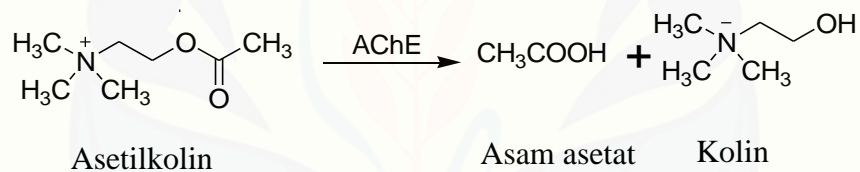
Analit pada matrik sampel (%)	Unit	RSD (%)
100	100%	1,3
$\geq 10$	10%	2,8
$\geq 1$	1%	2,7
$\geq 0,01$	0,1%	3,7
0.01	100 ppm	5,3
0.001	10 ppm	7,3
0.0001	1 ppm	11
0,00001	100 ppb	15
0,000001	10 ppb	21

Huber (2007)



## 2.4 Tinjauan tentang Enzim Asetilkolinesterase

Enzim Asetilkolinesterase (AChE) merupakan salah satu enzim yang terlokalisasi pada jaringan otak manusia. Enzim AChE adalah enzim yang 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 ini dijelaskan pada gambar 2.3. Mekanisme hidrolisis Ach berlangsung secara bertahap melalui mekanisme asilenzim yang melibatkan serin nukleofilik dari sisi esteratik AChE. Penghambatan ini mampu menurunkan konsentrasi asetilkolin. Mekanisme ini berlangsung secara cepat dengan kecepatan katalisis yang bergantung pada kecepatan difusi (*diffusion rate*) antara substrat dan enzim dengan waktu penggantian sekitar 100  $\mu$ detik (Al-Jafari, 1999).



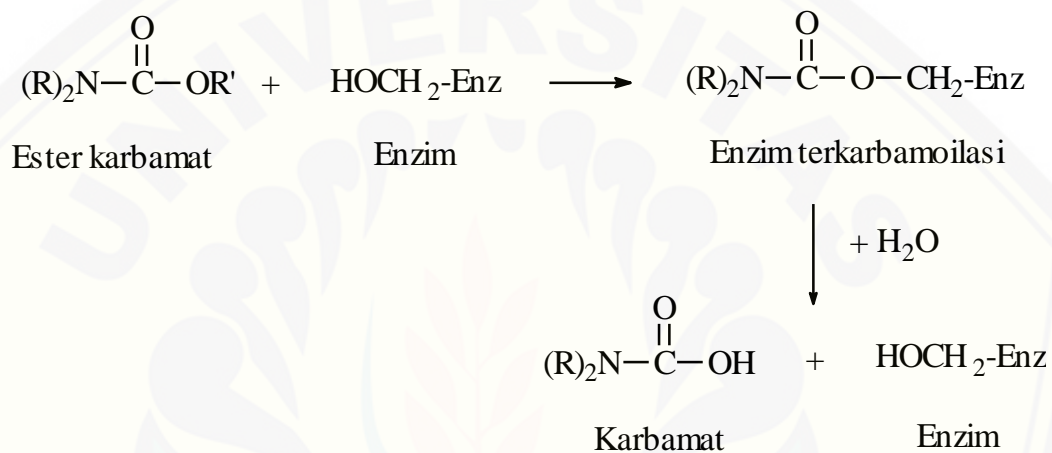
Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis asetilkolin oleh AChE (Dvir dkk., 2010)

Enzim asetilkolinesterase akan memecah asetilkolin menjadi asam asetat dan kolin (Richard, 1995).

### 2.4.1 Inhibisi enzim dengan karbamat

Mekanisme aksi karbamat adalah dengan menghambat aktivitas AChE sehingga asetilkolin yang dihidrolisis semakin berkurang. Kamal dan Jafari (1999) menjelaskan bahwa mekanisme ini dapat ditulis dengan interaksi lannate dengan analogi hidrolisis substrat pada gambar 2.4. Pada langkah pertama, terbentuk suatu kompleks reversibel yang dikenal dengan nama kompleks *Michaelis* dengan formasi yang dikendalikan dengan disosiasi yang konstan ( $K_d = k_{-1}/k_1$ ) (Kamal & Al-jafari, 1999). Pada penelitian sebelumnya, tahap ini disebut sebagai tahap yang instan atau seketika (Forsberg dan Puu, 1984).

Hayes (2010) menjelaskan bahwa penghambatan dan reaktivasi enzim terjadi ketika adanya ikatan karbamat dengan Ach yang menyerang gugus hidroksil pada sisi serin. Selanjutnya, ACh dan AChE yang awalnya sudah terbentuk, akan kehilangan gugus kolin pada enzim yang diasilasi. Dealkilasi enzim oleh adanya H<sub>2</sub>O. Kemudian terjadi ikatan reversibel oleh inhibitor edrophonium. Secara lebih singkat, mekanisme inhibisi AChE oleh karbamat dapat dilihat dalam gambar 2.4.



Gambar 2.4 Inhibisi AChE oleh karbamat (Siswodihardjo, 2016)

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).

#### 2.4.2 Substrat Asetilkolinklorida

Asetilkolinklorida akan mengalami reaksi hidrolisis dengan enzim asetilkolinesterase. Pada reaksi ini ini mampu meningkatkan konsentrasi Ach dan menyebabkan peningkatan aktivasi reseptor nikotinik dan sinaps muskarinik (Al-Jafari, 1999). Hambatan yang dilakukan oleh enzim pada substrat ini berlangsung cepat dan bersifat reversibel, sementara penghambatan enzim oleh selain substrat seperti karbamat menyebabkan kerusakan enzim sehingga diperlukan sintesis enzim baru pada transmisi norama. Penglompokan adanya ikatan reversibel dan ireversibel

anata enzim dan pengikatnya baik substrat maupun penghambat yang lain pada dasarnya menunjukkan perbedaan dalam lamanya ikatan yang terjadi. Substrat asetilklorida merupakan reseptor spesifik untuk enzim asetilkolinesterase (Dennis Willows, 2013).

## 2.5 Immobilisasi Enzim

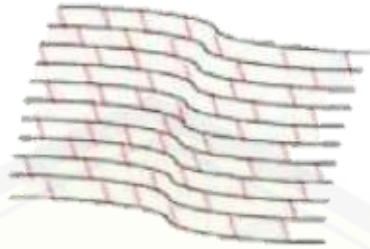
Kuswandi (2010) menjelaskan bahwa supaya sebuah biosensor mempunyai kemampuan analisis yang baik, maka biomolekul/bioreseptor yang akan menentukan biodeteksi terhadap target analit, harus selalu terikat secara permanen pada permukaan biosensor atau transduser. Oleh karena itu, immobilisasi dari biomolekul tersebut memegang peranan penting dalam menentukan hasil kerja secara keseluruhan dari sebuah biosensor.

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

Immobilisasi biomolekul pada permukaan sensor dapat dilakukan dengan beragam cara. Secara umum teknik immobilisasi biomolekul atau bioreseptor dapat dilakukan baik secara kimia maupun fisika. Secara kimia ada dua metode, yaitu pembentukan ikatan kovalen dan *cross linking*. Secara fisika ada beberapa proses penyerapan (*adsorpsi*), pemerangkapan (*entrapment*), pengkapsulan (*encapsulasi*) dan interaksi elektrostatis. Berikut beberapa teknik immobilisasi reagen (Kuswandi, 2010) :

### a. *Cross linking*

*Cross linking* adalah dengan metode menggunakan suatu senyawa kimia (glutaraldehid) yang mengikatkan reagen pada membran (Guisan, 2006)



Gambar 2.5 metode *Cross linking* (Kuswandi, 2010)

b. Ikatan kovalen

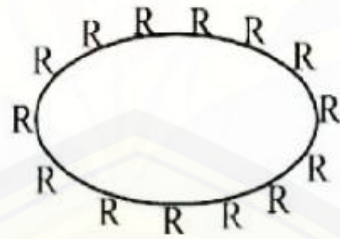
Ikatan kovalen terjadi pada gugus fungsi material dengan matrik pendukung. Untuk mencapai kondisi ini maka perlu kontrol seperti pada temperatur rendah, kekuatan ion yang kecil dan pH yang netral. Penggunaan rancangan gugus fungsi terhadap membran digunakan untuk mendapat ikatan kovalen. Bagian yang akan dikaitkan merupakan bukan bagian dari sisi aktif (Guisan, 2006).



Gambar 2.6 Metode Ikatan Kovalen (Kuswandi, 2010)

c. Adsorpsi

Teknik adsorpsi atau penyerapan ini merupakan teknik yang sederhana dan memerlukan sedikit preparasi, namun interaksi antara reagen dan matriks sangat lemah. Teknik ini melibatkan ikatan *van der Waals* dan ikatan ion. Adsorpsi merupakan peristiwa penyerapan suatu zat oleh zat lainnya atau dapat didefinisikan sebagai perubahan pada suatu permukaan (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.7 Metode Adsorpsi (Kuswandi, 2010)

d. **Enkapsulasi**

Pada teknik ini digunakan membran semipermeabel yang mampu memerangkap dan menjerat reagen dipermukaan. Teknik ini cukup tahan terhadap perubahan kondisi seperti perubahan suhu, pH, kekuatan ion dan komposisi kimia (Guisan, 2006).



Gambar 2.8 Metode Enkapsulasi (Kuswandi, 2010)

e. **Entrapment**

Teknik ini digunakan untuk menjerat reagen dalam polimer yang bersifat permeabel. Biasanya dilakukan dengan mencampurkan reagen dengan larutan monomer atau polimer dan kemudian ditambah dengan plastisizer. Penambahan plastisizer dimaksudkan untuk membuat ikatan silang polimer sehingga terbentuk ruang kosong dan polimer menjadi lebih lentur (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.9 Metode *Entrapment* (Kuswandi, 2010)



## 2.6 Teknik Sablon

Cetak sablon atau cetak saring merupakan suatu teknik cetak tertua dan termudah dari semua teknik cetak yang ada. Selain itu, teknik sablon memiliki keunggulan, yaitu dapat diterapkan pada semua media maupun bidang. Teknik ini banyak dipakai untuk mencetak gambar atau tulisan pada benda yang memiliki permukaan yang datar. Media permukaan benda datar yang dapat dipakai antara lain kartu, poster, spanduk dan kaos (Nusantara, 2003)

### 2.6.1 Alat

Dalam proses menyablon dibutuhkan alat alat seperti berikut (Nusantara, 2003):

- a. *Screen* yang berupa kain berpori dan digunakan sebagai pencetak gambar. Pori-pori dari lubang tersebut bertugas untuk mengatur jumlah tinta yang keluar. *Screen* yang digunakan berdasarkan lubang pori-pori dibagi menjadi 2 jenis yaitu *Screen* untuk menyerap air yang sering digunakan untuk menyablon kaos. *Screen* sedang yang tidak banyak menyerap air seperti kulit imitasi dan kertas. *Screen* halus untuk bahan yang tidak dapat menyerap air seperti kaca, mika dan plastik.
- b. Raker merupakan sebuah alat bantu untuk menerapkan tinta sablon yang digunakan oleh *screen*. Jenis raker berdasarkan fungsinya yaitu raker lunak yang memerlukan banyak tinta dan raker keras yang hanya memerlukan sedikit tinta dan dapat menghasilkan hasil yang detail dan halus.
- c. Meja berguna sebagai alas dalam proses pembuatan sablon dan tempat untuk benda yang akan disablon.
- d. Kipas angin yang digunakan sebagai alat bantu mempercepat proses pengeringan sablon.
- e. Bahan cetak yang digunakan pada proses pembuatan sablon adalah tinta sablon dan pengencer. Tinta digunakan sebagai pembentuk gambar. Pengencer digunakan sebagai pengatur viskositas dari tinta. Adapun jenis tinta menurut Guntur (2003) adalah sebagai berikut :



### 1) Tinta Berdasarkan Pengencer

Ada dua tipe yaitu Tinta *Water Base* dan Tinta *Solvent Base*. Tinta *Water Base* menggunakan air sebagai pengencer. Tinta *Solvent Base* menggunakan minyak sebagai pengencer tinta.

