

**APLIKASI EKSTRAKSI TETES MIKRO PADA ANALISIS  
DI-2-ETILHEKSILFALAT DALAM LIMBAH INDUSTRI  
SECARA HPLC**

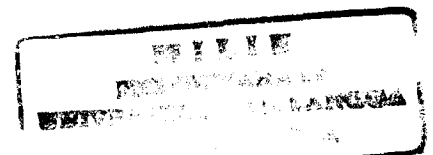
**SKRIPSI**

**HANING MEILIA PUTRI PRATAMA**



MPR 42150  
20  
2

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2006**



**APLIKASI EKSTRAKSI TETES MIKRO PADA ANALISIS  
DI-2-ETILHEKSILFALAT DALAM LIMBAH INDUSTRI  
SECARA HPLC**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia  
Pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Universitas Airlangga**

Oleh :

**HANING MEILIA PUTRI PRATAMA**

**NIM : 080212500**

**Tanggal Lulus : 11 Juli 2006**

**Disetujui Oleh :**

**Pembimbing I,**

**Pembimbing II,**

**Dr.rer.nat. Ganden Supriyanto, Dipl. EST, M.Sc**  
**NIP 132056928**

  
**Dra. Miratul Khasanah, M.Si**  
**NIP 131999646**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Judul** : Aplikasi Ekstraksi Tetes Mikro Pada Analisis Di-2-etilheksilftalat  
Dalam Limbah Industri Secara HPLC

**Penyusun** : Haning Meilia Putri Pratama

**NIM** : 080212500

**Pembimbing I** : Dr.rer.nat. Ganden Supriyanto,Dipl.EST, M.Sc

**Pembimbing II** : Dra. Miratul Khasanah, M.Si

**Tanggal Ujian** : 11 Juli 2006

Disetujui Oleh

Pembimbing I,

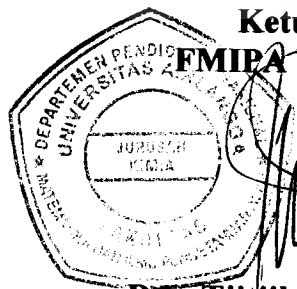
Pembimbing II,

Dr.rer.nat. Ganden Supriyanto,Dipl.EST, M.Sc  
NIP 132056928

  
Dra. Miratul Khasanah, M.Si  
NIP 131999646

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia

FMIPA Universitas Airlangga



  
Dra. Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D  
NIP 131801627

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi mengutipnya harus seijin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai dengan kebiasaan ilmiah.

**Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.**



## KATA PENGANTAR

*Alhamdulillah rabbil 'alamiin.* Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aplikasi Ekstraksi Tetes Mikro pada Analisis Di-2-etilheksilftalat dalam Limbah Industri Secara HPLC” ini tepat pada waktunya. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana sains bidang Kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga. Dalam kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi.

Selanjutnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pemerhati kimia dan perkembangan ilmu pengetahuan. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Amiin.

Surabaya, Juli 2006

Penulis,

Haning Meilia Putri Pratama

## *Ucapan Terima Kasih*

*Alhamdulillah* dan puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Yang Maha Kuasa, karena hanya atas perkenan-Nya skripsi yang berjudul “Aplikasi Ekstraksi Tetes Mikro pada Analisis DEHP dalam Limbah Industri secara HPLC” dapat terselesaikan dengan baik. Selanjutnya pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Mama, Ayah dan Adik-adikku tercinta serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan bantuan moril dan spirituil
2. Bapak Dr.rer.nat Ganden Supriyanto,Dipl.EST,M.Sc selaku pembimbing I dan Ibu Dra. Miratul Khasanah,M.Si selaku pembimbing II atas segala bantuan dana, ilmu, bimbingan, semangat serta Bapak Drs. Imam Siswanto,MSi dan Bapak Drs. Budi Prasetyo,M.Si selaku dosen penguji atas segala kritikan, masukan dan saran pada pengerjaan skripsi ini
3. Bapak dan Ibu dosen staf pengajar jurusan Kimia FMIPA Unair yang telah mendidik dan membimbing penulis selama menempuh kuliah di Jurusan Kimia FMIPA Unair
4. Bapak Drs.Hamami,M.Si selaku dosen wali yang senantiasa membimbing dan memberikan masukan selama penulis menempuh kuliah
5. *Special For my soulmate “Mi Amas Sin Mad”* syukron atas dukungan, pengalamannya, ilmu, semangat dan doanya, tak ada kata yang ingin ku sampaikan selain “*You Raise Me Up*”
6. Rekan-rekan *GDN Group* Jo, Alfa, Masitah, Ratih dan Rahma Nila, terima kasih atas bantuan, doa, support dan cerita serta pengalaman kalian semuanya
7. Rekan-rekan angkatan 2002 “Evi, Imel, Vinny (*analytic*), Ririn, Rhani, Saenah, Eko ‘ndong’, Widi ‘Oon’, Nia (*organic*), Nuri, Hani, Rohma, Ana, Wiwik, Nyom, Lupy, Silvi, Uul, Ratnil, Diah, Usbatun, Dian, Ely, Shanti, Amel, Seno (*biochemistry*), ShiRoi, Iden, Yunus (*physic*), Pitra, Rusdian, Juhana, tetep semangat dan solid



8. Adik-adik angkatan 2003 (Asep, Nad-Nad, Maya, Iin, Della), angkatan 2004 (*Chin\_salsa*, Dhyna, Nisa, Indra, Ginarto, Dony, Alien), Dini 2005 trims ya bantuannya
9. Punggawa-punggawa laboratorium kimia Om Rohadi, Pak Gimani (Analitik), Pak Damam, Mbak Ambar (Organik), Pak Kamto, Mbak Kiki (Fisik), Mbak Yuli, Yusri, Muhibah (Dasar), Om Erwin dan Mbak Andri (Staf Jurusan) Trims atas bantuan, pelayanan dan peminjaman alat serta kesabaran dalam menjaga dan menunggu penulis selama bekerja di Laboratorium
10. Staf ruang baca “Bunda dan Mas Pras” matur suwun atas kemudahan pelayanan peminjaman buku-buku. Semoga dapat menikmati suasana baru ruang baca dan memberikan pelayanan yang lebih baik lagi
11. Penghuni “*Pondok Cinta*” MP 6 Mbak Endah, Dulce, Denok, Mbak Eva, Rina. Thanks ya... atas semangat, doa dan dukungannya
12. *My Best Friends* “Tika dan Intan” yang tetap setia membantuku dalam kesulitan dengan doanya, memberi semangat, dan menghiburku dalam kesedihan.
13. *My Secret Admire and Someone yang pernah mengisi dan memberikan warna warni dalam kehidupanku*. Thanks ya.. atas semuanya

Serta semua pihak yang telah membantu baik moril dan materiil selama penulis menyelesaikan kuliah. *Terima kasih atas support, doa, dan nasihatnya...* Semoga segala amal baik yang telah kita lakukan mendapatkan ridho dan balasan dari Allah SWT. *Amin Yaa Rabbal'Alamiin...* ☺ ☺ ☺

Saya belajar.....  
Bahwa saya ini hanya makhluk yang lemah  
Masih banyak kekurangan yang ada dalam diriku  
Maka saya selalu perlu bantuan semua orang...  
Saya belajar, bahwa hidup ini banyak masalah  
Menghadapi hidup sendiri adalah masalah  
Oleh karena itu, aku takkan pernah berputus asa,  
selama aku masih bisa beribadah kepada ALLAH...  
Saya belajar, bahwa ada suatu rahasia di luar akalku  
Aku ikhlaskan semua qodho dan qodarku  
Karena aku percaya itu yang terbaik buatku...  
Saya belajar untuk mencintai  
Mencintai kedua orang tua, keluarga dan sahabat tercinta  
Karena aku peduli,  
agar ku bisa menjadi yang lebih baik untuk diriku sendiri  
dan untuk semua saudaraku...  
Saya belajar, bukan karena aku suka dan bukan juga karena baik  
Tapi karena benar  
Jika karena suka saja,  
apa bedanya diriku sekarang dengan diriku saat masih bayi ...  
Jika karena baik saja, baik menurutku belum tentu baik dalam pandanganNya  
Tapi aku melakukan karena benar,  
benar menurut perintah agama yang kuyakini,  
karena agama ini adalah tanggung jawabku sendiri,  
bukan tanggung jawab orang tuaku lagi...  
Saya belajar untuk menjaga hati ini,  
karena aku tidak ingin hatiku keras  
yang dapat menutup kebenaran yang datang,  
yang dapat membuatku terhina dihadapan Yang Maha dahsyat azabnya...  
Saya masih belajar dan masih terus akan belajar  
Bahwa masih ada hidup sesudah mati  
Dan bahwa ALLAH Maha Melihat...  
Saat diriku hadir di dunia ini mungkin orang sekelilingku tertawa,  
sementara diriku menangis  
Dan saat diriku meninggalkan dunia ini nanti,  
ada air mata atau tidak, aku ingin diriku tersenyum  
Allahumma Amiin...



*Tabahlah dalam kegagalan, dan memulai kembali...  
Tabahlah dalam kekalahan, jangan sampai kehilangan iman...  
Tabah ketika kehilangan sahabat,  
Tabah ketika kau disalahpahami, dihina, dicaci, dikedam dan dipersalahkan,  
Oleh orang yang terdekat,  
Bahkan orang yang paling kau sayangi sekalipun...  
Itulah ketabahan yang menggetarkan dunia...  
Mampu menahan amarah dan tetap tersenyum ☺ ☺ ☺  
Apabila kau mempunyai ketabahan seperti itu,  
Apapun yang akan terjadi pada dirimu,  
Kau akan ...MENANG...*

*Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan  
Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan  
sungguh-sungguh urusan yang lain,  
Dan hanya kepada ALLAH hendaknya kamu berharap  
(QS.Alam Nasyrah :6-8)*

*Sesungguhnya ALLAH tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah  
keadaan yang ada pada diri mereka sendiri ( QS.Ar Ra'd : 11)*

*Kupersembahkan skripsi ini untuk Mama dan Ayahku tercinta  
Serta teman-teman yang selalu mendoakanku dan memberikan kasih sayang padaku*

**Haning Meilia Putri Pratama, 2006, Aplikasi Ekstraksi Tetes Mikro pada Analisis Di-2-etilheksilftalat dalam Limbah Industri secara HPLC. Skripsi dibawah bimbingan Dr.rer.nat Ganden Supriyanto, Dipl. EST, MSc dan Dra Miratul Khasanah, MSi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya.**

---

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian aplikasi ekstraksi tetes mikro pada analisis di-2-etilheksilftalat (DEHP) dalam air limbah industri dengan menggunakan instrumen HPLC. Dalam penelitian ini, digunakan kondisi kromatografi sebagai berikut : eluen yang digunakan adalah campuran asetonitril dan metanol 9:1 (v/v), laju alir eluen 0,6 mL/menit dengan detektor UV Vis pada panjang gelombang 270 nm. Dalam proses ekstraksi tetes mikro, pelarut organik sebagai pengekstrak dimasukkan ke dalam mikro syring. Kemudian syring dimasukkan ke dalam fasa air. Ujung syring ditekan sehingga drop yang berada dalam ujung syring dengan ukuran 3  $\mu$ L dibiarkan menggantung dalam fasa air kemudian dilakukan ekstraksi dengan laju pengadukan 1200 rpm. Setelah proses ekstraksi, drop pada ujung syring ditarik masuk ke dalam syring dipindahkan ke dalam *vial*, dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan 100  $\mu$ L metanol kemudian dianalisis dengan menggunakan HPLC. Hasil optimasi parameter analitik dalam ekstraksi tetes mikro antara lain jenis pelarut organik n-heksan, waktu ekstraksi 12 menit dan pH larutan 6. Dari hasil optimasi larutan standar DEHP dengan konsentrasi 1 hingga 5 ppm diperoleh validasi metode diantaranya linearitas dari larutan standar dengan  $r = 0,9998$ , limit deteksi 0,120 ppm, akurasi sebesar 99,41%, presisi antara 6,20% hingga 14,40% dan faktor pemekatan sebesar 198,83. Metode ekstraksi tetes mikro yang telah dioptimasi ini dapat digunakan untuk analisis DEHP dalam sampel air limbah industri dengan akurasi sebesar 46,90%.

*Kata Kunci : di-2-etilheksilftalat, ekstraksi tetes mikro, HPLC*

**Haning Meilia Putri Pratama, 2006, Application of Single Drop Micro Extraction for Analysis of Di-2-ethylhexylphthalate in Industrial Waste Water Using HPLC. This study was guidance by Dr.rer.nat Ganden Supriyanto, Dipl. EST, MSc and Dra Miratul Khasanah, Msi. Chemistry, Department of Mathematics and Natural Science Faculty, Airlangga University, Surabaya.**

---

## ABSTRACT

A simple method using single drop micro extraction (SDME) for analysis of di-2-ethylhexylphthalate (DEHP) in industrial waste water has been studied using HPLC. The chromatographic conditions employed in this work include the use of acetonitrile and methanol 9:1 (v/v) as an eluent, flow rate 0.6 mL/min and UV Vis detection at 270 nm. In the SDME process, organic phase was taken into the syringe, the syringe was then immersed into the aqueous phase and the drop hanging in the solution with volume of drop is 3  $\mu$ L and rate of agitation 1200 rpm. DEHP was extracted, then it was moved into vial and reconstituted with 100  $\mu$ L methanol, then analyzed using HPLC. The result of optimized analytical parameters were n-hexane as an organic solvent, extraction time 12 minutes and adjustment of pH 6. The result of validation method for linearity a linear calibration curve for DEHP standard solution 1 until 5 ppm with  $r = 0.9998$ , limit of detection 0.120 ppm, accuracy 99.41%, relative standard deviation between 6.20% until 14.40% and enrichment factor 198.83. This method has been optimized can be used to analyze DEHP in the waste water industry with accuracy 46.60%.

Key words : di-2-ethylhexylphthalate, single drop micro extraction, HPLC

## DAFTAR ISI

|   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| HALAMAN JUDUL.....  | i              |
| LEMBAR PENGESAHAN.....  | iii            |
| KATA PENGANTAR.....   | v              |
| ABSTRAK.....  | vi             |
| ABSTRACT.....   | vii            |
| DAFTAR ISI.....   | viii           |
| DAFTAR TABEL.....   | xi             |
| DAFTAR GAMBAR.....  | xii            |
| DAFTAR LAMPIRAN.....  | xiii           |
| <br>  |                |
| BAB I PENDAHULUAN.....  | 1              |
| 1.1 Latar Belakang Masalah.....                                 | 1              |
| 1.2 Rumusan Masalah.....  | 5              |
| 1.3 Tujuan.....   | 5              |
| 1.4 Manfaat.....  | 5              |
| <br>  |                |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....                                    | 6              |
| 2.1 Di-2-etilheksilftalat (DEHP).....                           | 6              |
| 2.2 Larutan Buffer.....   | 8              |
| 2.3 Preparasi Sampel.....                                       | 9              |
| 2.4 Ekstraksi.....  | 10             |
| 2.4.1 Ekstraksi cair-cair.....                                  | 11             |
| 2.4.2 Ekstraksi tetes mikro.....                                | 12             |
| 2.5 Kromatografi.....   | 14             |
| 2.5.1 Besaran dalam kromatografi.....                           | 15             |
| 2.5.1.1 Migrasi.....  | 15             |
| 2.5.1.2 Waktu retensi.....                                      | 16             |
| 2.5.1.3 Efisiensi kolom dan <i>tailing</i> .....                | 16             |
| 2.5.1.4 Resolusi dan selektivitas.....                          | 17             |
| 2.5.2 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)..... | 18             |
| 2.5.2.1 Pompa cairan.....                                       | 19             |
| 2.5.2.2 Sistem injeksi.....                                     | 20             |
| 2.5.2.3 Kolom.....  | 20             |
| 2.5.2.4 Detektor.....   | 21             |
| 2.5.2.5 Penggunaan HPLC.....                                    | 21             |
| 2.6 Validasi Metode Analisis.....                               | 22             |
| 2.6.1 Linearitas.....   | 22             |
| 2.6.2 Ketelitian (presisi).....                                 | 23             |
| 2.6.3 Ketepatan (akurasi).....                                  | 23             |