### 2) Tinta Berdasarkan Penggunaannya

Berdasarkan penggunaannya ada dua jenis yaitu Tinta Tekstil dan Tinta non Tekstil. Tinta Tekstil dibagi menjadi dua macam yaitu tinta timbul dan tinta tidak timbul. Sedangkan tinta non tekstil dibagi menjadi beberapa jenis yaitu tinta kertas dan tinta plastik dan fungsinya sesuai dengan media yang digunakan.

## 2.6.2 Proses Cetak Sablon

Adapun proses cetak sablon yaitu melalui tahapan-tahapan sebagai berikut (Nusantara, 2003) :

### a. Pembuatan Desain

Desain Biosensor Kertas yang menjadi pola cetak sablon dan berupa gambar dapat dibuat secara manual maupun digital. Desain manual dapat dilakukan dengan membuat gambar diatas kertas kalkir. Sedangkan jika menggunakan desain digital dapat menggunakan beberapa *software* grafis seperti *photoshop* dan *corel draw*. Dan kemudian dicetak di atas kertas kalkir dengan warna hitam putih dan dioleskan minyak kelapa agar sinar matahari dapat masuk ke kertas yang bening pada proses pengafdrukan.

### b. Proses afdruk film

Proses afdruk film merupakan proses pemindahan gambar ke *Screen* dengan menggunakan cahaya ultraviolet. Bahan yang digunakan yaitu larutan emulsi dan sensitizer. Proses afdruk film dimulai dengan melarutkan cairan emulsi dengan sensitizer kemudian dioleskan secara merata pada kain *Screen*. Kemudian kain *screen* tersebut dikeringkan dengan kipas angin atau hairdryer. Proses ini dilakukan diruang gelap agar terhindar dari UV karena dapat membakar lapisan

afdruk. Setelah beberapa menit screen atau desain dibasahi dengan air kemudian mengoreksi gambar dengan screen laquer yang berfungsi sebagai penutup image area yang tidak diinginkan menjadi non image area. Proses terakhir dalam proses afdruk film adalah penyinaran akhir sebagai finishing. Kemudian dibiarkan kering sebelum digunakan.

c. Menyablon

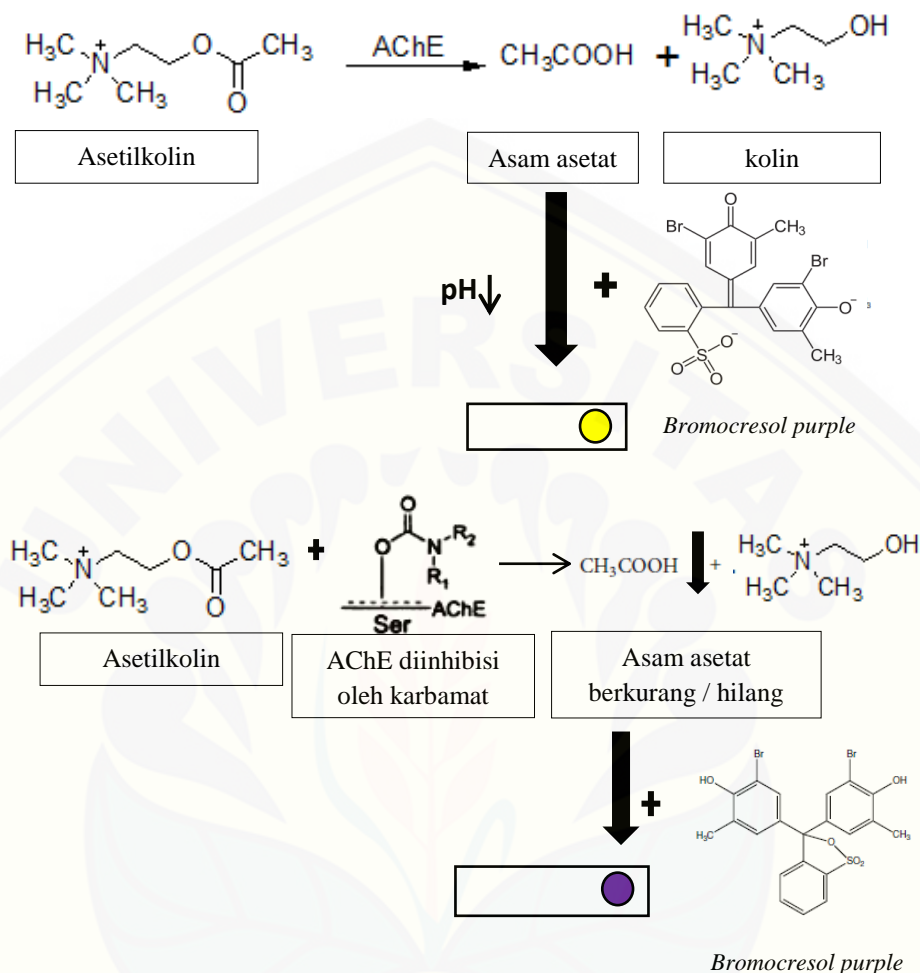
Yang pertama dilakukan yaitu mempersiapkan dengan memasang screen pada media, setelah itu dilakukan pemulasan cat. Pada proses pewarnaan diusahakandimuali dari warna terang kemudian warna gelap. Diratakan dengan rakel kemudian dikeringkan. Proses penyablonan diawali dengamn mengunci screen pada meja yang dilapisi kaca kemudian cat yang sudah siap dituang dan diratakan dengan rakel.

## 2.7 Pembuatan Biosensor Kertas

Dalam penelitian ini, biosensor kertas digunakan sebagai alat untuk analisis yang dapat mendeteksi residu pestisida. Biosensor kertas dibuat dari bahan utama kertas saring “Whatman” yang terbuat dari selulosa. Biosensor kertas dibuat dengan desain tertentu agar dapat digunakan untuk imobilisasi reagen pada tempat kerja biosensor. Penelitian ini menggunakan teknik cetak sablon dengan menggunakan tinta yang mampu menahan cairan sehingga diharapkan reagen dan sampel tetap terperangkap dalam tempat kerja tersebut.

### 2.7.1 Prinsip Kerja Biosensor Kertas

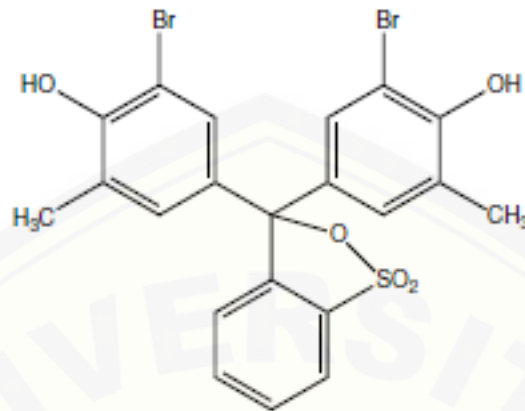
Prinsip kerja biosensor kertas yang mengandung enzim, substrat dan indikator adalah ketika keberadaan enzim dihambat dengan adanya pestisida, maka warna indikator akan cenderung tidak berubah atau tetap ungu. Sedangkan ketika sampel tidak mengandung pestisida, warna pada indikator akan berubah dari ungu ke kuning. Prinsip kerja biosensor kertas dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.10 Prinsip kerja biosensor kertas

## 2.8 Indikator penentuan pH

Indikator asam-basa merupakan suatu zat yang dapat berubah warna pada pH tertentu. Indikator asam-basa terletak pada titik ekuivalen dan ukuran dari pH. Salah satu indikator asam-basa adalah *Bromocresol purple*. *Bromocresol purple* merupakan salah satu indikator asam-basa golongan *sulfoneftalen*. *Bromocresol purple* dapat digunakan sebagai indikator pH, pewarna dan marker warna dan bekerja pada rentang pH 5,2 sampai 6,8 dengan perubahan warna kuning pada pH 5,2 ke ungu pada pH 6,8. Indikator ini dapat larut dalam air, etanol, eter dan etil asetat (Sabnis, 2008)

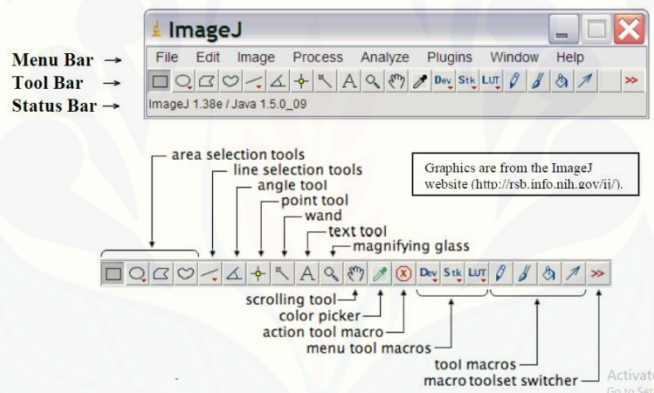


Gambar 2.11 Struktur kimia *bromocresol purple* (Sabnis, 2008)