|   |        |
|---|--------|
| BAB III METODE PENELITIAN .....   | 24     |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....   | 24     |
| 3.2 Sampel, Bahan dan Alat Penelitian .....   | 24     |
| 3.2.1 Sampel penelitian .....   | 24     |
| 3.2.2 Bahan penelitian .....  | 24     |
| 3.2.3 Alat penelitian .....   | 25     |
| 3.3 Variabel Penelitian .....   | 25     |
| 3.3.1 Variabel bebas .....  | 25     |
| 3.3.2 Variabel terikat .....  | 25     |
| 3.4 Prosedur Penelitian .....   | 26     |
| 3.4.1 Diagram alir penelitian .....   | 26     |
| 3.4.2 Pembuatan larutan .....   | 27     |
| 3.4.2.1 Pembuatan fasa gerak HPLC .....   | 27     |
| 3.4.2.2 Pembuatan larutan induk DEHP 500 ppm .....  | 27     |
| 3.4.2.3 Pembuatan larutan NaLS 500 ppm .....  | 27     |
| 3.4.2.4 Pembuatan larutan garam 500 ppm .....   | 27     |
| 3.4.2.5 Pembuatan larutan standar DEHP .....  | 27     |
| 3.4.2.6 Pembuatan larutan asam asetat 2 M .....   | 28     |
| 3.4.2.7 Pembuatan larutan natrium asetat trihidrat 2 M .....  | 28     |
| 3.4.2.8 Pembuatan larutan natrium dihidrogenfosfat monohidrat 2 M .....                                 | 28     |
| 3.4.2.9 Pembuatan larutan natrium hidroksida 2 M .....  | 28     |
| 3.4.2.10 Pembuatan buffer asetat pH 4 dan 5 .....   | 29     |
| 3.4.2.11 Pembuatan buffer fosfat pH 6,7 dan 8 .....   | 29     |
| 3.4.3 Pembuatan kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro .....                                    | 29     |
| 3.4.4 Optimasi parameter analitik .....   | 30     |
| 3.4.4.1 Optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi pada ekstraksi tetes mikro .....                     | 30     |
| 3.4.4.2 Optimasi pH pada ekstraksi tetes mikro .....  | 30     |
| 3.4.5 Pembuatan kurva standar DEHP hasil optimasi parameter analitik dengan ekstraksi tetes mikro ..... | 31     |
| 3.4.6 Penentuan parameter-parameter validasi .....  | 31     |
| 3.4.6.1 Penentuan limit deteksi, akurasi dan presisi .....  | 31     |
| 3.4.6.2 Penentuan faktor pemekatan ( <i>enrichment factor</i> ) .....                                   | 32     |
| 3.4.7 Analisis sampel .....   | 33     |
| 3.4.8 <i>Spiking</i> sampel .....   | 33     |
| <br>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....   | <br>34 |
| 4.1 Optimasi Parameter pada Sistem HPLC .....   | 34     |
| 4.1.1 Kromatografi .....  | 34     |
| 4.1.2 Kromatogram dan <i>Baseline</i> .....   | 36     |
| 4.2 Pembuatan Larutan Standar DEHP .....  | 37     |
| 4.3 Pembuatan Kurva Standar DEHP tanpa Ekstraksi Tetes Mikro .....                                      | 37     |
| 4.4 Optimasi Parameter Analitik .....   | 39     |
| 4.4.1 Optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi .....  | 39     |
| 4.4.2 Optimasi pH .....   | 42     |



|   |    |
|---|----|
| 4.5 Pembuatan Kurva Standar DEHP dengan Ekstraksi Tetes Mikro | 44 |
| 4.6 Penentuan Parameter-Parameter Validasi                    | 46 |
| 4.6.1 Ketepatan (akurasi)                                     | 46 |
| 4.6.2 Ketelitian (presisi)                                    | 47 |
| 4.6.3 Penentuan limit deteksi                                 | 47 |
| 4.7 Penentuan Faktor Pemekatan ( <i>enrichment factor</i> )   | 48 |
| 4.8 <i>Sampling</i> , Penyimpanan Sampel dan Preparasi Sampel | 49 |
| 4.9 Analisis Sampel   | 50 |
| 4.10 <i>Spiking</i> Sampel                                    | 51 |
| <br>  |    |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN                                    | 53 |
| 5.1 Kesimpulan  | 53 |
| 5.2 Saran   | 53 |
| <br>  |    |
| DAFTAR PUSTAKA  | 54 |
| <br>  |    |
| LAMPIRAN  |    |





## DAFTAR TABEL

| Nomor | Judul Tabel  | Halaman |
|-------|--|---------|
| 4.1   | Pengaruh laju alir terhadap waktu retensi DEHP .....                   | 36      |
| 4.2   | Data luas area rata-rata standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro .... | 38      |
| 4.3   | Karakteristik fisika kimia jenis pelarut organik .....                 | 39      |
| 4.4   | Data luas area rata-rata terhadap kenaikan waktu ekstraksi .....       | 40      |
| 4.5   | Data luas area rata-rata terhadap kenaikan pH .....                    | 43      |
| 4.6   | Data luas area rata-rata standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro..   | 45      |
| 4.7   | Data persen <i>recovery</i> standar DEHP .....                         | 46      |
| 4.8   | Data $K_v$ larutan standar DEHP .....                                  | 47      |
| 4.9   | Data standar DEHP dengan dan tanpa ekstraksi tetes mikro .....         | 48      |
| 4.10  | Data analisis sampel .....   | 50      |
| 4.11  | Data <i>spiking</i> sampel rata-rata .....                             | 52      |
| 4.12  | Data persen <i>recovery</i> sampel .....                               | 52      |

**DAFTAR GAMBAR**

| <b>Nomor</b> | <b>Judul</b>   | <b>Halaman</b> |
|--------------|--|----------------|
| 1.           | Struktur molekul DEHP .....                                    | 6              |
| 2.           | Langkah-langkah proses analisis sampel.....                    | 10             |
| 3.           | Skema ekstraksi tetes mikro.....                               | 13             |
| 4.           | Klasifikasi kromatografi.....                                  | 15             |
| 5.           | Skema instrumentasi HPLC .....                                 | 19             |
| 6.           | Kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro.....            | 38             |
| 7.           | Kurva optimasi jenis pelarut organik dan waktu ekstraksi ..... | 41             |
| 8.           | Kurva optimasi pH .....  | 43             |
| 9.           | Kurva standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro.....           | 45             |

# BAB I

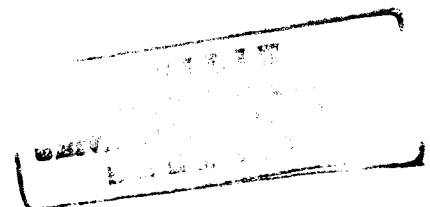
## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Perkembangan ilmu kimia khususnya ilmu kimia analitik saat ini semakin pesat selaras dengan dinamika ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin maju. Dalam kimia analitik, tidak hanya metode analisisnya saja yang perlu dikembangkan, tetapi prosedur pemisahan, penanganan dan interferensi pada sampel yang biasanya dikenal dengan preparasi sampel juga perlu dikembangkan.

Teknik preparasi sampel yang biasanya digunakan untuk pemisahan secara kuantitatif sampel cair adalah dengan ekstraksi cair-cair secara konvensional. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu metode pemisahan yang prinsip kerjanya berdasarkan pada distribusi suatu analit dalam dua pelarut yang tidak saling campur. Kelebihan dari ekstraksi cair-cair diantaranya adalah kapasitas sampel yang digunakan besar, reproduibilitas besar, sederhana dan mudah untuk melaksanakannya.

Selain memiliki kelebihan, ekstraksi cair-cair konvensional memiliki kelemahan diantaranya membutuhkan pelarut organik dalam jumlah yang banyak, timbulnya emulsi, pemisahan fasanya lama dan menghasilkan limbah pelarut organik dalam jumlah besar dan bersifat racun (Psillakis dan Kalogerakis, 2002). Adanya kelemahan-kelemahan dari ekstraksi cair-cair konvensional tersebut mendorong dikembangkannya teknik preparasi sampel baru yang memiliki



kelebihan diantaranya cepat, mudah, sederhana, memerlukan sedikit sampel dan pelarut organik.

Untuk mengatasi kebutuhan pelarut organik dalam jumlah sangat besar dikembangkan teknik *Solid Phase Micro Extraction* (SPME). SPME memiliki keunggulan yaitu konsumsi pelarut organik yang dibutuhkan berjumlah mikroliter sehingga mereduksi jumlah sampel dan kebutuhan pelarut organik serta dapat digunakan untuk pemisahan sampel cair, padat serta dan gas. Akan tetapi kelemahan SPME diantaranya fiber yang digunakan mahal dan waktu pemakaian fiber untuk analisis terbatas (Psillakis dan Kalogerakis, 2002).

Pada beberapa tahun terakhir usaha untuk mengembangkan teknik baru dengan melakukan miniaturisasi teknik ekstraksi cair-cair konvensional yang bertujuan untuk mereduksi konsumsi pelarut organik maupun sampel dikenal dengan *Single Drop Micro Extraction* (SDME). Cantwell dan Jeannot pertama kali memperkenalkan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan tetes mikro pelarut organik yang diletakkan pada ujung *PTFE rod*. Seperti SPME, SDME merupakan metode preparasi sampel pengembangan dari ekstraksi cair-cair konvensional (Buszewski dan Ligor, 2002). SDME menggunakan pelarut organik sebagai fasa organik dalam jumlah mikroliter yang tidak larut dalam air (sampel), sedangkan analit lebih larut dalam fasa organik daripada fasa air.

Pada proses ekstraksi ini pelarut organik yang berukuran mikroliter dibiarkan menggantung pada ujung jarum syring dan diletakkan dalam larutan sampel. Untuk mencapai keadaan kesetimbangan dan transfer massa senyawa target ke pelarut organik berlangsung sempurna, maka diperlukan pengadukan

dengan bantuan pengaduk magnetik pada larutan sampel (Liu dan Dasgupta, 1996). Dengan menggunakan teknik ini maka kesetimbangan distribusinya cepat tercapai dan pemisahan fasanya sempurna. Hasil ekstraksi langsung dapat dianalisis dengan menggunakan instrumentasi yang ada seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) maupun *Gas Chromatography* (GC).

Salah satu senyawa ester dialkil ftalat adalah senyawa di-2-etilheksilftalat (DEHP), merupakan senyawa golongan ftalat yang mendapatkan perhatian besar karena bioakumulasinya dalam jaringan tubuh dan dalam rantai makanan. Senyawa golongan ftalat sulit mengalami biodegradasi dan sangat potensial bersifat toksik. Efek toksik jangka pendek akan mengakibatkan alergi dan asma sedangkan jangka panjang akan mengakibatkan kerusakan sistem saraf, kerusakan sistem endokrin, peningkatan resiko kanker dan lain-lain (Sablayrolles, *et al.*, 2005).

Lebih dari 2 juta ton DEHP diproduksi tiap tahun di seluruh dunia (Koch, *et al.*, 2003). Menurut DiBartolomeis (1997), setidaknya 40 % dalam polivinil klorida (PVC) menggunakan DEHP sebagai *plasticizer* dan sedikitnya 95 % dari DEHP yang diproduksi digunakan untuk PVC. Selain digunakan sebagai bahan penyusun plastik, DEHP juga digunakan sebagai pelarut, pelembut plastik, sebagai komponen dalam produk pembungkus makanan, bahan untuk peralatan medis, kosmetik, pelumas dan pipa (Koch, *et al.*, 2003 ; Niino, *et al.*, 2002).

DEHP merupakan kontaminan yang tersebar luas di lingkungan melalui udara, air maupun terakumulasi dalam sedimen (DiBartolomeis, 1997). DEHP mudah terlepas ke lingkungan dari material PVC karena ikatan antara PVC dan



DEHP bukan merupakan ikatan kovalen akan tetapi terdispersi secara fisika (Koch, *et al.*, 2003). Sehingga dimungkinkan senyawa tersebut terlepas ke lingkungan terutama perairan sekitar kawasan industri yang di dalamnya terdapat industri yang memproduksi bahan plastik yang diduga menghasilkan limbah berupa senyawa DEHP dalam jumlah yang sangat besar karena tidak adanya proses pengolahan atau perlakuan yang proporsional.

Penentuan DEHP menjadi sangat rumit karena keberadaannya di lingkungan dalam matrik yang kompleks dan kadarnya dalam kisaran *part per billion* (ppb) (DiBartolomeis, 1997), sehingga metode ekstraksi cair-cair konvensional yang biasanya digunakan kurang selektif dalam memisahkan DEHP dari matriknya. Battle dan Nerin (2004) telah menggunakan ekstraksi tetes mikro dalam analisis DEHP dalam makanan. Ekstraksi tetesan mikro sangat efektif digunakan untuk pemisahan dan pemekatan senyawa-senyawa organik (Supriyanto, 2005). Derajat pemekatannya dapat diatur berdasarkan perbandingan antara volume sampel dan volume pelarut organik. Beberapa parameter analitik yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi secara SDME diantaranya adalah jenis dan volume tetesan pelarut organik, penambahan garam, pH, kecepatan pengadukan, waktu ekstraksi dan adanya matrik.

Dalam penelitian ini, dilakukan optimasi beberapa parameter meliputi jenis pelarut organik, pengaruh waktu ekstraksi dan kondisi pH larutan. Hasil optimasi parameter tersebut digunakan untuk menentukan DEHP dalam sampel limbah industri. Selanjutnya analisis DEHP dalam sampel menggunakan HPLC dengan detektor UV Vis. HPLC lebih dipilih sebagai instrumen untuk analisis DEHP



dalam sampel bila dibandingkan dengan GC karena pada HPLC tidak dipengaruhi oleh volatilitas sampel.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. bagaimanakah kondisi optimum meliputi jenis pelarut organik, waktu ekstraksi dan pH pada analisis DEHP melalui ekstraksi tetes mikro?
2. apakah metode ekstraksi tetes mikro yang telah dioptimasi dapat digunakan untuk analisis DEHP dalam sampel limbah industri ?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. mengetahui kondisi optimum yang meliputi jenis pelarut organik, waktu ekstraksi dan pH pada ekstraksi tetes mikro dalam analisis DEHP
2. mengaplikasikan metode ekstraksi tetes mikro pada analisis DEHP dalam sampel limbah industri

## 1.4 Manfaat

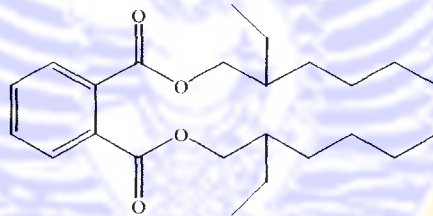
Memberikan informasi dan mengaplikasikan metode ekstraksi sampel yang lebih sederhana, cepat, selektif, sensitif dan ramah lingkungan untuk analisis di-2-etilheksilftalat dalam sampel limbah industri.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Di-2-etilheksilftalat (DEHP)

DEHP memiliki rumus molekul  $C_{24}H_{38}O_4$  dan massa molekul relatifnya 390,54 g/mol. Secara umum sifat fisika kimia senyawa DEHP antara lain mempunyai tekanan uap 1,32 mmHg pada suhu 200°C, mempunyai titik didih 230°C pada 500 mmHg dan titik lelehnya -50°C. Nilai Log  $K_{ow}$  4,89, *specific gravity* 0,9861 g/cm<sup>3</sup> pada 20°C dan kelarutannya dalam air pada suhu 24°C sebesar 0,285 mg/L dan sangat larut dalam minyak dan heksana (Bodzek, *et al.*, 2003 dan DiBartolomeis, 1997). Struktur kimia DEHP :



Gambar 1. Struktur molekul DEHP

DEHP digunakan sebagai bahan *plasticizer* dalam PVC yang ditambahkan dalam sintesis polimer (Sablayrolles, *et al.*, 2005). Fungsi penambahan DEHP adalah memberikan kelenturan dan kemuluran pada suatu bahan. Tanpa penambahan *plasticizer*, kebanyakan plastik berupa padatan yang keras dan rapuh. Penambahan *plasticizer* akan menghasilkan penurunan suhu peralihan gelas sampai di bawah suhu ruang (Connel dan Miller, 1983).

DEHP yang telah ditambahkan pada pembuatan PVC digunakan oleh beberapa pabrik untuk menghasilkan produk yang bernilai komersial. Adapun

produk yang dihasilkan antara lain : mainan anak, jas hujan, sol sepatu, sarung tangan, peralatan medis seperti selang infus dan kantong darah, serta produk-produk lainnya (DiBartolomeis, 1997).

Keberadaan DEHP di lingkungan dalam konsentrasi yang relatif rendah. DEHP dapat berada di udara, tanah dan air. Dalam udara ambien penguapan DEHP rendah. Hal ini diketahui dari beberapa studi pengamatan udara yang telah mendeteksi adanya DEHP dalam udara ambien. Kandungan DEHP pada udara di daerah perairan rata-rata sebesar  $1 \text{ ng/m}^3$  sedangkan kandungan rata-rata DEHP pada udara daerah perkotaan dan kawasan industri sebesar  $29 \text{ ng/m}^3$  bahkan lebih bila berada di kawasan industri plastik (DiBartolomeis, 1997).

Beberapa senyawa DEHP berada dalam fasa uap dan biasanya bergabung dengan partikel lain di udara. DEHP dapat berpindah dari udara ke tanah, permukaan air dan tanaman melalui perpindahan partikel atau pembersihan partikel dengan pengendapan. Kelarutan DEHP dalam air rendah, memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi partikel yang kuat pada sedimen dalam lingkungan air (DiBartolomeis, 1997).

DEHP memasuki tanah dan sedimen melalui perairan. Perairan mengandung bahan material di sekitar sedimen. Lumpur yang mengandung DEHP kemudian menyebar pada tanah. DEHP mengikat kuat partikel padatan. Dalam tanah terjadi ikatan antara mineral dan senyawa organik. Williams (1995) telah mengukur besarnya nilai normalisasi koefisien partisi ( $K_{oc}$ ) pada sampel untuk DEHP sebesar  $4,8 \times 10^5$ .

Metabolisme ftalat memiliki efek karsinogen, teratogen dan merupakan senyawa pengganggu endokrin. Kini sifat genotoksisitas DEHP telah diketahui berada dalam sel limfe dan sel mukosa (Koch, *et al.*, 2003). Manusia dapat terpapar ftalat melalui beberapa jalan. Salah satu contohnya melalui perpindahan ftalat dari pembungkus plastik makanan, melalui kulit yang menyerap bahan kosmetik atau melalui penghirupan udara yang mengandung ftalat. Anak kecil dapat juga terpapar oleh DEHP melalui mainan plastik yang dimasukkan ke dalam mulut atau gigi anak (Koch, *et al.*, 2002). Selain melalui makanan, perpindahan DEHP dapat melalui peralatan medis misalnya melalui selang infus, kantong darah serta peralatan medis lain yang terbuat dari plastik (DiBartolomeis, 1997).

## 2.2 Larutan Buffer

Larutan buffer ialah larutan yang dengan penambahan sedikit ion  $H_3O^+$  atau ion  $OH^-$  tidak memberikan perubahan pH yang berarti. Dengan kata lain larutan buffer adalah larutan yang dapat menahan perubahan pH. Oleh karena itu larutan buffer juga disebut larutan penahan atau larutan penyangga. Campuran zat yang dapat menahan perubahan pH disebut sistem buffer atau buffer (Day dan Underwood, 1998 dan Pikir, 1989).

Sistem buffer biasanya merupakan campuran asam lemah dengan basa konjugatnya atau campuran basa lemah dengan asam konjugatnya. Secara umum pH untuk buffer asam lemah dengan basa konjugat dapat ditulis dengan persamaan (Pikir, 1989):

$$pH = pKa + \text{Log} \frac{[\text{basakonjugat}]}{[\text{asam}]} \dots\dots\dots (1)$$

Bagi sistem buffer yang terdiri dari campuran basa lemah dengan asam konjugatnya, maka persamaan (1) diatas menjadi (Pikir, 1989) :

$$pH = pK_w - pK_b + \text{Log} \frac{[basa]}{[asamkonjugat]} \dots\dots\dots (2)$$

$$pOH = pK_b + \text{Log} \frac{[asamkonjugat]}{[basa]} \dots\dots\dots (3)$$

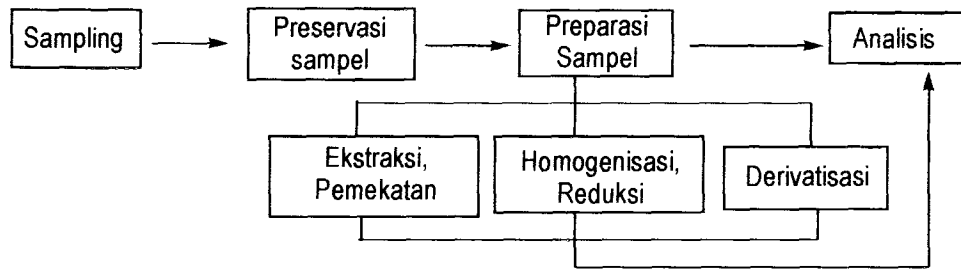
Campuran buffer tidak hanya terbatas pada campuran antara asam lemah dengan basa konjugatnya, melainkan juga untuk campuran asam – basa konjugat dari asam – basa polibasis. Kapasitas buffer adalah kemampuan larutan buffer untuk menahan perubahan pH dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi dan perbandingan konsentrasi asam atau basa konjugat yang membentuk sistem buffer (Pikir, 1989).

### 2.3 Preparasi Sampel

Instrumentasi yang dipergunakan untuk menganalisis sampel seperti kromatografi, spektroskopi dan mikroskopi yang dilengkapi tingkat sensitivitas yang tinggi telah dikembangkan untuk menganalisis senyawa target dalam matrik dengan limit deteksi yang rendah. Meskipun demikian tahapan preparasi sampel mutlak dilakukan sebelum melakukan analisis senyawa (Supriyanto,2005).

Preparasi sampel merupakan salah satu tahapan yang biasanya meliputi proses homogenisasi, ekstraksi dan derivatisasi yang keseluruhannya dilakukan dengan tujuan untuk mengisolasi senyawa yang diinginkan dari matriks kemudian memekatkannya. Langkah-langkah proses analisis sampel seperti dalam gambar berikut (Supriyanto, 2005).





Gambar 2. Langkah-langkah proses analisis sampel

## 2.4 Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan bagian dalam langkah preparasi sampel. Hasil dari proses ekstraksi adalah isolasi dan pemisahan keterikatan komponen sampel dari matrik. Proses ekstraksi sangat bervariasi dalam tingkatan selektivitas, kecepatan dan tidak hanya bergantung pada pendekatan serta kondisi yang digunakan tetapi bergantung pada konfigurasi fasa yang digunakan dalam proses ekstraksi (Supriyanto, 2005).

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk memisahkan komponen utama dari zat pengotor sehingga diperoleh larutan yang lebih murni. Terjadinya pemisahan antara suatu zat dengan zat yang lain pada proses ekstraksi berdasar pada perbedaan kelarutan zat dalam suatu pelarut. Semakin besar perbedaan kelarutan suatu zat maka akan semakin sempurna proses pemisahannya. Berdasarkan bentuk campuran yang akan diekstraksi, ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua yaitu ekstraksi padat – cair dan ekstraksi cair – cair (Supriyanto, 2005).



### 2.4.1 Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi cair-cair adalah salah satu teknik ekstraksi konvensional, sederhana dan digunakan secara luas pada preparasi sampel untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Teknik ekstraksi ini melibatkan distribusi komponen dalam sampel diantara dua fasa cair yang tidak saling campur. Solut dapat larut di dalam kedua macam pelarut yang tidak saling campur dan terbagi ke dalam kedua pelarut tersebut sampai dicapai suatu keadaan setimbang. Kemampuan suatu ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya pH, pelarut yang digunakan, perbandingan distribusi, jumlah volume pelarut yang digunakan dan jumlah ekstraksi yang dilakukan.

Ekstraksi cair-cair konvensional biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pemisah (*separatory funnel*). Corong pemisah yang berisi sampel dan pelarut organik dikocok untuk mencampurkan pelarut dengan sampel sehingga terpisah menjadi dua lapisan yaitu fasa organik dan fasa air. Ekstraksi cair-cair konvensional mempunyai tujuan untuk mendapatkan selektivitas yang tinggi pada tiap komponen analit. Tingginya perbandingan distribusi menyebabkan komponen analit dapat diekstraksi dari volume sampel besar menjadi ekstrak dengan volume kecil.

Metode ini mempunyai beberapa kelemahan, diantaranya adalah kemungkinan timbulnya emulsi, banyaknya jumlah pelarut organik yang digunakan, menghasilkan limbah pelarut organik dalam jumlah yang besar, proses ekstraksinya membutuhkan waktu yang lama. Oleh karena itu, pengembangan teknik ekstraksi cair-cair masih perlu dilakukan yang bertujuan terutama untuk

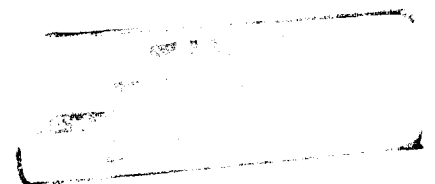
meminimalkan penggunaan pelarut organik. Salah satu hasil pengembangannya adalah dengan ditemukannya metode ekstraksi tetes mikro.

#### 2.4.2 Ekstraksi tetes mikro

Ekstraksi tetes mikro adalah teknik ekstraksi cair-cair yang merupakan pengembangan dari ekstraksi cair-cair konvensional. Pada tahun 1996 Cantwell dan Jeannot mulai menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan tetesan mikro pelarut organik yang ditempatkan pada bagian akhir *PTFE rod*. Sistem ini memiliki dua bagian sistem pengeluaran yaitu untuk ekstraksi dan injeksi (He dan Lee, 1997). Liu dan Dasgupta (1996) menggunakan sistem ekstraksi cair tetes mikro untuk menyelidiki sejumlah analit yang kemudian diidentifikasi secara *in situ* dengan detektor UV-VIS. He dan Lee (1997) memperkenalkan cara sederhana untuk ekstraksi tetes mikro dengan membiarkan tetesan pelarut organik menggantung pada ujung jarum syring.

Ekstraksi tetes mikro adalah teknik ekstraksi cair-cair *modern* dengan menggunakan pelarut organik dalam jumlah mikro. Pada proses ekstraksi ini, pelarut organik yang berukuran mikroliter dibiarkan menggantung pada ujung jarum syring dan diletakkan dalam larutan sampel. Untuk mencapai keadaan kesetimbangan transfer massa senyawa target ke pelarut organik berlangsung sempurna, diperlukan pengadukan dengan bantuan pengaduk magnetik pada larutan sampel (Liu dan Dasgupta, 1996). Keadaan keseimbangan ini dapat ditulis dalam bentuk persamaan (Buszewski dan Ligor, 2002) :

$$AN(aq) = AN(org) \dots\dots\dots (4)$$



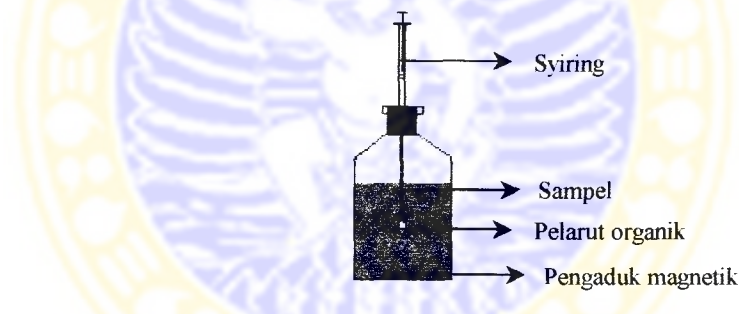
dengan aq dan org menunjukkan fasa air dan fasa organik. Besarnya rasio aktivitas analit dalam pelarut dituliskan dalam persamaan :

$$Kd - \frac{[AN]_{org}}{[AN]_{aq}} = 0 \dots\dots\dots (5)$$

Dalam ekstraksi cair-cair, besarnya konsentrasi analit pada keadaan kesetimbangan dalam fasa organik ditunjukkan dalam persamaan :

$$C_{o,eq} = KC_{aq,eq} = \frac{KC_{0, aq}}{1 + KV_o / KV_{aq}} \dots\dots\dots (6)$$

dengan K adalah koefisien distribusi,  $C_{0, aq}$  adalah konsentrasi analit mula-mula dalam fasa air,  $C_{aq, eq}$  dan  $C_{o, eq}$  adalah konsentrasi pada titik ekuivalen dalam fasa air (aq) dan fasa organik (o),  $V_o$  dan  $V_{aq}$  adalah volume fasa organik dan fasa air.



Gambar 3. Skema ekstraksi tetes mikro

Ekstraksi senyawa target dengan teknik ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu sistem *batch* dan sistem kontinyu. Dalam sistem *batch* sejumlah volume pelarut organik di ujung syring dimasukkan ke dalam sejumlah volume sampel. Kemudian larutan sampel diaduk terus-menerus dengan menggunakan pengaduk magnetik. Setelah proses ekstraksi maka pelarut organik ditarik kembali ke dalam syring dan diinjeksikan langsung ke instrumen analisis. Sedangkan dalam sistem kontinyu, pelarut organik di ujung syring diletakkan dalam suatu mikro reaktor

yang dialiri sampel sehingga proses ekstraksi terjadi secara kontinyu. Dengan cara yang sama pelarut organiknya ditarik kembali ke dalam syring dan diinjeksikan langsung ke instrumen analisis (HPLC atau GC).

Pemekatan senyawa target akan terjadi karena volume pelarut organik jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan volume sampel. Derajat pemekatan teoritis didefinisikan sebagai perbandingan antara volume sampel dan volume pelarut organik. Transfer massa senyawa target dari larutan sampel ke pelarut organik dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah volume sampel, jenis dan volume pelarut organik, kecepatan pengadukan, pH larutan sampel, dan kecepatan laju alir sampel (untuk sistem kontinyu).

Teknik ekstraksi tetesan mikro ini dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa dialkilftalat, nitroaromatik, polisiklik aromatik hidrokarbon, senyawa organoklorin, *triazine herbicides*, kokain, endosulfans (Li, *et.al.*, 2005). Beberapa penelitian yang telah menggunakan metode ekstraksi tetesan mikro ini diantaranya adalah aplikasi ekstraksi tetesan mikro dalam analisis dialkil ftalat ester dalam *food simultans* dengan GC-FID (Battle dan Nerin, 2004) , penentuan aseton, heksanal dan heptanal dalam sampel darah dengan pentafluorobenzyl hydroxylamine dengan *headspace* (HS) SDME-GCMS (Li, *et.al.*, 2005).

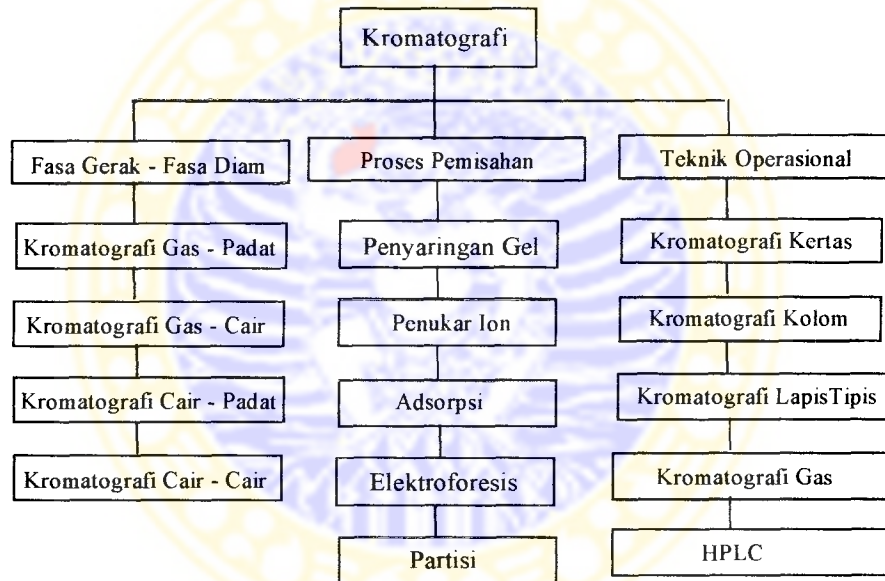
## 2.5 Kromatografi

Definisi kromatografi menurut Keulmans adalah suatu metode pemisahan fisik dimana komponen-komponen yang dipisahkan didistribusikan diantara dua fasa. Salah satu fasa tersebut adalah suatu lapisan stasioner dengan permukaan

yang luas, yang lainnya sebagai fluida yang mengalir di sepanjang landasan stasioner. Fasa stasioner dapat berupa padatan maupun cairan sedangkan fasa gerak dapat berupa cairan maupun gas. Untuk zat terlarut A, dapat dituliskan hubungan kesetimbangan dalam suatu persamaan (Skoog dan Leary, 1992) :

$$A_{\text{Mobile}} \leftrightarrow A_{\text{stationar}}$$

Penggolongan kromatografi yang saat ini banyak digunakan antara lain berdasarkan fasa gerak dan fasa diam, berdasar proses terjadinya pemisahan dan berdasar teknik operasionalnya (Skoog dan Leary, 1992).