## 2.9 Tinjauan tentang *Image J*

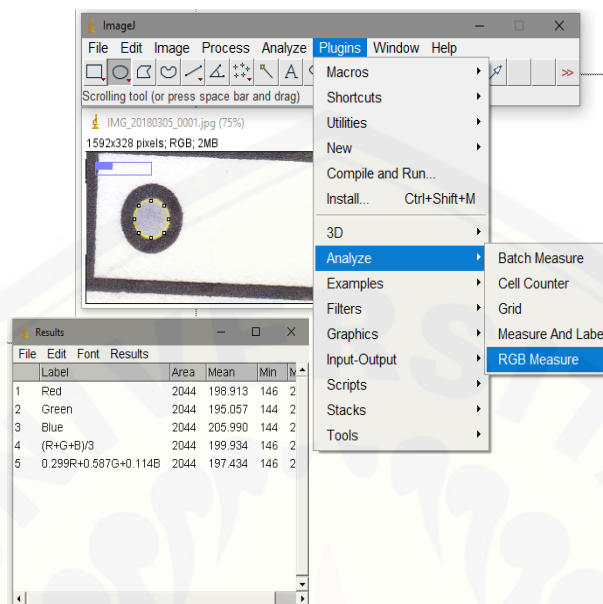
*Image J* merupakan suatu program yang dapat digunakan untuk analisis gambar, program ini diproduksi oleh *National Institute of Health*. Menu dalam *Image J* terdiri dari menu bar, tool bar dan status bar yang dapat dilihat pada gambar 2.12 (Reinking, 2007). Cara kerja dari *image J* ini ketika kursor berada pada daerah gambar, akan muncul koordinat yang dapat diukur dalam piksel/detik. Pixel merupakan titik tunggal dalam pencitraan atau elemen paling kecil yang dapat dikenali, ketajaman gambar adalah jumlah digit biner (bit) yang diperlukan untuk menggambarkan piksel. Selain itu, *image J* dapat digunakan untuk mengulur gambar grayscale yang memiliki ketajaman lebih dari 1 bit atau hanya dapat menunjukkan piksel dalam gambar hitam putih sampai 32 bit per piksel. Sedangkan untuk gambar yang terdiri dari tiga warna yang mewakili warna primer (merah, hijau, dan biru) karena warna-warna ini merupakan warna yang dapat menghasilkan spektrum sehingga dapat terlihat oleh pembaca. Intensitas tertinggi dari campuran warna tersebut maka akan diperoleh cahaya putih. Intensitas akan menjadi nol ketika semua warna dicampurkan secara bersama-sama dan menghasilkan cahaya hitam (Reinking, 2007).

RGB (Merah, hijau dan biru) paling sering digunakan karena dapat menghasikan spektrum yang dapat terlihat oleh pembaca. Namun, terdapat alternatif lainnya seperti HSB (*Hue*, Saturasi dan kecerahan) yang mampu memberikan hasil yang signifikan saat memproses informasi warna. Pada sistem HSB, *hue* menggambarkan atribut warna murni, saturasi (dapat disebut juga “*purity*” atau “*vibrancy*”) yang berarti seberapa banyak warna putih yang ditambahkan pada warna murni, kecerahan yang menggambarkan kecerahan keseluruhan warna. Dalam hal pengolahan *digital imaging*, menggunakan sistem HSB lebih menguntungkan daripada sistem RGB. Sesuai dengan versi grayscale dari suatu gambar yang hanya memproses kecerahan (Tiago Ferreira, 2012).



Gambar 2.12 Program *Image J* (Reinking, 2007)



Gambar 2.13 Sistem RGB *Image J*

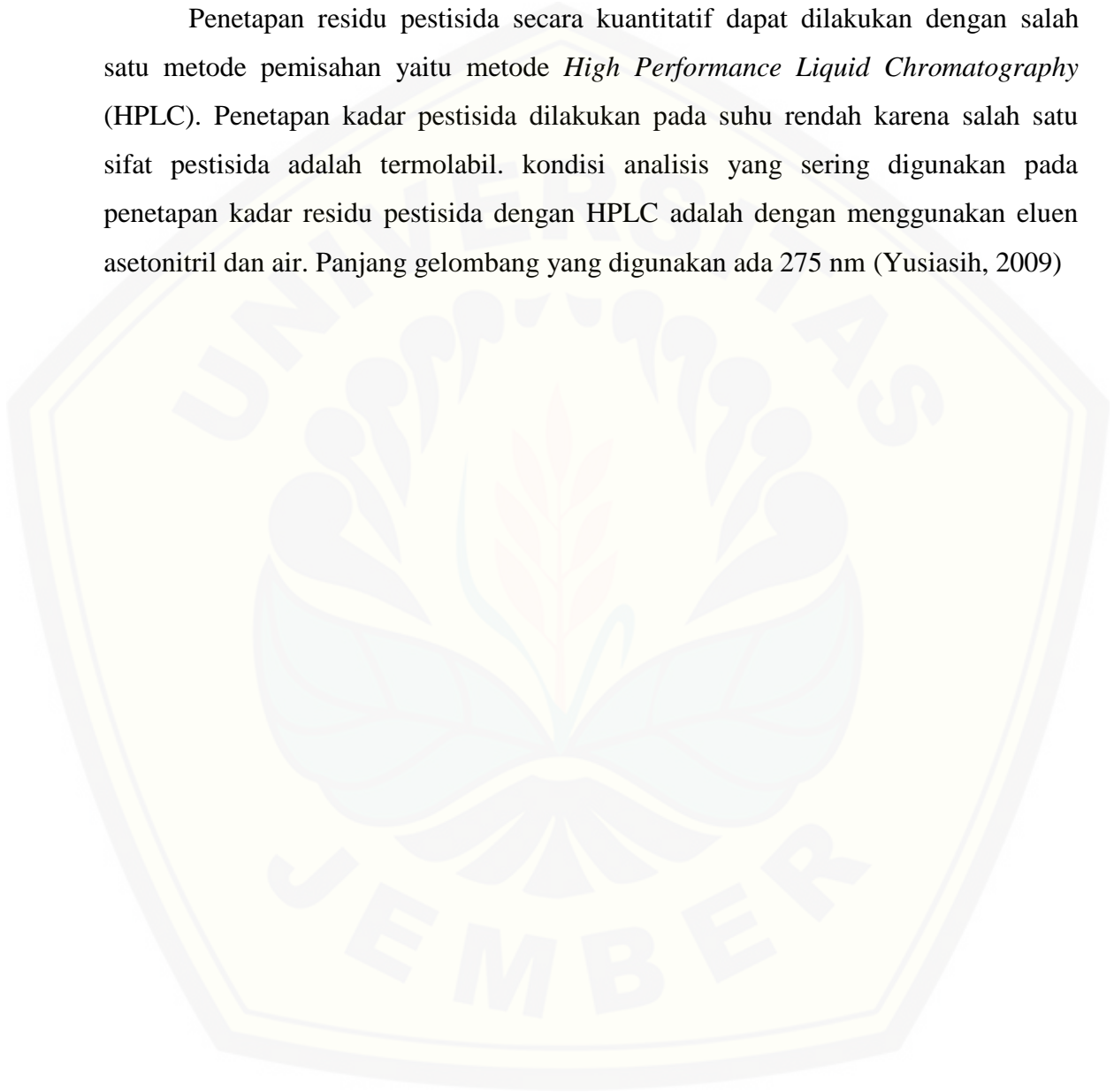
## 2.10 Tinjauan Uji Residu Pestisida dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan teknik pemisahan pada proses analisis senyawa yang paling banyak digunakan. Selain pemisahan, HPLC dapat digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi komponen campuran dalam fase larutan. Pada komponen yang padat, perlu dipreparasi menjadi larutan terlebih dahulu. HPLC dapat digunakan untuk analisis pada 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 migrasi 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 ke 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 salah satu metode pemisahan yaitu metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Penetapan kadar pestisida dilakukan pada suhu rendah karena salah satu sifat pestisida adalah termolabil. kondisi analisis yang sering digunakan pada penetapan kadar residu pestisida dengan HPLC adalah dengan menggunakan eluen asetonitril dan air. Panjang gelombang yang digunakan ada 275 nm (Yusiasih, 2009)



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental Laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

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

### 3.3 Rancangan Penelitian

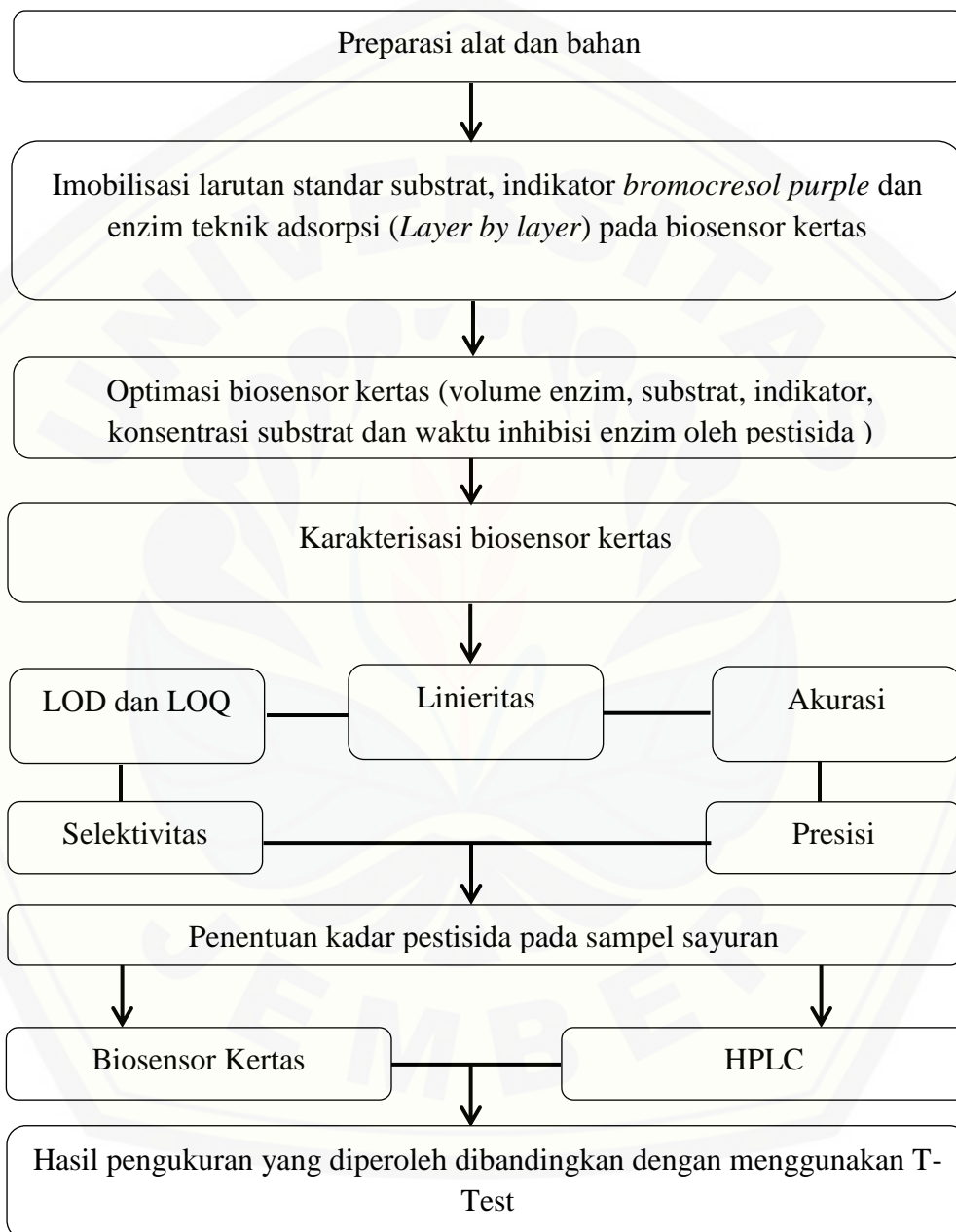
#### 3.3.1. Rancangan Operasional

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Pembuatan biosensor kertas dan immobilisasi reagen pada biosensor kertas.
- b. Optimasi biosensor kertas meliputi optimasi volume substrat dan indikator BCP, konsentrasi substrat Asetilkolinklorida, waktu inhibisi enzim oleh pestisida.
- c. Karakteristik biosensor kertas meliputi linieritas, sensitivitas (LOD dan LOQ), selektivitas, presisi, dan akurasi.
- d. Aplikasi biosensor kertas pada sampel dengan perubahan warna.