Gambar 4. Klasifikasi kromatografi

## 2.5.1 Besaran dalam kromatografi

### 2.5.1.1 Migrasi

Perbedaan migrasi merupakan hasil distribusi keseimbangan dari beberapa senyawa dalam suatu komponen diantara fasa gerak dan fasa diam. Distribusi molekul cuplikan diantara dua fasa ditentukan oleh tetapan kesetimbangan, yang



dikenal sebagai koefisien distribusi atau koefisien partisi,  $K$ . Kesetimbangan adalah proses dinamik, molekul keluar masuk dengan cepat antara dua fasa yang mengikuti hukum distribusi sesuai dengan persamaan berikut :

$$K = \frac{C_s}{C_m} \dots\dots\dots (7)$$

dengan  $C_s$  dan  $C_m$  adalah kadar suatu senyawa dalam fasa diam dan fasa gerak

Pemisahan komponen dalam suatu campuran terjadi karena perbedaan kecepatan migrasi zat terlarut dalam sistem kromatografi. Faktor kapasitas ( $k'$ ) merupakan parameter yang penting untuk menggambarkan laju migrasi solut dalam kolom yang didefinisikan (Skoog, *et al.*, 1992) :

$$k' = \frac{K.V_s}{V_m} \dots\dots\dots (8)$$

dengan  $V_s$  dan  $V_m$  adalah volume solut dalam fasa diam dan fasa gerak.

### 2.5.1.2 Waktu retensi

Waktu retensi yaitu waktu yang diperlukan solut mulai diinjeksikan sampai sampel keluar dari kolom dengan melintasi kolom sepanjang  $L$  dinyatakan sebagai waktu retensi ( $t_R$ ). Waktu yang diperlukan oleh fasa gerak untuk keluar dari kolom dinyatakan sebagai waktu mati ( $t_M$ ). Hubungan keduanya dengan faktor kapasitas dinyatakan dengan (Skoog, *et al.*, 1992) :

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} \dots\dots\dots (9)$$

### 2.5.1.3 Efisiensi kolom dan *tailing*

Efisiensi kolom merupakan ukuran ketajaman suatu puncak yang penting dalam mendeteksi suatu zat yang berada dalam bentuk residu. Efisiensi kolom



didefinisikan sebagai jumlah lempeng teoritis (*theoretical plate*)  $N$ , yang dapat dituliskan dalam bentuk persamaan :

$$N = 16 \left[ \frac{t}{W} \right]^2 \dots\dots\dots (10)$$

Pada analisis berulang, lebar suatu puncak harus konstan, variasi lebar puncak yang terjadi menunjukkan bahwa kinerja kolom sudah berubah. Bila teknik penyuntikan atau injeksi sampel tidak baik, maka dapat menimbulkan variasi puncak yang akan memberikan variasi pada efisiensi kolom. Cara lain untuk menyatakan efisiensi kolom adalah dengan HETP yang menunjukkan efisiensi kolom per unit panjang dari kolom.

$$HETP = \frac{L}{N} \dots\dots\dots (11)$$

*Tailing* sering juga disebut sebagai faktor ikutan atau simetris yang merupakan ukuran kesimetrisan suatu puncak. *Tailing* dapat dinyatakan dengan persamaan :

$$T = \frac{W_{0,05}}{2f} \dots\dots\dots (12)$$

dengan  $W_{0,05}$  adalah lebar puncak pada 5 % tinggi dan  $f$  menunjukkan jarak maksimum puncak sampai tepi muka puncak, diukur pada ketinggian 5 % dari tinggi puncak terhadap garis dasar.

#### 2.5.1.4 Resolusi dan selektivitas

Tujuan umum dari kromatografi adalah pemisahan yang cukup dari campuran yang dipisahkan. Sehingga hasil yang diperoleh harus memiliki ukuran kuantitatif atau resolusi. Resolusi adalah ukuran pemisahan relatif dari 2 puncak.

Resolusi ( $R_s$ ) didefinisikan sebagai jarak antara 2 pusat pita dibagi dengan rata-rata lebar puncak yang diukur pada dasar puncak.

$$R_s = 2 \left[ \frac{tr_2 - tr_1}{w_1 + w_2} \right] \dots\dots\dots (13)$$

Suatu pemisahan disebut baik jika kedua puncak terpisah dengan sempurna hingga garis dasar, sehingga besarnya nilai  $R_s \geq 1$  (Snyder, 1979).

Selektivitas ( $\alpha$ ) diperoleh dengan jalan membandingkan waktu retensi kedua komponen pada kondisi kromatografi yang sama. Faktor selektivitas dapat dirumuskan :

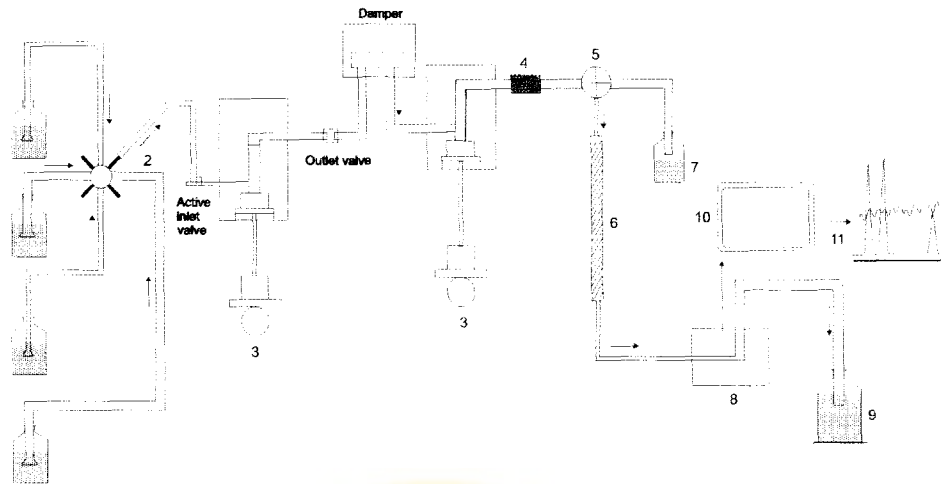
$$\alpha = \frac{tr'_B}{tr'_A} \dots\dots\dots (14)$$

Agar terjadi pemisahan pada kedua komponen tersebut, maka besarnya  $\alpha > 1$ .

### 2.5.2 *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah teknik pengembangan dari teori kromatografi cair (*liquid chromatography*) dan merupakan instrumentasi yang dikembangkan dari *gas chromatography*. HPLC adalah metode terbaik untuk analisis makro dan mikro molekul anorganik, senyawa bahan alam, biokimia dan senyawa lainnya karena penggunaan HPLC mudah dan tidak dibatasi oleh kestabilan senyawa yang mudah menguap.

Ditinjau dari sistem peralatannya, HPLC termasuk kromatografi kolom karena fase diamnya diisikan di dalam kolom. Tetapi bila ditinjau dari proses pemisahannya, HPLC dapat digolongkan sebagai kromatografi partisi atau kromatografi adsorpsi (Mulya dan Syahrani, 1991).



<sup>1</sup> Gambar 5. Skema instrumentasi HPLC (Mulya dan Suharman, 1995)

Keterangan :

- |                         |                     |
|-------------------------|---------------------|
| 1. Botol eluen          | 6. Kolom            |
| 2. Pompa tekanan rendah | 7&8. Pembuangan     |
| 3. Pompa tekanan tinggi | 9. Penampung efluen |
| 4. Kolom terlindung     | 10. Integrator      |
| 5. Gerbang suntik       | 11. Kromatogram     |

### 2.5.2.1 Pompa cairan

Pompa yang digunakan pada HPLC seperti tandon pelarut yang memiliki persyaratan diantaranya dapat memberikan tekanan sampai 6000 psi (lbs/in<sup>2</sup>), memberikan kecepatan aliran 0,1-10 mL/menit, alirannya terkontrol dengan reproduksibilitas 0,5 % atau kurang dan anti karat sehingga kebanyakan pompa terbuat dari bahan gelas, baja, nirkerat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan untuk skala preparatif menggunakan kecepatan alir sampai 20 mL/menit (Mulya dan Syahrani, 1991). Sistem pompa HPLC dapat melakukan elusi dengan menggunakan satu macam pelarut atau lebih. Dikenal ada dua jenis sistem pompa pada HPLC yaitu sistem elusi isokratik dan sistem elusi gradien.

Pada sistem elusi isokratik, elusi dilakukan dengan menggunakan satu macam atau lebih larutan pengembang yang memiliki perbandingan tetap. Sedangkan pada sistem elusi gradien, elusi dilakukan dengan pelarut pengembang campur yang perbandingannya berubah dalam waktu tertentu.

#### **2.5.2.2 Sistem injeksi**

Sistem injeksi sampel merupakan hal yang terpenting dalam analisis kualitatif dan kuantitatif menggunakan HPLC. Ada tiga macam sistem injeksi pada HPLC diantaranya sistem injeksi dengan memakai septum (diafragma), sistem injeksi tanpa septum, sistem injeksi dengan pipa dosis. Sistem injeksi yang sering digunakan dalam analisis kuantitatif adalah dengan menggunakan sistem injeksi dengan pipa dosis. Karena dengan sistem ini dapat diketahui ketepatan jumlah volume sampel yang diinjeksikan.

#### **2.5.2.3 Kolom**

Kolom pada HPLC merupakan bagian yang sangat penting sebab pemisahan komponen-komponen sampel akan terjadi di dalam kolom. Oleh karena itu, hal yang harus diperhatikan antara lain pemilihan kolom yang sesuai, pemeliharaan kolom dan uji terhadap spesifikasi kolom (Mulja dan Suharman, 1995). Kolom pada HPLC didisain lurus dan memiliki diameter sangat kecil yang bertujuan memperluas kemampuan detektor sehingga kepekaan tinggi, menjadi lebih teliti, menghemat volume larutan pengembang dan sampel yang dianalisis dalam jumlah sedikit.

#### 2.5.2.4 Detektor

Detektor yang digunakan dalam instrumen HPLC memiliki beberapa persyaratan diantaranya memiliki sensitivitas yang tinggi ( $10^{-8}$ - $10^{-15}$  g solut per detik), kestabilan dan reproduibilitas yang baik, memberikan respon yang linear terhadap konsentrasi solut, dapat digunakan pada suhu kamar hingga  $400^{\circ}\text{C}$ , tidak dipengaruhi oleh perubahan temperatur dan kecepatan pelarut pengembang, mudah didapat, selektif terhadap macam-macam solut di dalam larutan pengembang dan tidak merusak sampel. Macam-macam detektor yang digunakan dalam analisis kualitatif maupun kuantitatif diantaranya detektor *fluorescent*, *UV-Visible*, *Refraksi Indek (RI)*, *Infra Red (IR)*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)*, *Mass Spectroscopy (MS)*.

#### 2.5.2.5 Penggunaan HPLC

HPLC dapat digunakan untuk beberapa hal diantaranya : preparasi, pemisahan komponen kimia, identifikasi, analisis kualitatif dan kuantitatif komponen dalam sampel. Komponen kimia dapat dipisahkan dengan menggunakan HPLC. Hal ini didasarkan pada perbedaan migrasi antara partikel dalam kolom dan fasa gerak. Identifikasi suatu senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan detektor yang sesuai. Pemisahan senyawa target dari matrik dapat terjadi dan diketahui dengan jelas karena tiap senyawa memiliki karakteristik puncak kromatogram. Analisis kuantitatif suatu senyawa dengan HPLC dilakukan dengan bantuan larutan standar. Larutan standar diinjeksikan ke dalam HPLC dan dihasilkan kromatogram waktu retensi dengan luasan area tertentu. Dengan kurva



kalibrasi senyawa standar yang dibuat dari plot konsentrasi terhadap luasan area kromatogram, akan dapat diketahui konsentrasi analit sampel yang dianalisis.

## 2.6 Validasi Metode Analisis

Bagian yang terpenting dalam suatu perkembangan metode adalah validasi metode. Pada HPLC sebelum metode digunakan untuk analisis kuantitatif maka harus dibuktikan bahwa metode tersebut valid pada kondisi yang digunakan. Parameter yang dipakai untuk metode validasi antara lain selektifitas, linieritas, ketelitian dan ketepatan.

### 2.6.1 Linieritas

Hubungan yang linier antara respon detektor dengan konsentrasi zat yang dianalisis dinyatakan dengan harga koefisien korelasi ( $r$ ). Linearitas baik apabila harga koefisien korelasi ( $r$ ) mendekati 1. Untuk menghitung harga koefisien korelasi digunakan rumus (Miller dan Miller, 1988) :

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \bar{x} \sum_{i=1}^n y_i}{\left\{ \left[ n \sum x^2 - (\sum x)^2 \right] \left[ n \sum y^2 - (\sum y)^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad (15)$$

Harga  $b$  dan  $a$  dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Miller dan Miller, 1988) :

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (16)$$

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n} \quad (17)$$

keterangan :  $a$  = intersep,

$b$  = slope,

$r$  = koefisien korelasi,

$x$  = konsentrasi sampel,

$y$  = luas area,                       $n$  = jumlah data

### 2.6.2 Ketelitian (presisi)

Ketelitian adalah suatu derajat keterulangan (*reproducibility*) dari suatu metode analisis. Ketelitian (presisi) menyatakan hasil yang diperoleh dengan pengukuran yang berulang pada kondisi yang sama. Ketelitian dari suatu metode analisis dinyatakan dengan simpangan baku (standar deviasi = SD). Macam uji yang digunakan adalah uji koefisien variasi dengan menggunakan rumus (Miller dan Miller, 1988) :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (18)$$

$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \dots\dots\dots (19)$$

### 2.6.3 Ketepatan (akurasi)

Ketepatan (akurasi) menyatakan seberapa dekat hasil analisis terhadap kadar zat yang sebenarnya. Akurasi merupakan ukuran ketepatan metode analisis dan umumnya dinyatakan dengan persen *recovery* (R) atau persen perolehan kembali. Harga persen *recovery* dapat dihitung (Miller dan Miller, 1988) :

$$R = \frac{C_{sp}}{K_s} \times 100\%, \dots\dots\dots (20)$$

$$C_{sp} = \frac{A_{sp}}{A_{st}} \times C_{st} \dots\dots\dots (21)$$

Keterangan:     $R$  = persen *recovery*,                       $C_{sp}$  = konsentrasi yang diperoleh

$C_{st}$  = konsentrasi standar,                       $K_s$  = konsentrasi sebenarnya

$A_{sp}$  = luas area sampel,                       $A_{st}$  = luas area standar

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik dan Kimia Dasar Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga mulai bulan Januari sampai Juni 2006.

#### **3.2 Sampel, Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1 Sampel penelitian**

Sampel yang digunakan berupa air limbah yang diambil dari tiga titik di lokasi Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) kawasan industri PT PIER-Pasuruan, Jawa Timur. Sampel dimasukkan dalam botol kaca dan disimpan sebelum dianalisis pada suhu ruangan. Preservasi sampel dilakukan dengan menyaring 100 mL sampel dengan kertas saring *cellulose nitrate membrane filter* Whatman 0,45  $\mu\text{m}$ .

##### **3.2.2 Bahan penelitian**

Bahan-bahan kimia yang digunakan berderajat kemurnian pro analisis (p.a) antara lain metanol, asetonitril, asam asetat, di-2-etilheksilftalat, toluen, karbon tetraklorida, n-heksan, NaLS, natrium asetat trihidrat, natrium dihidrogenfosfat dihidrat, natrium hidroksida, natrium klorida. Air yang digunakan adalah akuabides.