## 3.3.2 Diagram Alur Penelitian

Diagram alur penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian



### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain beaker glass, gelas ukur, lemari es, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, mikropipet, neraca analytis, pH meter, *ball filler*, batang pengaduk, tabung *ependorf*, *stopwatch*, botol semprot, vial, dan *scanner*, laptop, penyaring buchner, membran penyaring, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Shimadzu).

#### 3.4.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kertas saring “whatman” cat no 1001-150, substrat asetilkolin klorida (AChCl) (Sigma Aldrich), acetylcholinesterase (AChE) (EC. 3.1.1.7, *Electrophorus electricus*, 518 U/mg solid) (Sigma Aldrich), Tris-base (merck), *bromocresol purple* (BCP) (merck) HCL 0,1 N dan standar pestisida karbosulfan 11 gram/L, larutan buffer pH 10, 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 0,001 gram Asetilkolinesterase dalam buffer tris 7,5 mM pH 7,5 hingga mencapai 1 ml untuk mendapatkan larutan asetilkolinesterase 1000 ppm. Dimana dalam 1000 ppm enzim mengandung 518 U/mg protein.

d. Pembuatan Larutan indikator *Bromocresol purple*

Larutan BCP dibuat dengan melarutkan sebanyak 0,06 gram kristal BCP ke dalam pelarut buffer pH 10 sebanyak 10 ml untuk mendapatkan larutan BCP 6000 ppm.

e. Pembuatan campuran larutan substrat dan *Bromocresol Purple*

Mencampur larutan substrat dan indikator dengan perbandingan volume (1:0.2) ml kemudian distirer selama 30 menit.

f. 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.

g. Preparasi Sampel

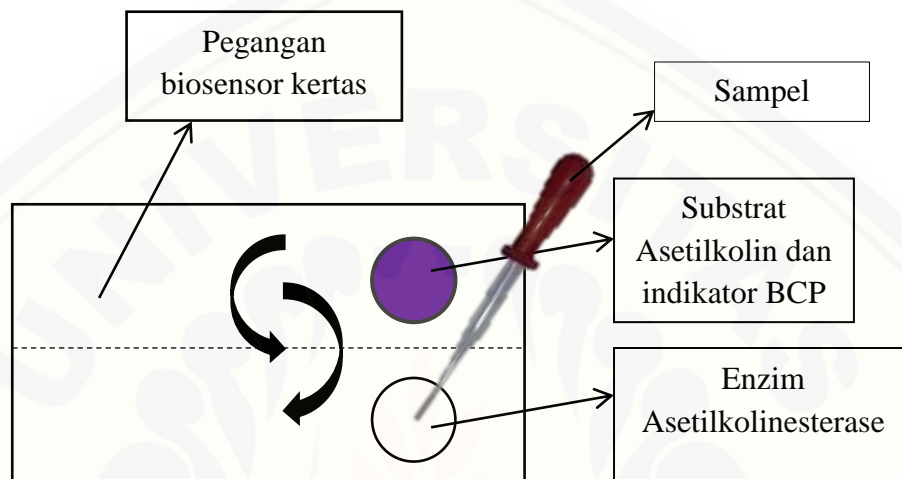
Sampel sayur yang diperkirakan mengandung residu pestisida yang tinggi seperti kangkung, kubis, sawi, selada dan tomat yang diperoleh dari salah satu pasar tradisional yang terletak di Kota Jember. Masing-masing sampel dihancurkan menggunakan mortir dan stamper kemudian ditimbang sebanyak 0,5 gram. Selanjutnya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

### 3.6 Desain Konstruksi Biosensor Kertas

Hal yang pertama dilakukan adalah membuat larutan untuk bahan sablon. Tinta pasta karet *sunrise* (warna putih) ditambah dengan emulsifier “sunrise”



perbandingan 1:3, kemudian ditambah pewarna hitam *sunrise*. Membuat cetakan biosensor dari kertas “whatman” dengan diletakkan di bawah screen sablon kemudian campuran cat sablon yang telah dibuat, dituang dan diratakan secara perlahan sesuai bentuk Biosensor Kertas dan dihasilkan ketebalan yang rata.



Gambar 3.2 Desain biosensor kertas (dimodifikasi dari (Shi dan Iang, 2002)

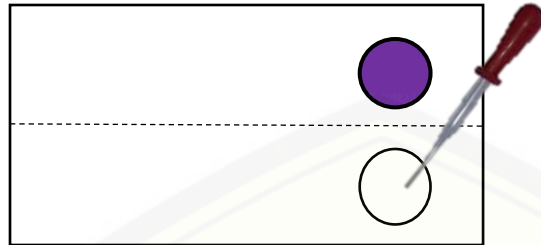
### 3.7 Pengukuran Analit Terhadap Biosensor Kertas

Pengukuran dengan cara membandingkan hasil pengamatan (perubahan warna) ada dan tidak adanya keberadaan pestisida. Pengamatan pada sampel pestisida dilakukan dengan cara memipet sejumlah sampel pestisida kemudian diteteskan ke daerah Biosensor Kertas yang mengandung enzim (daerah yang tidak berwarna ungu)

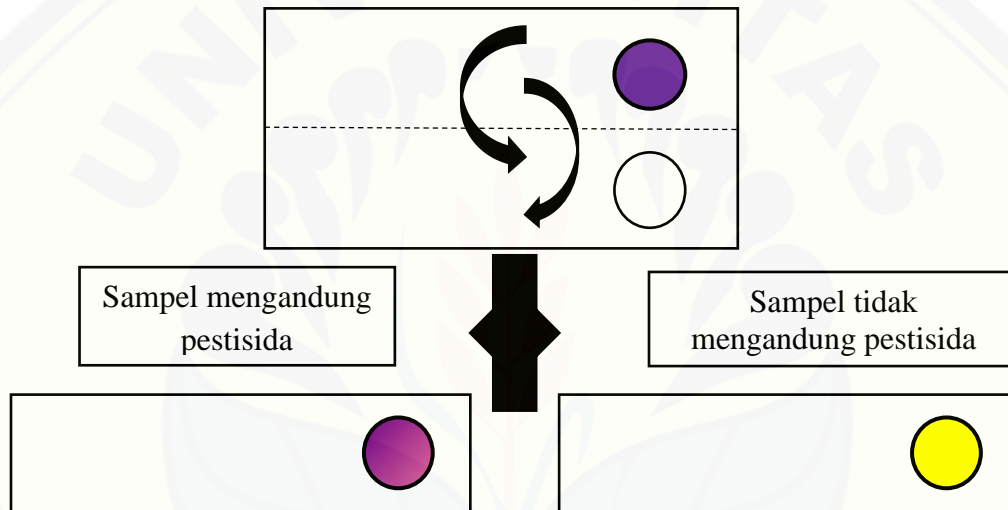
#### 1. Biosensor kertas



2. Biosensor kertas dengan diteteskan larutan pestisida



3. Kedua lapisan kertas direkatkan sampai kedua lingkaran bertemu



### 3.8 Optimasi Biosensor Kertas

#### 3.8.1 Optimasi Warna Red/Green/Blue/RGB pada *Image J*

Optimasi dilakukan untuk memilih warna sebagai respon detektor biosensor untuk selanjutnya dilakukan perhitungan % inhibisi. Ditentukan dengan membuat 4 seri konsentrasi standard karbosulfan sebesar 0,1; 0,5; 1,1; 11 ppm. Kemudian dilihat respon kurva antara log konsentrasi dengan % inhibisi. Warna optimum dipilih berdasarkan hasil nilai kurva ( $r$ ) yang mendekati +1 atau -1.

### 3.8.2 Optimasi Volume Substrat dan Indikator BCP

Optimasi dilakukan dengan tujuan mendapatkan volume yang tepat sampai area biosensor kertas terisi penuh dan warna pada indikator dapat terlihat jelas secara visual dengan meneteskan sejumlah 2  $\mu\text{l}$ , 4  $\mu\text{l}$ , 8  $\mu\text{l}$  dan 12  $\mu\text{l}$  dengan konsentrasi yang dapat dilihat pada penjelasan 3.5 dan optimum apabila semua bagian dari tempat reagen terisi semua baik substrat dan indikator BCP.

### 3.8.3 Optimasi Konsentrasi Substrat Asetilkolin Klorida

Optimasi dilakukan dengan tujuan mendapatkan konsentrasi optimal substrat yang berikatan dengan enzim dan ditandai dengan intensitas warna secara visual. Larutan asetilkolin yang telah dibuat seperti pada sub bab 3.5 e, dengan variasi konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm dan 30.000 ppm digunakan untuk pengukuran konsentrasi substrat optimum.

### 3.8.4 Optimasi Waktu Inhibisi

Waktu yang dibutuhkan untuk pestisida agar dapat menghambat asetilkolinesterase. Waktu inhibisi ditentukan dengan meneteskan pestisida dengan konsentrasi 0,1 ppm pada area yang terdapat enzim. Kemudian biosensor kertas ditangkupkan sehingga sisi enzim menempel pada sisi substrat dan indikator. Dilihat perubahan warna selama 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 dan 40 menit. Waktu inhibisi ditentukan dengan menghitung persen inhibisi melalui persamaan 3.1.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\Delta \text{ mean red } 0 - \Delta \text{ mean red}}{\Delta \text{ mean red } 0} \times 100\% \text{ (Zuhra dkk., 2008).....(3.1)}$$

dimana :  $\Delta \text{ mean red } 0$  = respon sensor sebelum diinhibisi

$\Delta \text{ mean red}$  = respon sensor setelah diinhibisi

### 3.9 Karakteristik Biosensor Kertas

#### 3.9.1 Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan dengan cara meneteskan standar pestisida pada biosensor kertas dengan konsentrasi 0,01; 0,05; 0,11; 0,55; 1,1; 11; 22; 33 ppm dan selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil yang didapat lalu dianalisis sehingga diperoleh persamaan linieritas dan daerah linier untuk tiap standar yang sekaligus dapat digunakan juga sebagai kurva kalibrasi. Data yang diperoleh pada pengujian linieritas dapat dikatakan linier dan ideal bila harga  $r$  mendekati +1 atau -1 (Harmita, 2004) dan nilai  $V_{x0} < 5\%$  (Ermer, 2005).