### 3.2.3 Alat penelitian

Penelitian ini menggunakan seperangkat peralatan gelas yang lazim digunakan, seperangkat HPLC seri *Hewlett-Packard* HP 1050, kolom 79925 ODE-564 *Lichrospher* 100 RP-18e 5  $\mu\text{m}$  125-4, integrator *Hewlett-Packard* 339 series 2, vakum *degasser*, syring *Hamilton Gastight* 1700 series 25  $\mu\text{L}$ , mikro pipet 100  $\mu\text{L}$  dan 50 $\mu\text{L}$  eppendorf, tip, kertas saring *cellulose nitrate membrane filter* whatman 0,45 $\mu\text{m}$ , kertas saring whatman 40, batang pengaduk magnetik, *magnetic stirrer* dan pH meter.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

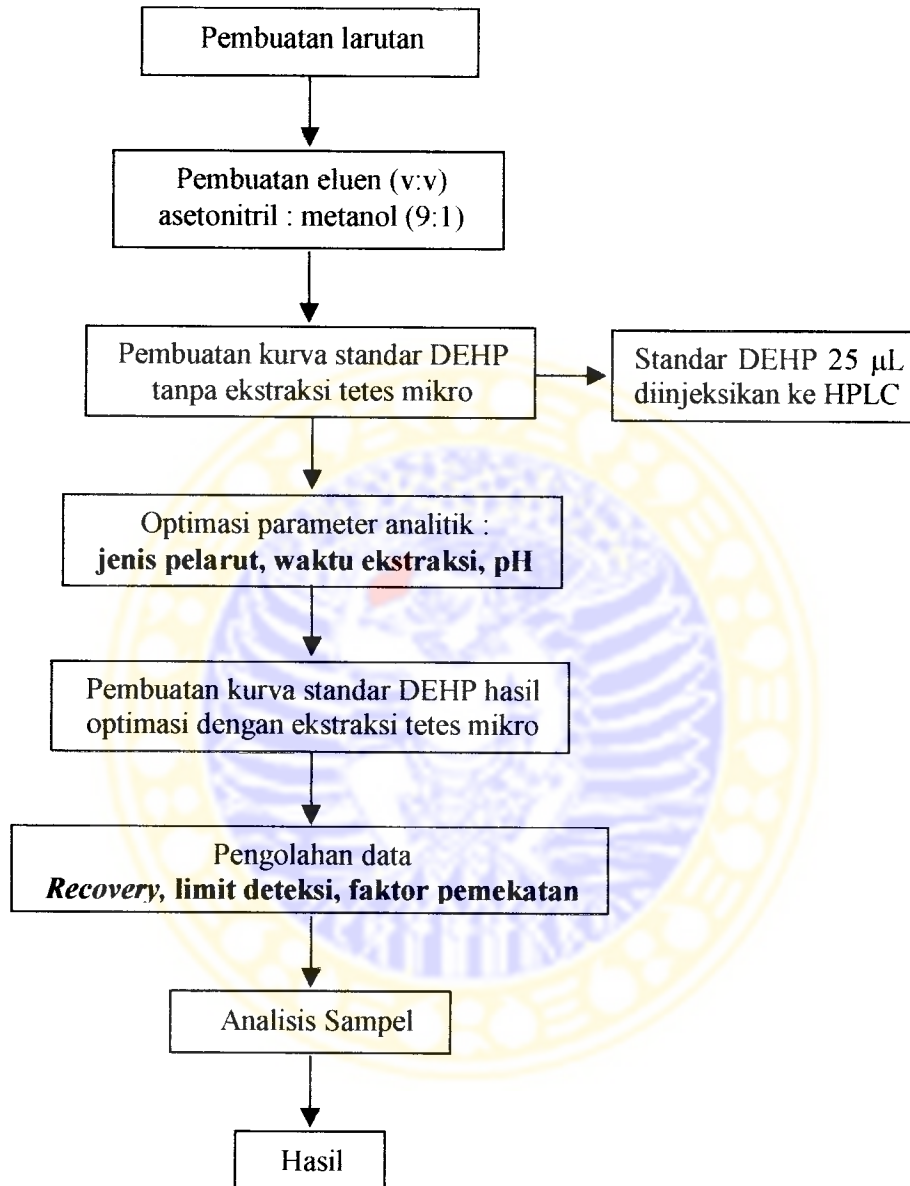
Jenis pelarut, waktu ekstraksi dan pH larutan

#### 3.3.2 Variabel terikat

Luas area dari hasil kromatogram, persentase *recovery*

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Diagram alir penelitian





### **3.4.2 Pembuatan Larutan**

#### **3.4.2.1 Pembuatan fasa gerak HPLC**

Dibuat larutan asetonitril dan metanol dengan perbandingan (9:1(v/v)) (Aignasse, *et al*, 1995) sebanyak 1000 mL. Larutan dihomogenkan dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan 1500 rpm selama 1 jam kemudian disaring dengan menggunakan corong *buchner*.

#### **3.4.2.2 Pembuatan larutan induk DEHP 500 ppm**

Dipipet dengan mikropipet 50  $\mu\text{L}$  DEHP, dilarutkan dengan metanol dalam gelas beker, lalu dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas.

#### **3.4.2.3 Pembuatan larutan NaLS 500 ppm**

Ditimbang 0,1252 g NaLS, dilarutkan dengan akuabides dalam gelas beker, lalu dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 250 mL, kemudian diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

#### **3.4.2.4 Pembuatan larutan NaCl 500 ppm**

Ditimbang 0,1252 g NaCl kemudian dilarutkan dengan akuabides dalam gelas beker, lalu dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 250 mL dan diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

#### **3.4.2.5 Pembuatan larutan standar DEHP**

Dibuat larutan standar DEHP sebanyak 100 mL dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dalam 1 % metanol yang di dalamnya mengandung NaCl 5 ppm (Tang dan Lee, 2002) dan NaLS 0,5 ppm (Nugroho, 2001). Masing-masing larutan standar dibuat dengan cara memipet larutan induk DEHP 500 ppm

sebanyak berturut-turut 0,20 ; 0,40 ; 0,60 ; 0,80 dan 1,00 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian masing-masing larutan ditambahkan metanol sebanyak berturut-turut 0,80 ; 0,60 ; 0,40 ; 0,20 ; 0 mL dan 100  $\mu$ L NaLS 500 ppm serta 1,00 mL NaCl 500 ppm. Kemudian tiap larutan diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

#### **3.4.2.6 Pembuatan larutan asam asetat 2 M**

Diambil 11,40 mL asam asetat dimasukkan ke dalam 25 mL akuabides dalam gelas beker kemudian dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

#### **3.4.2.7 Pembuatan larutan natrium asetat trihidrat 2 M**

Ditimbang 27,0573 g natrium asetat trihidrat, kemudian dilarutkan dengan akuabides dalam gelas beker. Larutan dipindah ke labu ukur 100 mL dan diencerkan hingga tanda batas dengan akuabides.

#### **3.4.2.8 Pembuatan larutan natrium dihidrogenfosfat dihidrat 2 M**

Ditimbang 31,4230 g natrium dihidrogenfosfat dihidrat, dilarutkan dengan akuabides dalam gelas beker. Larutan dipindah ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan hingga tanda batas dengan akuabides.

#### **3.4.2.9 Pembuatan larutan natrium hidroksida 2 M**

Ditimbang sebanyak 8,1520 g natrium hidroksida kemudian dilarutkan dengan akuabides. Larutan dipindah ke dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan hingga tanda batas dengan akuabides.

#### **3.4.2.10 Pembuatan buffer asetat pH 4 dan 5**

Untuk membuat buffer asetat pH 4 digunakan campuran 8,0 mL asam asetat 2 M dan 2,0 mL natrium asetat trihidrat 2 M. Untuk membuat buffer asetat pH 5 digunakan campuran 3,0 mL asam asetat 2 M dan 7,0 mL natrium asetat trihidrat 2 M. Masing-masing campuran dimasukkan dalam gelas piala diencerkan hingga 100 mL.

#### **3.4.2.11 Pembuatan buffer fosfat pH 6,7 dan 8**

Untuk membuat buffer fosfat pH 6 digunakan campuran 30 mL natrium dihidrogenfosfat dihidrat 2M dan 9,5 mL natrium hidroksida 2M. Untuk membuat buffer fosfat pH 7 digunakan campuran 25 mL natrium dihidrogenfosfat dihidrat 2M dan 45 mL natrium hidroksida 2M. Untuk membuat buffer fosfat pH 8 digunakan campuran 3 mL natrium dihidrogenfosfat dihidrat 2M dan 45 mL natrium hidroksida 2M. Masing-masing campuran dimasukkan dalam gelas piala diencerkan dengan akuabides hingga 100 mL.

#### **3.4.3 Pembuatan kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro**

Diambil dengan mikro syring sebanyak 25  $\mu$ L larutan standar DEHP dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dianalisis secara langsung (tanpa ekstraksi tetes mikro) dengan HPLC menggunakan detektor UV, diukur luas areanya pada panjang gelombang 270 nm (Aignasse, *et al*, 1995) dengan laju alir 0,600 mL/menit. Analisis ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Dari data yang diperoleh, dibuat kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro antara luas area terhadap konsentrasi.

### **3.4.4 Optimasi parameter analitik**

Pada penelitian ini dilakukan optimasi parameter awal yang meliputi pengaruh jenis pelarut dan waktu ekstraksi serta penambahan pH pada larutan. Tiap analisis dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### **3.4.4.1 Optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi pada ekstraksi tetes mikro**

Dalam penelitian ini digunakan beberapa pelarut organik diantaranya adalah toluena, n-heksana dan karbon tetraklorida serta variasi waktu ekstraksi 4, 8, 12, 16 dan 20 menit. Sebanyak 20,00 mL larutan standar DEHP dimasukkan ke dalam gelas beker 30 ml yang di dalamnya terdapat pengaduk magnetik, kemudian ditutup dengan gabus. Syring yang di dalamnya berisi 20  $\mu\text{L}$  pelarut organik dimasukkan secara tegak lurus sampai ujung syring masuk ke dalam larutan standar. Kemudian ujung syring ditekan sehingga pelarut organik keluar sebanyak 3  $\mu\text{L}$  menggantung di ujung syring. Larutan standar diaduk dengan kecepatan 1200 rpm dengan waktu ekstraksi yang divariasikan. Setelah ekstraksi, pelarut organik yang ada di dalam syring ditarik, dipindahkan ke dalam *vial* dan dikeringkan, kemudian dilarutkan kembali dengan menggunakan 100  $\mu\text{L}$  metanol dan selanjutnya diinjeksikan sebanyak 25  $\mu\text{L}$  ke HPLC. Dari data yang diperoleh dibuat kurva antara luas area dan waktu ekstraksi jenis pelarut organik, maka akan dapat diketahui jenis pelarut organik dan waktu ekstraksi yang memberikan hasil optimum.

#### **3.4.4.2 Optimasi pH pada ekstraksi tetes mikro**

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variasi pH diantaranya 4, 5, 6, 7 dan 8 dengan cara menambahkan 5 mL larutan buffer dalam 100 mL larutan

standar, sementara variabel yang lain dibuat konstan. Setelah ekstraksi, pelarut organik yang ada di dalam syring ditarik, di pindahkan ke dalam *vial* dan dikeringkan, kemudian dilarutkan kembali dengan menggunakan 100  $\mu\text{L}$  metanol dan selanjutnya diinjeksikan sebanyak 25  $\mu\text{L}$  ke HPLC. Dari data yang diperoleh dibuat kurva antara luas area dan pH, sehingga dapat diketahui pH yang optimum dalam ekstraksi tetes mikro.

### 3.4.5 Pembuatan kurva standar DEHP hasil optimasi parameter analitik dengan ekstraksi tetes mikro

Sebanyak 20,00 mL larutan standar DEHP 1 ppm, diperlakukan seperti pada prosedur sebelumnya menggunakan pelarut organik, waktu ekstraksi dan pH yang telah dioptimasi pada prosedur sebelumnya. Prosedur yang sama juga diperlakukan untuk larutan standar 2, 3, 4 dan 5 ppm. Analisis dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh dibuat kurva standar hasil optimasi antara luas area terhadap konsentrasi.

### 3.4.6 Penentuan parameter-parameter validasi

#### 3.4.6.1 Penentuan limit deteksi, akurasi dan presisi

Limit deteksi (LOD) merupakan salah satu parameter validasi yang menyatakan sensitivitas instrumen dan metode analisis yang digunakan. LOD atau batas deteksi menyatakan besarnya kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi dengan baik yang ditentukan dengan persamaan (Miller dan Miller, 1988) :

$$Y_{LOD} = Y_{bl} + 3S_{bl} \dots\dots\dots (22)$$

$$Y_{LOD} = S_{y/x} = a + 3S_{y/x} \dots\dots\dots (23)$$



Keterangan :

$Y_{LOD}$  = sinyal terkecil yang masih terdeteksi

$$S_{bl} = S_{y/x} = \text{standar deviasi sinyal blanko} = \sqrt{\frac{(y - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

$Y_{bl}$  = a = sinyal blanko (intersep dari persamaan kurva kalibrasi)

n = jumlah pasangan data

y = luas area masing-masing pengukuran

$\hat{y}$  = diperoleh dari mensubstitusi nilai x ke persamaan regresi

$Y_{LOD}$  yang diperoleh kemudian disubstitusikan ke persamaan kurva kalibrasi sehingga diperoleh nilai limit deteksi (x). Sedangkan untuk menentukan presisi digunakan persamaan 18 dan 19 serta untuk menentukan akurasi digunakan persamaan 20 dan 21.

#### 3.4.6.2 Penentuan faktor pemekatan (*enrichment factor*)

Faktor pemekatan menjelaskan seberapa besar pemekatan yang terjadi selama proses ekstraksi analit dari fasa air (sampel) ke fasa organik. *Theoretical enrichment factor* merupakan nilai yang menyatakan besarnya pemekatan yang terjadi selama proses ekstraksi analit dari fasa air ke fasa organik secara teoritis, dirumuskan dengan (Supriyanto, 2005) :

$$Ef_{th} = \frac{V_s}{V_e} \dots\dots\dots (24)$$

dengan :  $V_s$  = volume sampel sebelum ekstraksi

$V_e$  = volume sampel sesudah ekstraksi

Namun, seberapa besar pemekatan yang sebenarnya terjadi selama proses ekstraksi dirumuskan dengan *true enrichment factor* ( $Ef_{tr}$ ) merupakan perkalian antara *theoretical enrichment factor* ( $Ef_{th}$ ) dengan *recovery* ( $R$ ).

$$Ef_{tr} = Ef_{th} \times R \dots\dots\dots (25)$$

### 3.4.7 Analisis sampel

Sebanyak 20,00 mL sampel diekstraksi seperti pada prosedur sebelumnya dengan menggunakan jenis pelarut organik dan waktu ekstraksi hasil optimasi. Analisis sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Jumlah DEHP yang terekstrak dapat dihitung dari persamaan regresi linear yang diperoleh dari prosedur sebelumnya

### 3.4.8 Spiking sampel

Sebanyak 20,00 mL sampel yang di dalamnya mengandung larutan standar dengan konsentrasi yang divariasikan 1, 3 dan 5 ppm, diekstraksi seperti pada prosedur sebelumnya dengan menggunakan jenis pelarut organik dan waktu ekstraksi hasil optimasi. Analisis sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Jumlah DEHP yang terekstrak dapat dihitung dari persamaan regresi linear yang diperoleh dari prosedur sebelumnya.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Optimasi Parameter Pada Sistem HPLC

Pada dasarnya, optimasi parameter dalam penggunaan HPLC terdiri dari beberapa komponen penting yaitu kromatografi, kromatogram dan *baseline*. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi kromatografi (pemilihan fasa gerak dan panjang gelombang) serta optimasi kromatogram dan *baseline* (hasil kromatogram disajikan dalam lampiran).

##### 4.1.1 Kromatografi

Optimasi sistem kromatografi pada HPLC merupakan langkah penting yang pertama kali dilakukan sebelum melakukan analisis dengan menggunakan HPLC. Optimasi sistem kromatografi dapat dilakukan dengan menggunakan variasi fasa gerak (eluen), laju alir, pemilihan kolom, dan penggunaan detektor.

##### 1. Optimasi fasa gerak

Fasa gerak merupakan faktor yang sangat penting pada analisis menggunakan instrumentasi HPLC karena komposisi fasa gerak menentukan keterpisahan senyawa yang akan dianalisis. Besarnya ukuran partikel perlu diperhatikan karena pori-pori dalam komponen kolom HPLC sangat kecil ( $\pm 0,4 \mu\text{m}$ ) sehingga untuk mencegah penyumbatan, sebelum dilakukan analisis dengan menggunakan HPLC semua sampel yang akan disuntikkan dan fasa gerak yang akan digunakan disaring terlebih dahulu. Kemudian dihilangkan gelembung udara (*degassing*) dengan cara sonifikasi (menggunakan getaran ultrasonik). Hal ini dilakukan

dengan tujuan untuk mencegah terjadinya penyumbatan pada kolom dan gangguan pada *baseline* (yang juga tergantung pada kepekaan detektor).

Pada awal penelitian ini telah dilakukan pemilihan fasa gerak yang digunakan untuk menganalisis DEHP. Berdasarkan studi pustaka diperoleh bahwa campuran asetonitril dan metanol dengan perbandingan komposisi 9:1 (v/v) dapat digunakan sebagai campuran fasa gerak untuk analisis DEHP (Aignasse, *et al.*, 1995). DEHP memiliki kelarutan yang besar dalam metanol dan asetonitril. Namun, belum ada data secara nominal yang menunjukkan besarnya kelarutan DEHP baik dalam metanol maupun asetonitril. Hasil optimasi eluen dengan komposisi metanol dan asetonitril (9:1) memberikan hasil pemisahan yang bagus. Oleh karena itu dalam penelitian ini dipilih campuran asetonitril dan metanol dengan perbandingan (9:1) sebagai eluen dalam analisis DEHP.

## 2. Penentuan panjang gelombang

Pada umumnya senyawa organik memiliki distribusi elektron  $\pi$ ,  $\sigma$  dan  $n$  (elektron tidak berpasangan). Apabila suatu senyawa menyerap sinar UV maka akan mengalami transisi elektron ke tingkat yang lebih tinggi yaitu pada orbital anti bonding (Mulya dan Suharman, 1995). Adanya gugus karbonil pada DEHP menyebabkan terjadinya transisi lemah dari pasangan elektron bebas ( $n$ ) yang diberikan oleh gugus karbonil menuju  $\pi^*$ . Sehingga analisis DEHP dapat dideteksi dengan menggunakan detektor UV pada HPLC. Pada penelitian ini digunakan panjang gelombang 270 nm untuk menganalisis DEHP (Aignasse, *et al.*, 1995).