#### 3.9.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) 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* sehingga diperoleh kurva linieritas konsentrasi berbanding dengan nilai  $\Delta mean$  red. Dari hasil analisis data akan diperoleh  $X_p$ , dimana nilai tersebut menunjukkan nilai LOD dihitung dari persamaan regresi (Wulandari dkk., 2012). Untuk nilai LOQ dapat dihitung melalui persamaan 3.1.

$$LOQ = \frac{10}{3} LOD \dots \dots \dots (3.1)$$

#### 3.9.3 Selektivitas (interferensi)

Penentuan selektivitas dilakukan dengan cara menggunakan standar karbosulfan 0.1 ppm yang kemudian ditambah dengan kuersetin yang diasumsikan sebagai komponen pengganggu yang terkandung dalam sayuran. Kuersetin umumnya merupakan komponen terbanyak yang terdapat pada tanaman (Koirewoa dkk., 2012). Preparasi sampel dapat dilihat pada bab 3.5.g. penentuan selektivitas dilakukan dengan membuat perbandingan konsentrasi antara standar dan kuersetin 1:1, 1:10 dan 1:100. Penentuan selektivitas dilakukan dengan cara mengukur nilai % inhibisi,

langkah selanjutnya adalah membandingkan nilai % inhibisi dari standar karbosulfan 0,1 ppm yang tidak mengandung komponen pengganggu dengan nilai % inhibisi standar karbosulfan 0,1 ppm yang telah diberi komponen pengganggu. Selektivitas suatu metode analisis terhadap analit dapat digolongkan baik jika % interferensi <5%. Nilai % interferensi dihitung berdasarkan persamaan 3.2.

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

#### 3.9.4 Presisi

Penentuan presisi dapat ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) dari 6 kali pengukuran yang dilakukan dimana pada setiap pengukuran digunakan biosensor kertas yang berbeda. Penentuan presisi dilakukan dengan menimbang sampel kubis sebanyak enam kali replikasi dan dipreparasi seperti pada bab 3.5.g. sebanyak enam kali replikasi. Selanjutnya larutan diteteskan pada biosensor kertas diukur dengan program *ImageJ* sehingga diperoleh nilai  $\Delta \text{ mean red}$ . Kriteria penerimaan presisi konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada tabel 2.2.

#### 3.9.5 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 pada bab 3.5.g. Kemudian ditambah 1 ml standar adisi dalam labu ukur 10 ml. Larutan kemudian diteteskan pada area deteksi biosensor kertas yang mengandung enzim dan diamati perubahan warna yang terjadi. Nilai  $\Delta \text{ mean red}$  yang didapat, selanjutnya digunakan untuk mengukur nilai % Inhibisi. Hasil pengukuran % Inhibisi 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 2.3 . Kriteria penerimaan % *recovery* untuk konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada tabel 2.1.

### 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 gram. Selanjutnya sampel sayur diadkan dengan metanol sampai tepat 10 ml. Kemudian di ultrasonik selama 15 menit. Cairan yang telah diultrasonik selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Filtrat yang dihasilkan kemudian 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 cara membuat seri konsentrasi sebesar 1,1; 2,2; 5,5; 8,8; 11 ppm. Sehingga dapat diperoleh persamaan regresi yang dapat digunakan dalam penentuan 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	Asetonitril : 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 Kertas pada Sampel Sayuran Dibandingkan dengan Metode HPLC

Pada penelitian ini menggunakan sampel nyata berupa sayuran yang diperkirakan mengandung residu pestisida dan diambil dari salah satu pasar tradisional yang terletak di Kabupaten Jember. Sampel sayuran yang digunakan yaitu kangkung, kubis, sawi, selada dan tomat. Pengujian dengan metode biosensor kertas dilakukan dengan melakukan preparasi sampel seperti yang dapat dilihat pada sub bab 3.5.1.g.

Pengujian menggunakan metode biosensor kertas dilakukan dengan meneteskan sampel pada area deteksi kemudian dilakukan pengukuran nilai  $\Delta$  *mean red*. Dari hasil  $\Delta$  *mean red*, dapat ditentukan nilai % inhibisi masing-masing sampel yang mengandung pestisida. Pengukuran nilai % inhibisi digunakan untuk menghitung konsentrasi pestisida pada masing-masing sampel. Pada pengujian menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dilakukan dengan mengukur area dari sampel pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Dari nilai area yang diperoleh dapat ditentukan konsentrasi pestisida dalam sampel. Hasil kadar yang diperoleh dari kedua metode tersebut kemudian 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 optimal biosensor kertas untuk deteksi pestisida meliputi :
  - a. Fabrikasi biosensor kertas :
    - Pembuatan desain biosensor kertas dengan metode sablon. Biosensor kertas terdiri dari dua bagian yaitu area deteksi yang berbentuk lingkaran dengan diameter 0,5 cm dan pegangan biosensor kertas dengan ukuran 7 cm x 3 cm.
    - Proses imobilisasi bioreagen. Imobilisasi bioreagen dilakukan dengan meneteskan enzim Asetilkolinesterase dan campuran substrat Asetilkolin klorida-Indikator BCP dengan masing-masing sebanyak 2  $\mu$ l dan 12  $\mu$ l secara “*layer by layer*”.
    - Proses pengeringan biosensor kertas. Biosensor kertas yang telah diimobilisasi selanjutnya dikeringkan dengan cara dianginkan pada suhu ruang ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ).
  - b. Kondisi optimal biosensor kertas sebagai sensor pestisida meliputi :
    - Volume substrat dan indikator *Bromocresol purple* adalah 12  $\mu$ l.
    - Konsentrasi substrat asetilkolin adalah 20.000 ppm
    - Waktu inhibisi enzim adalah 30 menit.
2. Karakterisasi biosensor kertas sebagai sensor pestisida meliputi :
  - a. Linieritas diperoleh dari kurva kalibrasi antara log konsentrasi vs % Inhibisi. Persamaan regresi yang didapat adalah  $y = 0,0846x + 0,6262$  dengan nilai koefisien korelasi atau  $R = 0,986$ . Hasil tersebut memenuhi persyaratan validasi yaitu  $R$  mendekati (+1) atau (-1).

- b. Nilai batas deteksi emtode biosensor kertas adalah 0,005 ppm sedangkan nilai batas kuantitasi adalah 0,015 ppm.
  - c. Biosensor kertas tidak akan terganggu dengan adanya komponen pengganggu yang berupa kuersetin dengan perbandingan kadar standar karbosulfan dan kuersetin sebesar 1:100. Sehingga biosensor kertas dapat dikatakan selektif.
  - d. Nilai RSD yang diperoleh dari pengukuran metode biosensor kertas telah memenuhi persyaratan  $RSD < 11\%$  yaitu 10,420%.
  - e. Metode biosensor kertas sebagai sensor pestisida memenuhi parameter akurasi dengan %recovery rata-rata sebesar 98,337%.
3. Metode biosensor kertas sebagai sensor pestisida dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengukur kandungan pestisida pada sampel sayuran yang beredar di pasaran.

## 5.2 Saran

Penelitian mengenai pengembangan biosensor kertas untuk deteksi residu pestisida pada sayuran perlu dikembangkan dengan beberapa saran sebagai berikut :

1. Mengembangkan metode biosensor kertas dalam mendeteksi residu pestisida pada golongan pestisida selain karbamat.
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*).
4. Dilakukan uji stabilitas untuk melihat masa atau waktu pakai dari sensor.

DAFTAR PUSTAKA

- A. O. Dennis Willows. 2013. *The Mollusca : Neurobiology and Behavior*. New York: academic press.
- Al-Jafari, M. K. 1999. Kinetic constants for the inhibition of camel retinal acetylcholinesterase by the carbamate insecticide lannate. *J. Biochem.* 41–46.
- Andreou, V. G. dan Y. D. Clonis. 2002. A portable fiber-optic pesticide biosensor based on immobilized cholinesterase and sol-gel entrapped bromocresol purple for in-field use. *Biosensors and Bioelectronics.* 17(1–2):61–69.
- Arora, S. dan D. Bhanot. 2014. *Introduction to High Performance Liquid Chromatography by Lab-Trainin.com*. New Delhi, India: Kirti Nagar Industrial Area.
- Azis, T. 2011. Analisis residu pestisida diazinon dalam tanaman kubis ( brassica oleracea ) menggunakan biosensor elektrokimia secara voltametri siklik. *Progres Kimia Sains.* 1:32–40.
- Dahlan, S. 2004. *Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan*. Edisi 1. Jakarta: Bina Mitra Press.
- Dimitrios P. Nikolelis, G. 2016. *Biosensors for Security and Bioterrorism Applications*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Djojsumarto, P. 2008. *Panduan Lengkap Pestisida Dan Aplikasinya*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Douglas, A. S., F. J. Holler, dan S. R. Crouch. 2017. *Principles of Instrumental Analysis*. Edisi 7. Boston, USA: Cengage Learning.
- Dvir, H., I. Silman, M. Harel, T. L. Rosenberry, dan J. L. Sussman. 2010. Acetylcholinesterase: from 3d structure to function. *Chemico-Biological Interactions.* 187(1–3):10–22.
- Endang Puji, A., Y. Yuliasih, T. Delia, dan M. Santi. 2007. Electrochemical biosensors for detection of avian influenza virus--current status and future trends. *Acta Biochimica Polonica.* 35–40.
- Ermer, J. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis Edited by Related Titles from Wiley-VCH : LC / MS Applications in Drug Development Reference Materials for Chemical Analysis*. French: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

KGaA.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. *Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed*.

Forsberg, A. dan G. Puu. 1984. Kinetics for the inhibition of acetylcholinesterase from the electric eel by some organophosphates and carbamates. *European Journal of Biochemistry*. 140(1):153–156.

Grabowska, I., K. Malecka, U. Jarocka, J. Radecki, dan H. Radecka. 2014. Electrochemical biosensors for detection of avian influenza virus — current status and future trends. 61(3):471–478.

Guisan, J. M. 2006. *Immobilization of Enzymes and Cells*. Totowa, NJ: Springer Science & Business Media.

Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*. I(3):117–135.

Hayes. 2010. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press.

Huber, L. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. Edisi second edi. New York: Informa Healthcare USA. Inc.

Indraningsih. 2008. Pengaruh penggunaan insektisida terhadap karbamat. *USU Digital Library*. 18(2):101–114.

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.

Kavruk, M. 2010. Development of acetylcholinesterase biosensor for the detection of pesticides. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*

Keith E. Herold, A. R. 2012. *Biosensors and Molecular Technologies for Cancer Diagnostics*. London, New York: CRC Press.

Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan W. I. Wiyono. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*pluchea indica* l.). *Pharmacon*. 1(1):47–52.

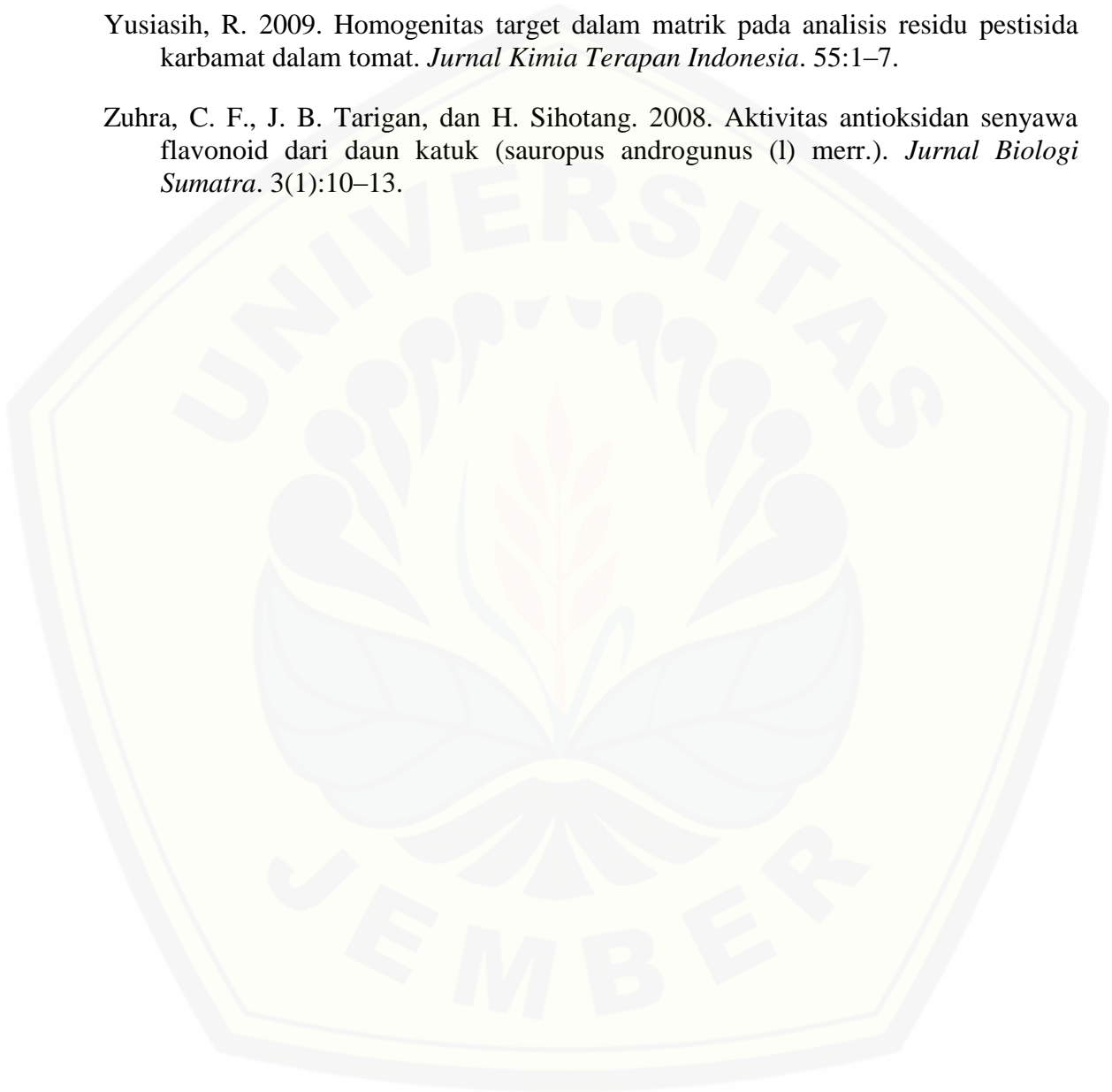
Kuswandi, B. 2010. *Biosensor: Konsep, Desain Dan Eksperimentasi*. Jember: Jember University Press.



- Marrs, T. dan B. Ballantyne. 2004. *Pesticide Toxicology and International Regulation*. London, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Martindale. 2009. *The Complete Drug Reference*. UK: Pharmaceutical press.
- Mutiatikum, D. 2009. Pemeriksaan residu pestisida dalam komoditiberas yang berasal dari beberapa kota dalam upaya penetapan batas maksimum pestisida (bmr). *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*. 54–60.
- Noh, J., H. C. Kim, dan T. D. Chung. 2011. *Biosensors in Microfluidic Chips*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Nusantara, G. 2003. *Panduan Praktis Cetak Sablon*. Depok: PT Kawan Pustaka.
- R.W. Sabins. 2008. *Handbook of Acid-Base Indicators*. New York: CRC Press.
- Reinking, L. 2007. *Image J Basics*. Pennsylvania: Departement of Biology Millersvilley University.
- Richard A, H. dan C. Pamela C. 1995. *Farmakologi*. Jakarta: Widya Medika.
- Sastroutomo, sutikno S. 1992. *Dasar - Dasar Pestisida Dan Dampak Penggunaanya*. Jakarta: gramedia.
- Shi, G. S. dan G. J. Iang. 2002. A dip-and-read test strip for the determination of mercury ( ii ) ion in aqueous samples based on urease activity inhibition. *Analytical Sciences*. 18:1215–1219.
- Siswodihardjo, S. 2016. *Kimia Medisinal 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sofia, D. 2001. Pengaruh pestisida dalam lingkungan pertanian. *Bandung* [Http://www. Sumutprov. Go. Id/download](http://www.sumutprov.go.id/download).
- Tiago Ferreira, W. R. 2012. *ImageJ User Guide User Guide ImageJ*
- Wirakusumah, E. P. 2010. *Sehat Cara Al Qur'an & Hadis*. Jakarta Selatan: PT. Mizan Publika.
- Wispriyono, B., A. Yanuar, dan L. Fitria. 2013. Tingkat keamanan konsumsi residu karbamat dalam buah dan sayur menurut analisis pascakolom kromatografi cair kinerja tinggi safe level consumption of carbamate residues in fruits and vegetables based in post column high performance liquid chromatography a. *Kesmas: National Public Health Journal*. 7(7):317–323.



- Wulandari, L., M. Yuwono, dan G. Indrayanto. 2012. Densitometric determination of mebhydrolin napadisylate in tablets. *JPC-Journal of Planar Chromatography Modern TLC*. 25(1):60–64.
- Yusiasih, R. 2009. Homogenitas target dalam matrik pada analisis residu pestisida karbamat dalam tomat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 55:1–7.
- Zuhra, C. F., J. B. Tarigan, dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*sauropus androgunus* (l) merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*. 3(1):10–13.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat



Scanner Canon®



Laptop



pH meter



vial





Timbangan analitik



*Ultrasonic Homogenizer*



Sentrifus



HPLC



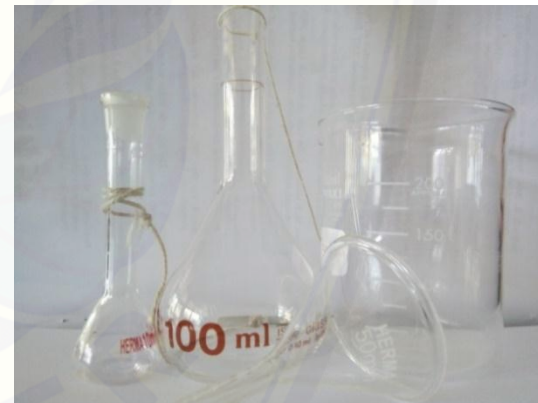
Penyaring *Buchner*



Filter holder



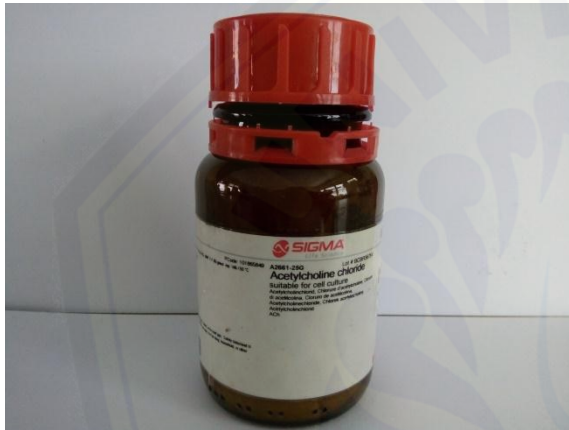
Lemari Pendingin



alat- alat gelas



Lampiran 2. Foto Bahan



Substrat Asetilkolin klorid (AChCl)



Enzim Asetilkolinestase (AChE)



Standar Karbosulfan



Kertas Saring Whattman



Sampel Sayuran

## Lampiran 3. Perhitungan Optimasi Waktu Inhibisi

### 3.1. Hasil Optimasi Waktu Inhibisi









Menit	Mean red	$\Delta$ mean red	Blanko	%Inhibisi
0	171,812	53,429	53,429	0
5	178,364	46,877		12,263%
10	182,329	42,912		19,684%
15	185,453	39,788		25,531%
20	187,249	37,992		28,893%
25	188,369	36,872		30,989%
30	189,220	36,021		32,582%
35	189,135	36,106		32,422%
40	188,851	36,390		31,891%

### 3.2. Contoh Perhitungan %Inhibisi pada Menit ke 30

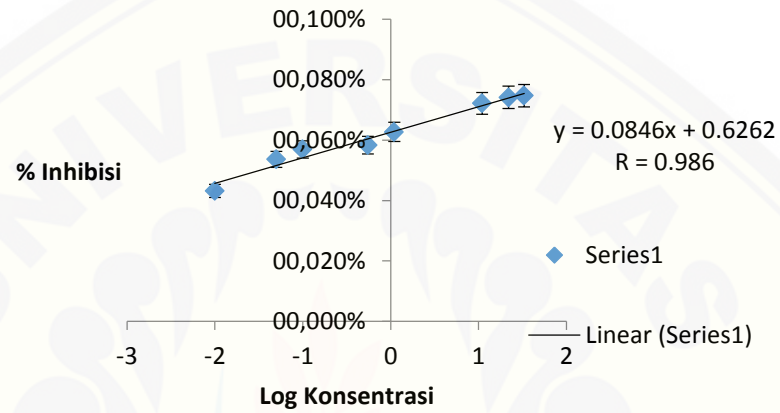
$$\begin{aligned}
 \text{a. \%Inhibisi} &= \frac{\Delta \text{mean red Blanko} - \Delta \text{mean red standar}}{\Delta \text{mean red Blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{53,429 - 36,021}{53,429} \times 100\% \\
 &= 32,582\%
 \end{aligned}$$