### 3. Penentuan laju alir

Satuan laju alir adalah mL/menit yang menunjukkan berapa mililiter eluen yang digunakan untuk mengelusi analit selama analisis tiap menit. Dalam penelitian ini, laju alir eluen dioptimasi dengan cara memvariasi laju alir eluen yaitu 0,6; 0,8 dan 1,0 mL/min. Tabel 4.1 berikut menunjukkan data pengaruh laju alir terhadap waktu retensi analisis DEHP.

**Tabel 4.1** Pengaruh laju alir terhadap waktu retensi DEHP

| Laju Alir<br>(mL/menit) | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |                        |        |                        |        |                        |
|-------------------------|--------------------------------|------------------------|--------|------------------------|--------|------------------------|
|                         | 10 ppm                         |                        | 40 ppm |                        | 50 ppm |                        |
|                         | tr*                            | luas area <sup>o</sup> | tr*    | luas area <sup>o</sup> | tr*    | luas area <sup>o</sup> |
| 1,00                    | 3,320                          | 146841                 | 3,460  | 842393                 | 3,373  | 1292339                |
| 0,80                    | 4,332                          | 338978                 | 4,180  | 931370                 | 4,173  | 1402163                |
| 0,60                    | 5,530                          | 371114                 | 5,555  | 1143151                | 5,565  | 1668898                |

Keterangan : n =3 , \* dalam menit, <sup>o</sup> dalam satuan

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa waktu retensi DEHP bervariasi tergantung dari besarnya laju alir yang digunakan. Pada laju alir 1,0 dan 0,8 mL/menit, pemisahan analit belum berlangsung sempurna sehingga luas area yang dihasilkan lebih kecil bila dibandingkan dengan menggunakan laju alir 0,6 mL/menit. Sedangkan penggunaan laju alir yang terlalu rendah akan menyebabkan keterpisahan analit dari senyawa di dalam kolom semakin lama. Pada penelitian ini dipilih laju alir 0,6 mL/menit sebagai kondisi yang paling optimal.

#### 4.1.2 Kromatogram dan *Baseline*

Kromatogram dan *baseline* pada HPLC juga memegang peranan penting dalam analisis menggunakan HPLC. Hal ini disebabkan karena hasil pemisahan ditunjukkan berupa puncak-puncak analit yang berupa luasan area yang disebut dengan kromatogram serta memperoleh *baseline* yang baik pada tiap



kromatogram. Pada dasarnya, optimasi kromatogram dan *baseline* pada HPLC dapat dilakukan secara manual dengan cara mengubah parameter grafik pada integrator (*Manual Part Integrator Tutorial*).

#### **4.2 Pembuatan Larutan Standar DEHP**

Pada penelitian ini digunakan larutan DEHP dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. Larutan standar DEHP yang digunakan mengandung metanol 1%, NaLS dengan konsentrasi 0,5 ppm (Nugroho, 2001) dan NaCl dengan konsentrasi 5 ppm (Tang dan Lee, 2002).

Keberadaan NaCl dan NaLS di lingkungan perairan berperan sebagai matrik. Keberadaan matrik di lingkungan akan berinteraksi dengan berbagai senyawa kimia yang berasal dari limbah domestik maupun industri. Adanya NaCl dalam sampel menunjukkan adanya efek *salting out* sehingga menurunkan laju distribusi analit dari fasa air menuju fasa organik. Akibatnya apabila semakin banyak kandungan NaCl dalam larutan, analit yang terekstrak semakin sedikit. Sedangkan penambahan NaLS sebagai matrik dalam larutan berfungsi sebagai emulgator yang akan mempengaruhi kestabilan drop. Apabila semakin banyak kadar NaLS dalam larutan, menyebabkan drop menjadi tidak stabil. Akibatnya drop mudah jatuh sehingga analit yang terekstraksi semakin kecil.

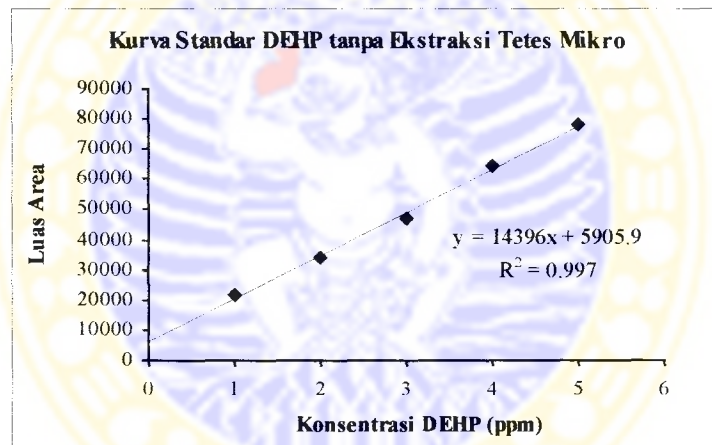
#### **4.3 Pembuatan Kurva Standar DEHP Tanpa Ekstraksi Tetes Mikro**

Kurva standar larutan DEHP dibuat dengan menggunakan larutan standar DEHP dengan konsentrasi yang divariasikan. Larutan standar DEHP dianalisis secara

langsung dengan HPLC tanpa ekstraksi tetes mikro. Berdasarkan hasil analisis DEHP maka diperoleh data yang ditampilkan pada Tabel 4.2. Kurva standar DEHP tanpa SDME dibuat dengan tujuan untuk mengetahui adanya korelasi linier antara konsentrasi DEHP dengan sinyal berupa luas area kromatogram.

**Tabel 4.2** Luas area rata-rata standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro

| Konsentrasi DEHP (ppm) | Luas area rata-rata (satuan) |
|------------------------|------------------------------|
| 1                      | 21488,0                      |
| 2                      | 34133,3                      |
| 3                      | 47165,0                      |
| 4                      | 64288,3                      |
| 5                      | 78388,3                      |



Gambar 6. Kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro

Berdasarkan kurva standar pada Gambar 6 diperoleh persamaan regresi linier  $y = 14396x + 5905,9$ , dalam hal ini  $y$  adalah luas area kromatogram dan  $x$  adalah konsentrasi larutan standar DEHP. Dari kurva tersebut juga diperoleh harga  $r = 0,9985$ . Data yang diperoleh ini kemudian dibandingkan dengan kurva standar DEHP hasil optimasi ekstraksi dengan menggunakan SDME yang bertujuan untuk mengetahui apakah pada proses ekstraksi dengan SDME terjadi pemekatan terhadap senyawa yang dianalisis (DEHP).

#### 4.4 Optimasi Parameter Analitik

Untuk mengetahui kondisi optimum ekstraksi tetes mikro maka pada penelitian ini dilakukan optimasi parameter awal yang meliputi optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi serta pH larutan.

##### 4.4.1 Optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi

Jenis pelarut yang sesuai digunakan sebagai zat pengeksrak (fasa organik) pada SDME akan menentukan tingkat selektivitas terhadap ekstraksi senyawa target (analit) sehingga meningkatkan jumlah analit yang terekstrak ke dalam fasa organik. Prinsip yang paling mendasar dalam pemilihan jenis pelarut berdasarkan prinsip *like dissolve like*. Selain itu juga perlu memperhatikan tingkat selektivitas, polaritas, toksisitas, volatilitas, kelarutan dalam air, titik didih dan momen dipol (Psillakis dan Kalogerakis, 2002 dan Batlle dan Nerin, 2004). Pada penelitian ini digunakan 3 jenis pelarut organik yaitu klorotetrafluorometana ( $\text{CCl}_4$ ), toluen dan n-heksan. Masing-masing pelarut tersebut memiliki karakteristik secara kimia dan fisika seperti yang tercantum dalam Tabel 4.3 berikut.

**Tabel 4.3** Karakteristik fisika kimia jenis pelarut organik

| Jenis Pelarut  | Kelarutan dalam air (25°C) | Log $K_{ow}$ | Titik didih (°C) | Massa Jenis ( $\text{g/cm}^3$ ) |
|----------------|----------------------------|--------------|------------------|---------------------------------|
| $\text{CCl}_4$ | 785 mg/L                   | 2,04         | 76,72            | 1,589                           |
| Toluen         | 526 mg/L                   | 2,73         | 110,6            | 0,866                           |
| n-heksan       | 9,5 mg/L                   | 3,90         | 68,7             | 0,660                           |

(Batlle dan Nerin, 2004)

Pada penelitian ini optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi dilakukan secara bersama-sama. Artinya, masing-masing pelarut yang digunakan sebagai zat pengeksrak divariasi waktu ekstraksinya. Hal ini bertujuan untuk

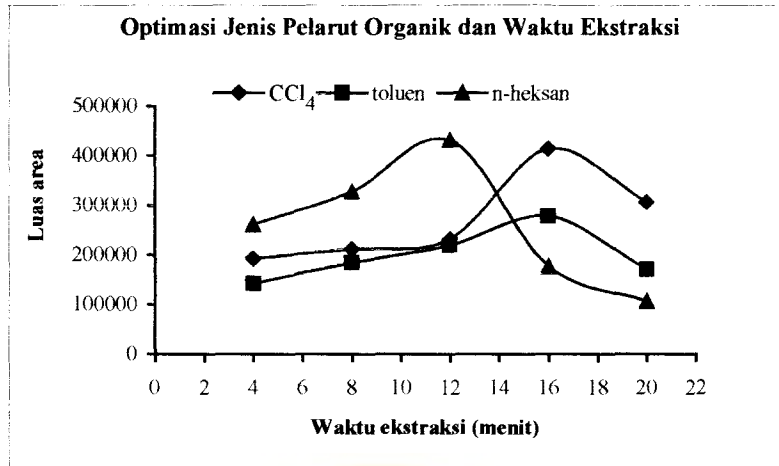
membandingkan luas area kromatogram masing-masing pelarut organik terhadap waktu ekstraksi selama proses ekstraksi tetes mikro berlangsung.

Dalam menentukan kondisi optimum jenis pelarut dan waktu ekstraksi selain bergantung pada peningkatan sinyal instrumen berupa luas area kromatogram juga bergantung pada kestabilan drop selama ekstraksi berlangsung. Kestabilan drop pada dasarnya bergantung pada besarnya tegangan permukaan yang diberikan oleh pelarut terhadap fasa air dan adanya matrik dalam larutan. Selain itu, adanya gaya kohesi antara drop dan fasa air menyebabkan drop stabil selama proses ekstraksi berlangsung (Batlle dan Nerin, 2004).

Pelarut organik yang berada menggantung pada ujung syring (drop) dimasukkan ke dalam fasa air yang berisi analit, maka analit tersebut akan berpindah dari fasa air menuju fasa organik (Batlle dan Nerin, 2004). Waktu ekstraksi merupakan salah satu parameter yang penting untuk dilakukan optimasi agar DEHP yang terekstrak lebih banyak. Tabel 4.4 dan Gambar 7 berikut menunjukkan hasil optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi terhadap luasan area kromatogram.

**Tabel 4.4** Data luas area rata-rata terhadap kenaikan waktu ekstraksi

| Jenis Pelarut Organik | Luas area rata-rata (satuan) |          |          |          |          |
|-----------------------|------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                       | 4 menit                      | 8 menit  | 12 menit | 16 menit | 20 menit |
| CCl <sub>4</sub>      | 192847,3                     | 212175,3 | 232809,3 | 414594,3 | 307438,7 |
| Toluen                | 142574,0                     | 184462,0 | 219662,0 | 278655,3 | 171695,3 |
| n-heksan              | 261472,3                     | 328285,7 | 432312,7 | 177478,7 | 106750,0 |



Gambar 7. Kurva optimasi jenis pelarut organik dan waktu ekstraksi

Berdasarkan Gambar 7, kenaikan waktu ekstraksi menyebabkan kenaikan luas kromatogram. Akan tetapi, setelah mencapai titik maksimum terjadi penurunan jumlah DEHP yang terekstrak ditunjukkan dengan penurunan luas area kromatogram. Hal tersebut disebabkan karena drop yang berisi pelarut organik secara perlahan larut dalam fasa air seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi sehingga volume drop semakin berkurang, akibatnya jumlah DEHP yang terekstrak semakin sedikit.

Berdasarkan Gambar 7, n-heksan dengan waktu ekstraksi 12 menit dipilih sebagai kondisi optimum dalam analisis DEHP menggunakan ekstraksi tetes mikro. Pemilihan n-heksan sebagai pelarut yang paling optimal karena kelarutan DEHP sangat besar dalam n-heksan bila dibandingkan dengan kelarutan DEHP dalam toluen dan CCl<sub>4</sub> (Bodzek, *et al.*, 2003 dan DiBartolomeis, 1997). Rendahnya tingkat kelarutan n-heksan dalam air sebesar 9,5 mg/L dan tingginya nilai  $K_{ow}$  pada n-heksan sebesar 3,90 sehingga mengurangi terjadinya pelarutan dalam fasa air bila dibandingkan dengan CCl<sub>4</sub> dan toluen. Selain itu juga, n-



heksan memiliki titik didih yang paling rendah bila dibandingkan dengan  $\text{CCl}_4$  dan toluen. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya penguapan selama proses ekstraksi (Psillakis dan Kalogerakis, 2003).

Waktu ekstraksi 12 menit dipilih sebagai waktu ekstraksi yang paling optimum. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh He dan Lee (1997) bahwa waktu ekstraksi yang memberikan luas area yang semakin besar berada pada rentangan 1 hingga 15 menit. Karena ekstraksi pada waktu yang terlalu lama akan menyebabkan drop jatuh atau larut.

#### 4.4.2 Optimasi pH

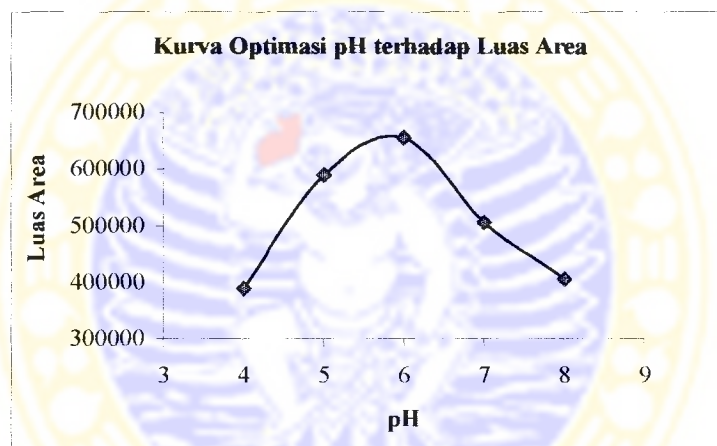
Adanya kenaikan pH dalam fasa air dapat meningkatkan jumlah analit yang terekstrak. Hal tersebut menunjukkan adanya kesetimbangan disosiasi antara analit yang bersifat asam maupun basa. Analit yang bersifat asam, penambahan pH pada rentang pH asam akan menyebabkan analit tidak melepaskan ionnya sehingga dalam larutan, analit berada sebagai bentuk molekulnya. Hal ini akan meningkatkan jumlah analit yang terekstrak karena analit akan berpindah dari fasa air menuju fasa organik. Bila analit yang bersifat asam dinaikkan pHnya sehingga berada dalam rentang pH basa, maka analit terurai menjadi bentuk garamnya dan larut dalam fasa air. Akibatnya analit cenderung larut dalam air daripada dalam fasa organik sehingga jumlah analit yang terekstrak semakin berkurang (Psillakis dan Kalogerakis., 2003).

Pada penelitian ini digunakan buffer dengan pH yang divariasikan mulai dari pH 4, 5, 6, 7 dan 8. Alasan pemilihan buffer dengan rentangan nilai pH 4 sampai 8 karena bila menggunakan buffer  $\text{pH} < 2$  dan  $\text{pH} > 8$ , kolom pada HPLC yang

berisi fasa diam akan terlarut (Skoog, *et al.*, 1992). Tabel 4.5 dan Gambar 8 berikut menunjukkan hasil optimasi penambahan pH terhadap luas area kromatogram.

**Tabel 4.5** Data luas area rata-rata terhadap kenaikan pH

| pH Larutan | Luas area rata-rata (satuan) |
|------------|------------------------------|
| 4          | 389566,3                     |
| 5          | 589485,0                     |
| 6          | 656725,3                     |
| 7          | 505704,7                     |
| 8          | 406340,0                     |



Gambar 8. Kurva optimasi pH

Pada Gambar 8 menunjukkan bahwa DEHP terekstrak secara optimal pada pH 6. DEHP mempunyai sifat cenderung sedikit asam (netral) hal ini ditunjukkan dengan pengukuran larutan standar DEHP pada kondisi awal sebelum dilakukan ekstraksi berada pada pH 6. Oleh sebab itu, pada kondisi pH 6 DEHP sesuai dengan bentuk molekul aslinya (bentuk organiknya) sehingga terekstrak dalam fasa organik (pelarut) lebih banyak daripada fasa air. Hal ini ditunjukkan dengan kenaikan luas area kromatogram.