## Lampiran 4. Data dan Perhitungan Linieritas

### 4.1. Data Konsentrasi Standar Pestisida

Standar	Gambar	Blanko	<i>mean red</i> 1	<i>mean red</i> 2	<i>mean red</i> 3	Rata-rata	$\Delta$ <i>mean red</i>	SD	RSD
0,01		72,271	205,791	215,973	219,309	205,791	41,054	7,042	3,422%
0,05		72,271	198,257	200,231	197,610	198,257	33,520	1,365	0,689%
0,1		72,271	198,002	196,230	190,387	194,873	30,136	3,985	2,045%
0,55		72,271	191,690	193,230	195,543	191,690	26,953	1,940	1,012%
1,1		72,271	190,603	191,623	191,700	191,309	26,572	0,612	0,320%
11		72,271	187,311	184,522	182,719	184,851	20,114	2,314	1,252%
22		72,271	183,427	183,414	182,427	183,427	18,690	0,574	0,313%
33		72,271	183,022	182,543	183,320	183,022	18,285	0,392	0,214%

4.2. Kurva Hasil Penentuan Linieritas







Lampiran 5. Perhitungan Penentuan LOD dan LOQ

5.1. Penentuan LOQ

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

## Lampiran 6. Data dan Perhitungan Hasil Uji Selektivitas

### 6.1. Tabel Hasil Uji Selektivitas

Perbandingan	Bahan	Mean Red			Rata-rata	$\Delta$ mean Red	%interferensi
		1	2	3			
-	 Standar pestisida 0,1 ppm	194,072	195,235	191,387	194,072	29,751	-
1:1	 0,1 ppm standar + 0,1 ppm kuersetin	192,878	191,399	195,372	193,216	28,893	2,012%
1:10	 0,1 ppm standar + 1 ppm kuersetin	190,524	194,258	194,525	193,102	28,781	2,280%
1:100	 0,1 ppm standar + 10 ppm kuersetin	190,791	194,354	194,398	193,181	28,860	2,095%



## 6.2. Perhitungan Selektivitas

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

- Pestisida 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,1 \text{ ppm}$
- Kuersetin 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1000 = 10 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1 = 0,1 \text{ ppm}$

### b. Pestisida 0,1 ppm : Kuersetin 1 ppm

- Pestisida 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,1 \text{ ppm}$
- Kuersetin 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1000 = 10 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 10 = 1 \text{ ppm}$

### c. Pestisida 0,1 ppm : Kuersetin 10 ppm

- Pestisida 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11.000 = 1.100 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1.100 = 110 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 110 = 11 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 11 = 1,1 \text{ ppm}$
  - $1 \text{ ml}/10 \text{ ml} \times 1,1 = 0,1 \text{ ppm}$
- Kuersetin 0,1 ppm
  - $1 \text{ ml}/100 \text{ ml} \times 1000 = 10 \text{ ppm}$

## 6.3. Perhitungan % Interferensi

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

$$(1:1) = \frac{60,018 - 58,834\%}{58,834\%} \times 100\% = 2,012\%$$


$$(1:10) = \frac{60,176\% - 58,834\%}{58,834\%} \times 100\% = 2,280\%$$

$$(1:100) = \frac{60,067\% - 58,834\%}{58,834\%} \times 100\% = 2,095\%$$







Lampiran 7. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi  
Persamaan regresi:  $0,0846x + 0,6262$

## 7.1. Hasil Pengujian Repeatabilitas Presisi







- Hasil Uji Presisi Hari Pertama

Sampel	Gambar	mean red	$\Delta$ mean red	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b(%)
Rep 1		196,990	32,253	55,372%	0,139	0,000278
Rep 2		197,383	32,646	54,828%	0,12	0,000240
Rep 3		196,805	32,068	55,628%	0,149	0,000298
Rep 4		196,806	32,072	55,623%	0,149	0,000298
Rep 5		197,006	32,269	55,350%	0,138	0,000276
Rep 6		196,931	32,194	55,454%	0,142	0,000284
Rata-rata					0,139	0,000279
SD					2,134x10 <sup>-5</sup>	
RSD					7,650%	

- Hasil Uji Presisi Hari Kedua

Sampel	gambar	mean red	$\Delta$ mean red	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b(%)
Rep 1		196,876	32,139	55,561%	0146	0000292
Rep 2		196,983	32,246	55,413%	0141	0000282
Rep 3		197,455	32,718	54,760%	0120	0000240
Rep 4		196,990	32,253	55,403%	0140	0000280
Rep 5		197,134	32,397	55,204%	0133	0000266
Rep 6		197,383	32,646	54,860%	0121	0000242
Rata-rata					0,133	0,000267
SD						$2,179 \times 10^{-5}$
RSD						8,161%

- Hasil Uji Presisi Hari Ketiga

Sampel	gambar	mean red	$\Delta$ mean red	% inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Kadar b/b(%)
Rep 1		197,055	32,318	55,282%	0,137	0,000270
Rep 2		196,733	31,996	55,728%	0,152	0,000300
Rep 3		196,106	31,369	56,595%	0,189	0,000370
Rep 4		195,949	31,212	56,813%	0,205	0,000410
Rep 5		196,010	31,273	56,728%	0,199	0,000390
Rep 6		196,279	31,542	56,356%	0,179	0,000350
				Rata-rata	0,177	0,000348
				SD	$5,382 \times 10^{-5}$	
				RSD	15,451%	

## 7.2. Contoh Perhitungan %b/b

- Kadar sampel :

$$Y = 0,0846x + 0,6262$$

$$0,554 = 0,0846x + 0,6262$$

$$X = -0,853$$

Antilog = 0,139 ppm (dalam 10 ml sampel)

- Massa analit

$$0,139 \times 10 = 1,39 \text{ ppm}$$

$$1,39 \mu\text{g/ml} = 0,00139 \text{ mg/ml}$$

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

$$\frac{0,00139 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,000278\%$$

## 7.3. Contoh Perhitungan SD dan % RSD

% b/b (%)	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
0,000278	-0,000001	$1 \times 10^{-12}$
0,00024	-0,000039	$1,521 \times 10^{-9}$
0,000298	0,000019	$3,61 \times 10^{-10}$
0,000298	0,000019	$3,61 \times 10^{-10}$
0,000276	-0,000003	$9 \times 10^{-12}$
0,000284	0,000005	$2,5 \times 10^{-11}$
= 0,000279	$\sum(x - \bar{x})^2 =$	$2,278 \times 10^{-9}$
	SD	$2,134 \times 10^{-5}$
	%RSD	7,650%



7.4. Hasil Pengujian Presisi Antara (Uji presisi pada 3 hari berbeda dengan n=6)

Hari ke-	Kadar b/b (%)	RSD (n=6) (%)
1	0000279	7,650%
2	0000267	8,161%7
3	0000348	15,451%
	Rata-rata RSD/CV	10,420%

7.5. Penentuan Konsentrasi Hasil Uji Presisi

Hari ke -	Konsentrasi (ppm)
1	0,139
2	0,133
3	0,177
Rata-rata	0,151

Lampiran 8. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Akurasi

Persamaan regresi =  $0,0846x + 06262$

8.1. Hasil Pengujian Akurasi

Adisi 30%	Mean	$\Delta$ mean red	%inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Massa (mg)	Massa teoritis (mg)	%recovery
Rep1	195,883	31,326	56,685%	0,194	0,00194	0,00201	96,517%
Rep2	195,945	31,388	56,599%	0,189	0,00189	0,00201	94,030%
Rep3	196,143	31,586	56,325%	0,179	0,00179	0,00201	89,055
Rep4	196,243	31,686	56,187%	0,174	0,00174	0,00201	86,567%
Rep5	196,070	31,513	56,426%	0,184	0,00184	0,00201	91,542%
Rata-rata % recovery							91,542%
SD							0,039332
RSD							4,297%

Adisi 45%	Mean	$\Delta$ mean red	%inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Massa (mg)	Massa teoritis (mg)	%recovery
Rep1	195,432	30,875	57,308%	0,235	0,00235	0,00221	106,335%
Rep2	195,446	30,889	57,289%	0,235	0,00235	0,00221	106,335%
Rep3	195,576	31,021	57,107%	0,222	0,00222	0,00221	100,452%
Rep4	195,656	31,099	56,999%	0,210	0,00210	0,00221	95,023%
Rep5	195,476	30,919	57,248%	0,229	0,00229	0,00221	103,620%
Rata-rata % recovery							102,353%
SD							0,042608
RSD							4,651%

Adisi 60%	Mean	$\Delta$ mean red	%inhibisi	Konsentrasi (ppm)	Massa (mg)	Massa teoritis (mg)	%recovery
Rep1	195,112	30,555	57,751%	0,262	0,00262	0,00251	104,382%
Rep2	195,213	30,656	57,611%	0,256	0,00256	0,00251	101,992%
Rep3	195,221	30,664	57,600%	0,255	0,00255	0,00251	101,594%
Rep4	195,299	30,742	57,492%	0,248	0,00248	0,00251	98,805%
Rep5	195,310	30,753	57,477%	0,248	0,00248	0,00251	98,805%
Rata-rata % recovery							101,116%
SD							0,023637
RSD							2,338%

## 8.2. Contoh Perhitungan % Recovery

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

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery R1} &= \frac{0,00194}{0,00201} \times 100\% \\ &= 96,517\% \end{aligned}$$

## 8.3. Perhitungan Pembuatan Sampel Adisi

- Konsentrasi rata-rata hasil uji presisi pada 0,5 g sampel yang dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml = 0,151 ppm
- Perhitungan penambahan sampel adisi  
 30% = 30% x 0,151 = 0,055 ppm  
 45% = 45% x 0,151 = 0,07 ppm

$$60\% = 60\% \times 0,151 = 0,11 \text{ ppm}$$

- Perhitungan standar karbosulfan ( $11 \text{ g/L} = 11.000 \text{ ppm}$ )

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

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

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

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

$$2\text{ml}/3\text{ml} \times 1,1 = 0,73 \text{ ppm (untuk sampel adisi 45\%)}$$

- 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 10 ml.

$$\text{Konsentrasi teoritis} = 0,151 + 0,055 \text{ ppm} = 0,201 \text{ ppm}$$

$$\text{Massa teoritis} = \frac{0,206}{1000} \times 10 = 0,00201 \text{ mg}$$

- Sampel adisi 45%

0,5 gram sampel diadkan dalam 10 ml aquadest, diultrasonik, disentrifugasi dan filtrat yang diperoleh + 1 ml standar pestisida 0,73 ppm dilarutkan dalam aquadest 10 ml.

$$\text{Konsentrasi teoritis} = 0,151 + 0,07 = 0,221 \text{ ppm}$$

$$\text{Massa teoritis} = \frac{0,221}{1000} \times 10 = 0,00221 \text{ mg}$$

- 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 10 ml.

$$\text{Konsentrasi teoritis} = 0,151 + 0,11 = 0,251 \text{ ppm}$$

$$\text{Massa teoritis} = \frac{0,251}{1000} \times 10 = 0,00251 \text{ mg}$$

## Lampiran 9. Data dan Perhitungan Penetapan Kadar Pestisida dalam Sayuran dengan Metode Biosensor Kertas

### 9.1. Hasil Penetapan Kadar Sampel

Sampel	Replikasi	Mean red	Rata-rata $\Delta$ mean red	%inhibisi	Konsentrasi (ppm)
Kangkung	Rep1	196,637	29,645	58,981%	0,363
	Rep2	191,508			
	Rep3	195,001			
Kubis	Rep1	196,637	30,353	58,001%	0,356
	Rep2	193,036			
	Rep3	195,036			
Sawi	Rep1	196,637	28,812	60,134%	0,511
	Rep2	189,008			
	Rep3	195,001			
Selada	Rep1	199,163	33,896	53,098%	0,075
	Rep2	199,179			
	Rep3	197,558			
Tomat	Rep1	194,033	32,020	55,695%	0,152
	Rep2	199,079			

## 9.2. Perhitungan Kadar Sampel

Persamaan regresi =  $y = 0,0846x + 0,6262$

- Kangkung

$$Y = 0,0846X + 0,6262$$

$$0,589 = 0,0846x + 0,6262$$

$$X = -0,440$$

$$\text{Antilog} = 0,363 \text{ ppm}$$

- Kubis

$$Y = 0,0846x + 0,6262$$

$$0,580 = 0,0846x + 0,6262$$

$$X = -0,448$$

$$\text{Antilog} = 0,356 \text{ ppm}$$

- Sawi

$$Y = 0,0846x + 0,6262$$

$$0,601 = 0,0846x + 0,6262$$

$$X = -0,291$$

$$\text{Antilog} = 0,511 \text{ ppm}$$

- Selada

$$Y = 0,0846x + 0,6262$$

$$0,531 = 0,0846x + 0,6262$$

$$X = -1,136$$

$$\text{Antilog} = 0,075 \text{ ppm}$$



- Tomat  
 $Y = 0,0846x + 0,6262$   
 $0,557 = 0,0846x + 0,6262$   
 $X = -0,818$   
Antilog = 0,152 ppm

## Lampiran 10. Analisis Pestisida dalam Sampel Sayuran dengan Metode HPLC

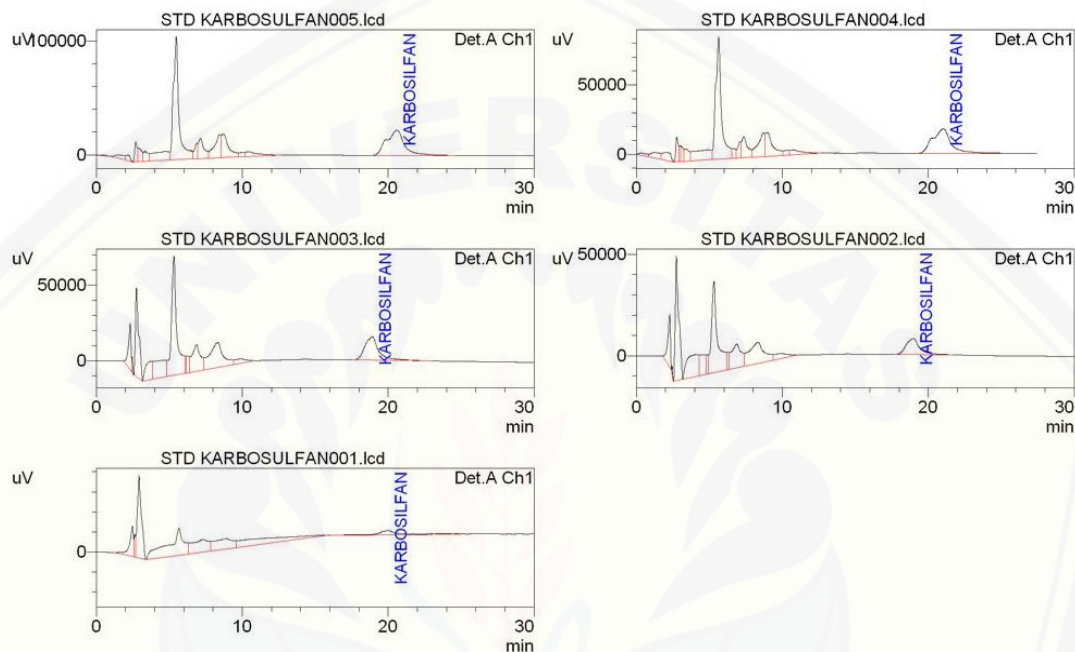
Parameter	Hasil
Linieritas	$y = 152679,4886x + 201088,0054$ $r = 0,9995$
LOD dan LOQ	LOD = 0,854 LOQ = 2,562



10.1. Hasil kromatogram standar pestisida konsentrasi 1,1 ppm, 2,2 ppm, 5,5 ppm, 8,8 ppm, 11 ppm.

==== 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

10.2. Kurva Kalibrasi Standar Pestisida.

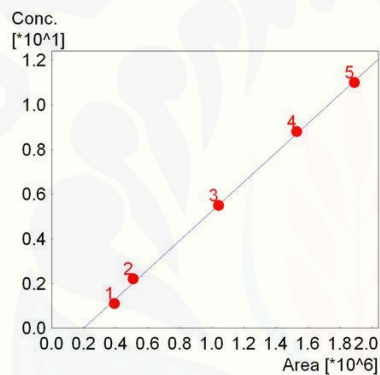
9/20/2005 03:22:45 1 / 1

==== SHIMADZU ====

<Calibration Curve>

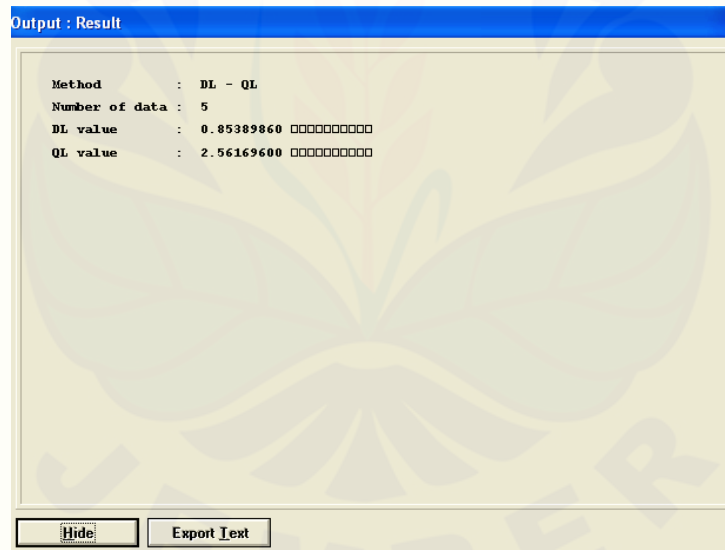
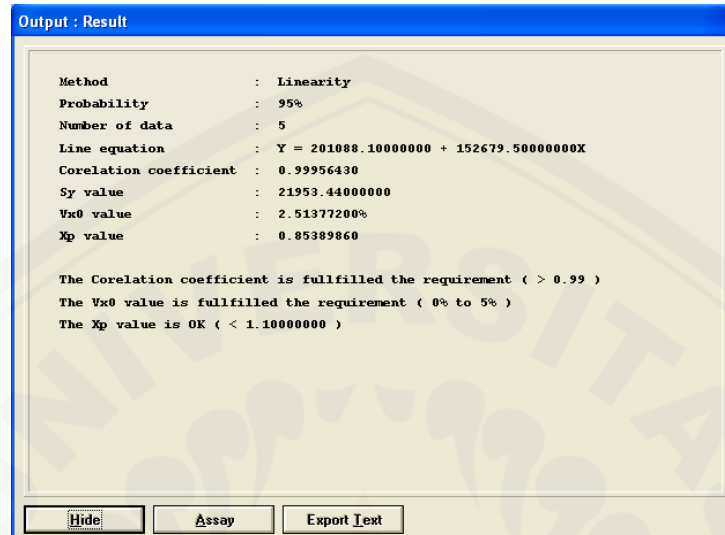
E:\PESTISIDA 2018 BIOSEN\LINIERITAS\STD KARBOSULFAN005.lcd

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

## 10.3. Hasil Penentuan LOD dan LOQ



## 10.4. Penambahan Sampel Adisi

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

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

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

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

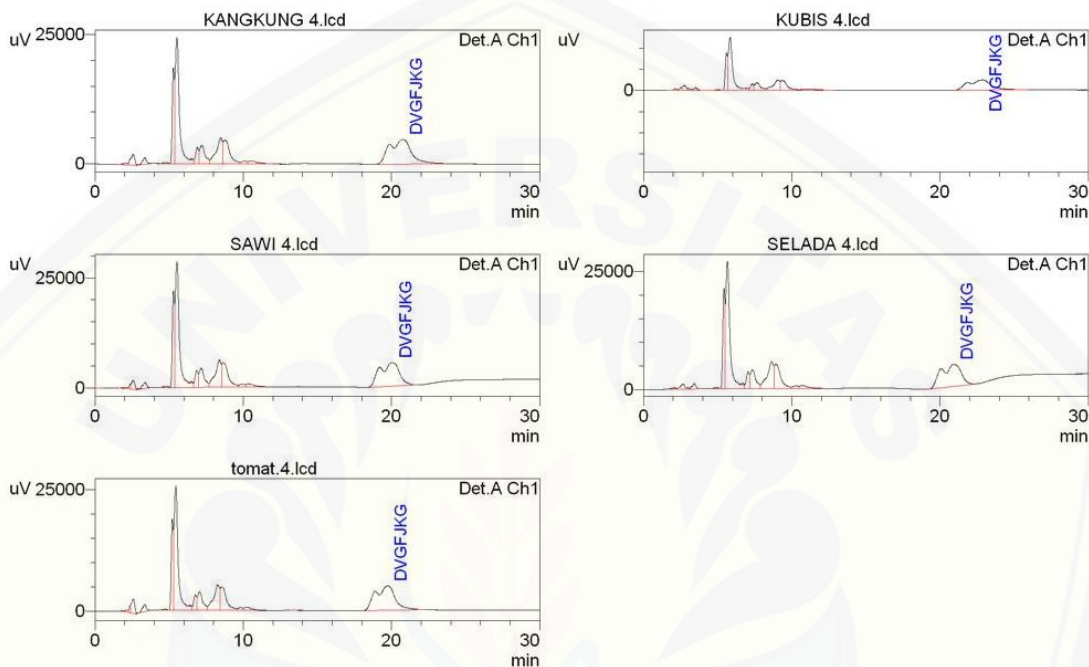




10.5. Kromatogram Penetapan Kadar Sampel

==== 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

## 10.6. 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 11. Hasil Uji T-Test

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BIOSENSOR	.243	5	.200*	.938	5	.650
HPLC	.114	5	.200*	1.000	5	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

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

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 BIOSENSOR	.29140	5	.175916	.078672
HPLC	.33180	5	.191846	.085796

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 BIOSENSOR & HPLC	5	.780	.120

	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	-.04040	.122940	.054981	-.193050	.112250	-.735	4	.503

Lampiran 12. Kemasan Produk Biosensor Kertas