Pada  $\text{pH} < 6$  (asam) jumlah DEHP yang terekstrak semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena pada  $\text{pH}$  yang rendah (asam), selama proses ekstraksi berlangsung, DEHP mengalami hidrolisis menjadi bentuk asamnya sehingga cenderung larut dalam fasa air daripada fasa organik. Demikian juga pada kondisi  $\text{pH}$  yang tinggi  $> 6$  (basa), DEHP akan menjadi bentuk garamnya sehingga cenderung larut dalam fasa air daripada fasa organik. Sehingga DEHP yang terekstrak sedikit yang ditunjukkan dengan penurunan luas area kromatogram. Sehingga pada penelitian ini pada  $\text{pH} 6$  dipilih sebagai kondisi optimum dalam analisis DEHP menggunakan ekstraksi tetes mikro.

#### **4.5 Pembuatan Kurva Standar DEHP Dengan Ekstraksi Tetes Mikro**

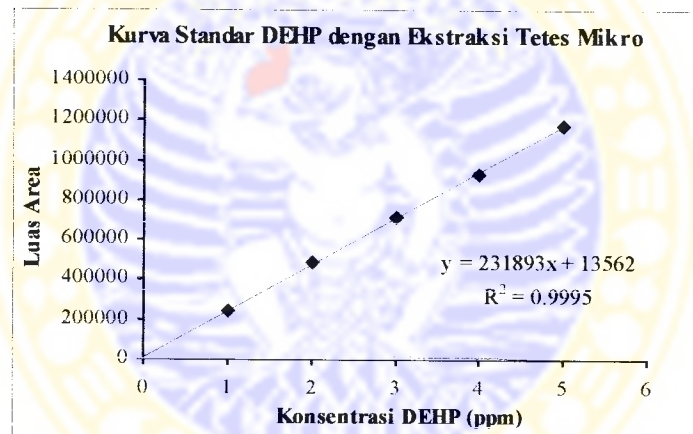
Kurva standar larutan DEHP dengan ekstraksi tetes mikro dibuat dengan menggunakan larutan standar DEHP dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. diekstraksi dengan menggunakan parameter analitik yang telah dioptimasi yaitu pelarut organik n-heksan, waktu ekstraksi selama 12 menit dan kondisi larutan standar dengan  $\text{pH} 6$ .

Pada proses ekstraksi tetes mikro, setelah proses ekstraksi berlangsung pelarut organik yang berada dalam syring ditarik dan dipindahkan ke dalam *vial* kemudian dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan metanol. Hal ini dilakukan karena sistem HPLC yang digunakan bersifat *reverse phase*. Artinya pelarut yang digunakan dalam analisis yang masuk melewati kolom harus bersifat polar sehingga digunakan metanol sebagai pelarut karena bersifat polar. Kemudian hasilnya diplotkan ke dalam grafik antara konsentrasi larutan standar DEHP

terhadap luasan area kromatogram. Kurva standar DEHP dengan SDME dibuat dengan tujuan untuk mengetahui adanya korelasi linier antara konsentrasi DEHP dengan sinyal yang berupa luas area kromatogram dan untuk mengetahui apakah terjadi pemekatan selama proses analisis DEHP dengan menggunakan SDME.

**Tabel 4.6** Data luas area rata-rata standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro

| Konsentrasi DEHP (ppm) | Luas area rata-rata (satuan) |
|------------------------|------------------------------|
| 1                      | 239620,7                     |
| 2                      | 486771,0                     |
| 3                      | 712046,3                     |
| 4                      | 930596,0                     |
| 5                      | 1177174,7                    |



Gambar 9. Kurva standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro

Berdasarkan kurva standar pada Gambar 9 diperoleh persamaan regresi linier  $y = 231893x + 13562$ , dalam hal ini  $y$  adalah luas area kromatogram dan  $x$  adalah konsentrasi larutan standar DEHP. Dari kurva tersebut jika dibandingkan dengan data kurva standar DEHP tanpa SDME menunjukkan terjadinya pemekatan selama analisis DEHP dengan SDME. Banyaknya pemekatan yang terjadi akan dibahas pada sub bab berikut. Persamaan garis linear yang diperoleh

menunjukkan bahwa adanya korelasi linear antara konsentrasi DEHP dengan sinyal luas area kromatogram dengan nilai koefisien korelasi,  $r = 0,9998$ .

#### 4.6 Penentuan Parameter-Parameter Validasi

##### 4.6.1 Ketepatan (Akurasi)

Penentuan akurasi metode dengan cara menganalisis larutan standar DEHP dengan konsentrasi yang berbeda. Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi DEHP 1, 3 dan 5 ppm dengan asumsi bahwa konsentrasi tersebut mewakili konsentrasi terkecil, sedang dan besar yang terdapat pada daerah kurva standar dengan SDME. Kemudian dihitung besarnya perolehan kembali (persen *recovery*), sehingga diperoleh data yang ditampilkan pada Tabel 4.7 berikut.

**Tabel 4.7** Data persen *recovery* standar DEHP

| Konsentrasi DEHP (ppm) | <i>Recovery</i> (%) |
|------------------------|---------------------|
| 1                      | 97,48               |
| 2                      | 100,40              |
| 3                      | 100,36              |
| Rata-rata              | 99,41               |

Berdasarkan data pada Tabel 4.7 diperoleh besarnya persen *recovery* (%R) rata-rata untuk analisis DEHP dengan menggunakan metode SDME sebesar 99,41%, maka dapat disimpulkan bahwa aplikasi SDME dalam analisis DEHP mempunyai akurasi yang baik.

##### 4.6.2 Ketelitian (Presisi)

Untuk menentukan ketelitian (presisi) metode dengan cara menganalisis larutan standar DEHP dengan konsentrasi yang berbeda. Kemudian dihitung



presisi ( $K_V$ ) masing-masing larutan standar. Besarnya nilai  $K_V$  dari larutan standar tersebut disajikan dalam Tabel 4.8.

**Tabel 4.8** Data  $K_V$  larutan standar DEHP

| Konsentrasi DEHP (ppm) | $K_V$ (%) |
|------------------------|-----------|
| 1                      | 9,45      |
| 2                      | 14,40     |
| 3                      | 7,81      |
| 4                      | 6,20      |
| 5                      | 9,39      |

Berdasarkan Tabel 4.8 diatas, menjelaskan bahwa presisi SDME kurang baik. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien variasi (KV) yang lebih dari 3 %. Menurut He dan Lee (1997) besarnya presisi (% KV) dengan menggunakan metode SDME dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya pelarut organik yang digunakan dapat larut dalam larutan sampel selama ekstraksi berlangsung dan penarikan drop setelah proses ekstraksi berlangsung hanya berdasarkan pada pengamatan secara manual sehingga menyebabkan volume drop yang dimasukkan kembali ke dalam syring menjadi tidak tepat.

#### 4.6.3 Penentuan limit deteksi

Untuk menentukan limit deteksi pada aplikasi SDME dalam analisis DEHP maka dilakukan perbandingan dan perhitungan terhadap kurva kalibrasi standar DEHP tanpa SDME dan kurva kalibrasi standar DEHP dengan SDME. Perbandingan hasil penentuan DEHP tanpa SDME dan dengan SDME ditampilkan dalam Tabel 4.9.

**Tabel 4.9** Data standar DEHP dengan dan tanpa ekstraksi tetes mikro

| Metode      | Persamaan Regresi     | Koefisien Korelasi (r) | Limit Deteksi |
|-------------|-----------------------|------------------------|---------------|
| Tanpa SDME  | $Y = 14396x + 5905,9$ | 0,9985                 | 0,303 ppm     |
| Dengan SDME | $Y = 238193x + 13562$ | 0,9998                 | 0,120 ppm     |

Limit deteksi menyatakan kadar analit terkecil dalam suatu sampel yang masih dapat diukur dengan menggunakan instrumen atau metode analisis dengan baik. Suatu metode analisis ataupun instrumen yang dapat dikatakan baik apabila dapat mengukur pada konsentrasi yang kecil. Sehingga semakin kecil analit yang dapat diukur maka semakin baik suatu metode analisis atau instrumen yang digunakan. Berdasarkan data dalam Tabel 4.9 nilai limit deteksi (LOD) untuk HPLC dalam analisis DEHP tanpa SDME sebesar 0,303 ppm sedangkan dengan menggunakan SDME sebesar 0,120 ppm. Maka dapat disimpulkan bahwa pada analisis DEHP dengan menggunakan teknik preparasi sampel SDME, limit deteksi pada HPLC menjadi lebih kecil.

#### 4.7 Penentuan Faktor Pemekatan (*Enrichment Factor*)

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh besarnya pemekatan secara teoritis pada SDME sebesar 200. Hal ini menunjukkan bahwa dalam proses SDME terjadi pemekatan secara teoritis 200 kali. Sehingga konsentrasi DEHP selama ekstraksi menjadi lebih pekat 200 kali dari konsentrasi awal. Padahal pemekatan yang sebenarnya terjadi sebesar 198,83 kali dari konsentrasi awal. Jadi dapat disimpulkan bahwa dalam proses SDME, pemekatan yang terjadi selama ekstraksi hampir sama dengan pemekatan yang seharusnya terjadi (pemekatan secara teori) sebesar 200 kali. Dengan kata lain pemekatan pada metode SDME

sangat baik karena pemekatan sesungguhnya ( $EF_{pr}$ ) mendekati pemekatan secara teori ( $EF_{th}$ ).

#### 4.8 *Sampling, Penyimpanan Sampel dan Preparasi Sampel*

Pada penelitian ini dilakukan aplikasi metode SDME yang telah dioptimasi untuk analisis DEHP pada sampel air di kawasan industri PT. PIER Pasuruan-Jawa Timur. Aplikasi metode SDME pada analisis sampel selain bertujuan untuk mengaplikasikan metode SDME tetapi juga untuk mengetahui pengaruh keberadaan matrik yang terdapat di lingkungan perairan selama proses analisis DEHP dengan SDME.

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah secara acak dimana populasi tidak dibagi menjadi sub populasi dan sampel diambil dari populasi tanpa ada persyaratan sifat populasi (Khopkar, 1990). Sampel yang digunakan diambil dari tiga titik dengan jumlah volume tiap titik sebanyak satu liter. Tiga titik tersebut antara lain :

sampel 1 berasal dari saluran air sungai sekitar kawasan PT. PIER

sampel 2 berasal dari *outlet* pengolahan air limbah (IPAL PT. PIER)

sampel 3 berasal dari *inlet* pengolahan air limbah (IPAL PT. PIER)

Sampel diambil dengan menggunakan botol kaca, kemudian disaring yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan partikel-partikel yang besar yang dapat menyumbat saluran dan kolom pada HPLC. Kemudian sampel diukur pHnya dengan indikator pH universal berada pada kisaran pH 6 selanjutnya sampel yang telah disaring disimpan pada suhu 10°C untuk mencegah terjadinya

biodegradasi. Analisis sampel dilakukan tidak lebih dari 7 hari setelah pengambilan sampel.

#### 4.9 Analisis Sampel

Analisis senyawa DEHP dalam sampel menggunakan prosedur yang sama dengan prosedur pembuatan kurva baku standar DEHP dengan SDME. Hanya saja pada analisis sampel, parameter yang dibuat tetap adalah volume sampel 20 mL, kecepatan pengadukan 1200 rpm, waktu ekstraksi 12 menit, pelarut organik yang digunakan adalah n-heksan dengan volume drop 3  $\mu$ L. Matrik yang digunakan seperti NaCl dan NaLS tidak ditambahkan karena dianggap kedua senyawa tersebut sudah berada di lingkungan sedangkan penambahan buffer pada pH 6 tidak dilakukan karena kondisi sampel awal berada pada pH sama dengan 6. Hasil analisis sampel disajikan dalam Tabel 4.10.

**Tabel 4.10** Data analisis sampel

| Sampel | Luas area rata-rata (satuan) |
|--------|------------------------------|
| 1      | Tidak terdeteksi             |
| 2      | 1554,7                       |
| 3      | 3904,0                       |

Untuk mengetahui besarnya konsentrasi DEHP dalam ketiga sampel tersebut dilakukan dengan cara mensubstitusikan luas area yang dihasilkan ke dalam persamaan kurva standar DEHP dengan SDME sebagai sumbu y, sehingga nilai x akan diketahui. Nilai x yang diketahui menunjukkan konsentrasi DEHP yang diperoleh. Berdasarkan hasil perhitungan maka dapat diketahui bahwa konsentrasi masing-masing sampel bernilai negatif yang menunjukkan bahwa

DEHP tidak terdeteksi dalam sampel walaupun ada sinyal pada kromatogram. Hal ini disebabkan beberapa hal diantaranya konsentrasi DEHP yang terlalu kecil sehingga instrumen dan metode analisis yang digunakan tidak mampu mendeteksinya atau kemungkinan senyawa DEHP memang tidak terdapat dalam sampel sehingga tidak terdeteksi.

#### 4.10 *Spiking*

*Spiking* merupakan salah satu metode yang dilakukan dengan cara menambahkan larutan standar dengan konsentrasi yang sudah diketahui ke dalam sampel. Tujuan *spiking* adalah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh matrik yang ada di dalam sampel terhadap suatu metode analisis. Hasil analisis ketiga sampel melalui proses *spiking* disajikan dalam Tabel 4.11.

**Tabel 4.11** Data *spiking* sampel rata-rata

| Sampel | Luas area rata-rata (satuan) |          |          |
|--------|------------------------------|----------|----------|
|        | 1 ppm                        | 3 ppm    | 5 ppm    |
| 1      | 176182,7                     | 431599,7 | 638170,3 |
| 2      | 125854,0                     | 337748,7 | 542818,0 |
| 3      | 105093,3                     | 215999,7 | 347546,7 |

Berdasarkan hasil *spiking* masing-masing sampel tersebut kemudian dihitung nilai persen *recovery*. Jika persen *recovery* mendekati nilai 100% maka dapat dikatakan bahwa matrik yang berada dalam lingkungan tidak mengganggu metode analisis (tidak berpengaruh) begitu pula sebaliknya. Hasil masing-masing perhitungan persen *recovery* sampel dapat dilihat pada Tabel 4.12



**Tabel 4.12** Data persen *recovery* sampel

| Sampel | <i>Recovery (%)</i> |       |       |           |
|--------|---------------------|-------|-------|-----------|
|        | 1 ppm               | 3 ppm | 5 ppm | Rata-rata |
| 1      | 70,13               | 60,09 | 53,87 | 61,36     |
| 2      | 48,42               | 46,60 | 45,65 | 46,89     |
| 3      | 39,47               | 29,10 | 28,81 | 32,46     |

Data tersebut di atas menjelaskan bahwa dari akurasi metode SDME setiap pengukuran konsentrasi masing-masing sampel sangat berbeda bila dibandingkan dengan akurasi metode SDME untuk standar DEHP. Hal ini membuktikan bahwa matrik yang ada sangat mengganggu proses SDME. Pada sampel 1 pada saat ekstraksi, kondisi drop sangat stabil serta mudah untuk ditarik kembali ke dalam syring. Untuk sampel 2 dan 3 kesulitan selama ekstraksi semakin bertambah, drop tidak stabil bahkan kadang-kadang terlepas dari syring serta mudah jatuh. Setelah proses ekstraksi, penarikan drop ke dalam syring sangat sulit.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. kondisi optimum pada aplikasi SDME dalam analisis DEHP adalah pelarut organik n-heksan, waktu ekstraksi 12 menit dan pH larutan sama dengan 6
2. metode SDME yang telah dioptimasi dapat digunakan untuk analisis DEHP dalam sampel air dari kawasan limbah industri dengan akurasi rata-rata sebesar 46,90%

#### **5.2 Saran**

1. Perlu digunakan instrumen yang lebih sensitif dalam analisis senyawa DEHP dengan metode SDME
2. Perlu dilakukan otomatisasi dalam proses ekstraksi agar presisi metode SDME dapat ditingkatkan
3. Pengaruh matrik perlu dioptimasi dan ditambah dengan matrik yang lain
4. Rekayasa penentuan luas permukaan puncak sinyal dari HPLC

## DAFTAR PUSTAKA

- Aignasse,M.F.,Prognon,P.,Stachowicz,M.,Gheyouche,R., and Pradeau,D.,1995,**A New Simple and Rapid HPLC Method For Determination of DEHP in PVC Packaging and Releasing Studies**,*International Journal of Pharmaceutics*,Vol 113 : 241-246
- Battle,R.,and Nerin,C.,2004,**Aplication of Single Drop Microextraction To Determination of Dialkyl Phtalate Esters in Food simultans**,*Journal of Chromatography A*,Vol 1045 : 29-35
- Bodzek,M., Dudziak,M., and Luks-Betlej,K., 2003, **Application of Membrane Techniques To Water Purification Removal of Phthalates**,*Desalination*,Vol 162 : 121-128
- Buszewski,B., and Ligor,T.,2002,*Single Drop Extraction Versus Solid Phase Microextraction For The Analysis of VOC's in Water*,Nicholas Copernicus University,Torun,Poland
- Connel,D.W., and Miller,G.J., 1983, *Kimia Dan Ekotoksikologi Pencemaran*, Penerjemah Yanti K., Sahati,Universitas Indonesia Press,Jakarta
- Day,R.A., and Underwood, A.L.,1998,*Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi Keenam,Erlangga,Jakarta
- DiBartolomeis,M.,1997,**Public Health Goal for Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) in Drinking Water**,California Environmental Protection Agency,California
- He.Y., and Lee,H.K.,1997,**Liquid Phase Microextraction in a Single Drop of Organic Solvent by Using a Conventional Microsyringe**,*Analytical Chemistry*,Vol 69 : 22
- Koch,H.M.,Drexler,H., and Angerer,J.,2002,**An Estimation of The Daily Intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and Other Phthalates in The General Population**,*Int.J.Hyg.Environ.Health*, Vol 206 : 77-83
- Koch,H.M.,Rossbach,B., Drexler,H., and Angerer,J.,2003,**Internal Exposure of The General Population to DEHP and Other Phthalates-Determination of Secondary and Primary Phthalate Monoester Metabolites in Urine**,*Environmental Research*,Vol 93 : 177-185

- Li,N.,Deng,C.,Yao,N.,Shen,X., and Zhang,X.,2005,**Determination of Acetone, Hexanal and Heptanal in Blood samples by Derivatization with Pentafluorobenzyl Hydroxylamine Followed by Headspace Single-Drop Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry**, *Analytica Chimica Acta*,Vol 540 : 317-323
- Liu,H., and Dagupta,P.K.,1996,**Analytical Chemistry in A Drop Solvent Extraction in A Microdrop**,*Anal. Chem.*,Vol 68 : 1817
- Miller,J.C., and Miller,J.N.,1988,*Statistic for Analytical Chemistry*,Second Edition,John Wiley and Sons,New York
- Mulja,M., dan Syahrani,A.,1991, *KCKT, Teori Dasar, Instrumentasi dan Aplikasi*, Media Grafika,Surabaya,Halaman 1-52
- Mulja,M., dan Suharman,1995,*Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya,Halaman 237-266
- Niino,T., and Ishibashi,T.,2002,**Simultaneous Determination of Phthalate di- and monoesters in Poly(vinyl chloride) products and Human Saliva by Gas Chromatography-Mass Spectrometry**, *Journal of Chromatography B*, Vol 780 : 35-44
- Nugroho,M.,2001,**Studi Penentuan Laju Biodegradasi Limbah Deterjen di Kalimas Surabaya**, *Skripsi*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Airlangga
- Pikir,S.,1989,*Kimia Dasar*,Airlangga University Press,Surabaya
- Preuss,R., Koch,H.M., and Angerer,J., 2004, **Biological Monitoring of The Five Major Metabolites of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in Human Urine Using Column-Switching Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry**, *Journal of Chromatography B*, Vol 816 : 269-280
- Psillakis,E., and Kalogerakis,N., 2002, **Developments in Single-Drop Microextraction**, *Trend in Analytical Chemistry*,Vol 21 ; 53-63
- Sablayrolles,C., Vignoles,M.M., Benanou,D., Patria,L., and Treilhou,M., 2005, **Development and Validation of Methods For The Trace Determination of Phthalates in Sludge and vegetables**,*Journal of Chromatography A*,Vol 1072 : 233-242

- Skoog,D.A., West,D.M., and Holler,F.J., 1992, *Fundamental of Analytical Chemistry*, sixth edition, Saunders College publishing, Philadelphia, page 712-746
- Skoog,D.A., and Leary,J.J.,1992,HPLC *Principle of Instrumental Analysis*,4<sup>th</sup> edition,Saunders College publishing,Philadelphia, page 748-833
- Snyder,L.R., and Kirkland,J.J., 1979, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, second edition,Wiley Interscience,New York,page 16-82
- Supriyanto,G.,2005,*Chromatomembrane Methode Applied in Pharmaceuticals Analysis*, Logos Verlag,Berlin
- Tang, S.L., and Lee,T.H.,2002,Treatment of Mixed (Fresh and Salt) Wastewater, <http://www.waternetonline.ihe.nl/aboutWN/pdf/Palamuleni&al.pdf>, Tanggal akses :11 Januari 2006
- Williams,M.D.,Adams,W.J.,Parkerton,T.F.,Biddinger,G.R., and Robillard,K.A., 1995,**Sediment Sorption Coefficient Measurements for four phthalate esters:Experimental Results and Model Theory**,*Environ Toxicol.Chem*,14 (9) : 1477-1486



## Lampiran 1

### Perhitungan pembuatan larutan

#### 1. Pembuatan Larutan Induk DEHP 500 ppm

DEHP yang tersedia 99% (b/b) :

$$99\% \left(\frac{b}{b}\right) \rightarrow \text{ppm} \left(\frac{mg}{L}\right)$$

$$\frac{99g}{100g} \times 0,9861 \frac{g}{cm^3} \times 1000(mg) \times 1000(L) = 976239 \frac{mg}{L}$$

Dalam 99% (b/b) DEHP mengandung 976239 ppm, maka untuk membuat DEHP 500 ppm diperlukan pengenceran, dengan perhitungan :

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \times 976239 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0512 \text{ mL} \approx 51,2 \mu\text{L}$$

#### 2. Pembuatan Larutan Induk NaLS dan NaCl 500 ppm

$$500 \text{ ppm} \rightarrow 500 \frac{mg}{L}$$

$$\frac{500mg}{L} = \frac{500mg}{1000ml} = \frac{125mg}{250ml}$$

#### 3. Pembuatan Larutan Standar DEHP yang mengandung matrik

Larutan standar DEHP berbagai variasi konsentrasi dibuat dari pengenceran larutan induk, mengandung NaCl dan NaLS. Kadar NaCl dalam larutan 5 ppm sedangkan kadar NaLS dalam larutan 0,5 ppm. NaCl dan NaLS yang dibuat diperoleh dari pengenceran larutan induk.

Pembuatan NaCl 5 ppm dalam 100 mL larutan standar DEHP :

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Pembuatan NaLS 0,5 ppm dalam 100 mL larutan standar DEHP :

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 0,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL} \approx 100 \mu\text{L}$$

| Konsentrasi standar DEHP | Volume DEHP 500 ppm | Volume metanol |
|--------------------------|---------------------|----------------|
| 1 ppm                    | 0,20 mL             | 0,80 mL        |
| 2 ppm                    | 0,40 mL             | 0,60 mL        |
| 3 ppm                    | 0,60 mL             | 0,40 mL        |
| 4 ppm                    | 0,80 mL             | 0,20 mL        |
| 5 ppm                    | 1,00 mL             | 0 mL           |

#### 4. Pembuatan Larutan Buffer

- a. Pembuatan natrium asetat trihidrat ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 2 M

Mr  $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O} = 136$

$$M = \frac{m}{Mr \cdot V}$$

$$m = M \times Mr \times V$$

$$m = 2 \times 136 \times 100 \text{ mL} = 27200 \text{ g} = 27,200 \text{ mg}$$

- b. Pembuatan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 2 M

Mr  $\text{CH}_3\text{COOH} = 60$  sedangkan massa jenisnya =  $1,049 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$

$$M = \frac{m}{Mr \cdot V}$$

$$m = M \times Mr \times V$$

$$m = 2 \times 60 \times 100 \text{ mL} = 12000 \text{ g} = 12,000 \text{ mg}$$

$$\rho = \frac{m}{v} \rightarrow v = \frac{m}{\rho} \Rightarrow v = \frac{12}{1,049} = 11,439 \text{ mL}$$

- c. Pembuatan natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) 2 M

Mr  $\text{NaOH} = 40$

$$M = \frac{m}{Mr \cdot V}$$

$$m = M \times Mr \times V$$

$$m = 2 \times 40 \times 100 \text{ mL} = 8000 \text{ g} = 8,000 \text{ mg}$$

- d. Pembuatan natrium dihidrogen fosfat dihidrat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 2 M

Mr  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O} = 157$

$$M = \frac{m}{Mr \cdot V}$$

$$m = M \times Mr \times V$$

$$m = 2 \times 157 \times 100 \text{ mL} = 31400 \text{ g} = 31,400 \text{ mg}$$

**5. Pembuatan Larutan Buffer**

|                              |   |           |            |
|------------------------------|---|-----------|------------|
| CH <sub>3</sub> COOH (2M) mL | CH <sub>3</sub> COONa (2 M) mL                              | pH hitung | pH terukur |
| 8,0                          | 2,0   | 4,15      | 4,00       |
| 3,0                          | 7,0   | 5,12      | 5,00       |
| NaOH (2M) mL                 | NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O (2M) mL | pH hitung | pH terukur |
| 9,5                          | 30  | 6,30      | 6,00       |
| 45                           | 25  | 7,05      | 7,00       |
| 45                           | 2,5   | 8,06      | 8,00       |

**6. Pembuatan Larutan Standar Hasil Optimasi**

| Std. DEHP (ppm) | Volume metanol (mL) | Volume DEHP 500 ppm | pH     |         |
|-----------------|---------------------|---------------------|--------|---------|
|                 |                     |                     | buffer | Larutan |
| 1               | 0,80                | 0,20                | 6,00   | 6,01    |
| 2               | 0,60                | 0,40                | 6,00   | 6,01    |
| 3               | 0,40                | 0,60                | 6,00   | 6,01    |
| 4               | 0,20                | 0,80                | 6,00   | 6,01    |
| 5               | 0,00                | 1,00                | 6,00   | 6,01    |

## Lampiran 2

### Data pembuatan kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro

| Replikasi | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |          |          |          |          |
|-----------|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|           | 1                              | 2        | 3        | 4        | 5        |
| 1         | 20915,0                        | 33770,0  | 45568,0  | 65194,0  | 75639,0  |
| 2         | 22233,0                        | 33315,0  | 47868,0  | 63872,0  | 79983,0  |
| 3         | 21316,0                        | 35315,0  | 48059,0  | 63799,0  | 79543,0  |
| $\Sigma$  | 64464,0                        | 100400,0 | 141495,0 | 192865,0 | 235165,0 |
| $n$       | 3                              | 3        | 3        | 3        | 3        |
| $\bar{x}$ | 21488,0                        | 34133,3  | 47165,0  | 64288,3  | 78388,3  |
| STDV      | 675,6                          | 262,7    | 1386,3   | 785,2    | 2391,1   |
| %KV       | 3,14                           | 3,07     | 2,94     | 1,22     | 3,05     |



## Lampiran 3

## Data penentuan LOD instrumen dan metode analisis DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro

| Parameter           | Konsentrasi |          |           |          |          |
|---------------------|-------------|----------|-----------|----------|----------|
|                     | 1 ppm       | 2 ppm    | 3 ppm     | 4 ppm    | 5 ppm    |
| $y_i$               | 21488,0     | 34133,3  | 47165,0   | 64288,3  | 78388,3  |
| $\hat{y}$           | 20301,9     | 34697,9  | 49093,9   | 63489,9  | 77885,9  |
| $(y_i - \hat{y})^2$ | 1406833,2   | 318773,2 | 3720655,2 | 637442,6 | 252405,8 |

$$\sum (y_i - \hat{y})^2 = 6336110$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{6336110}{5-2}} = 1453,3$$

maka untuk menghitung nilai  $Y_{LOD}$  dengan persamaan :

$$\begin{aligned} Y_{LOD} &= Y_{BL} + 3 \cdot S_{BL} \\ &= 5905,9 + (3 \times 1453,3) \\ &= 10265,8 \end{aligned}$$

Nilai  $Y_{BL}$  diperoleh dari intersep persamaan regresi dan  $S_{BL}$  sama dengan  $S_{y/x}$ . Kemudian disubstitusikan ke persamaan regresi kurva standar DEHP tanpa ekstraksi tetes mikro untuk menghitung limit deteksi instrumen :

$$\begin{aligned} Y &= 14396x + 5905,9 \\ 10265,8 &= 14396x + 5905,9 \\ x &= 0,303 \text{ ppm} \end{aligned}$$



## Lampiran 4

**Data optimasi jenis pelarut dan waktu ekstraksi**  
**Pelarut karbontetraklorida (CCl<sub>4</sub>)**

| Replikasi | Variasi Waktu Ekstraksi (menit) |          |          |           |          |
|-----------|---------------------------------|----------|----------|-----------|----------|
|           | 4                               | 8        | 12       | 16        | 20       |
| 1         | 176768,0                        | 144520,0 | 220723,0 | 430754,0  | 314837,0 |
| 2         | 227012,0                        | 317286,0 | 258023,0 | 343569,0  | 327714,0 |
| 3         | 174762,0                        | 174720,0 | 219682,0 | 469460,0  | 279765,0 |
| $\Sigma$  | 578542,0                        | 636526,0 | 698428,0 | 1243783,0 | 922316,0 |
| $n$       | 3                               | 3        | 3        | 3         | 3        |
| $\bar{x}$ | 192847,0                        | 212175,3 | 232809,3 | 414594,3  | 307438,7 |
| STDV      | 29604,5                         | 92272,4  | 21841,9  | 64482,5   | 24815,9  |
| %KV       | 15,35                           | 43,49    | 8,88     | 15,55     | 8,07     |

## Pelarut toluen

| Replikasi | Variasi Waktu Ekstraksi (menit) |          |          |          |          |
|-----------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|           | 4                               | 8        | 12       | 16       | 20       |
| 1         | 130926,0                        | 185079,0 | 155776,0 | 272486,0 | 160571,0 |
| 2         | 150510,0                        | 192435,0 | 221943,0 | 269038,0 | 183261,0 |
| 3         | 146286,0                        | 175872,0 | 281267,0 | 294442,0 | 171255,0 |
| $\Sigma$  | 427722,0                        | 553386,0 | 658986,0 | 835966,0 | 515087,0 |
| $n$       | 3                               | 3        | 3        | 3        | 3        |
| $\bar{x}$ | 142574,0                        | 184462,0 | 219662,0 | 278655,3 | 171695,9 |
| STDV      | 10306,2                         | 829,7    | 62776,6  | 13779,9  | 11351,4  |
| %KV       | 7,23                            | 4,50     | 28,58    | 4,94     | 6,61     |

## Pelarut n-heksan

| Replikasi | Variasi Waktu Ekstraksi (menit) |          |          |          |          |
|-----------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|           | 4                               | 8        | 12       | 16       | 20       |
| 1         | 269832,0                        | 337647,0 | 486434,0 | 315289,0 | 142446,0 |
| 2         | 254728,0                        | 316416,0 | 401510,0 | 111701,0 | 88704,0  |
| 3         | 259857,0                        | 330794,0 | 408994,0 | 105446,0 | 89100,0  |
| $\Sigma$  | 784417,0                        | 984857,0 | 887944,0 | 532436,0 | 320250,0 |
| $n$       | 3                               | 3        | 3        | 3        | 3        |
| $\bar{x}$ | 261472,3                        | 328285,7 | 432312,7 | 177478,7 | 106750,0 |
| STDV      | 7680,5                          | 10835,5  | 47019,6  | 119388,2 | 30914,3  |
| %KV       | 2,94                            | 3,30     | 10,88    | 16,52    | 28,96    |

**Lampiran 5****Data optimasi pH pada ekstraksi tetes mikro**

| Replikasi | Variasi Penambahan pH |           |           |           |           |
|-----------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           | 4                     | 5         | 6         | 7         | 8         |
| 1         | 363153,0              | 543163,0  | 674287,0  | 449527,0  | 397303,0  |
| 2         | 335172,0              | 579234,0  | 665617,0  | 534877,0  | 448384,0  |
| 3         | 470374,0              | 646058,0  | 630272,0  | 532710,0  | 373333,0  |
| $\Sigma$  | 1168699,0             | 1768455,0 | 1970176,0 | 1517114,0 | 1219020,0 |
| $n$       | 3                     | 3         | 3         | 3         | 3         |
| $\bar{x}$ | 389566,3              | 589485,0  | 656725,3  | 505704,7  | 406340,0  |
| STDV      | 71366,3               | 52207,8   | 23315,8   | 48663,4   | 38332,9   |
| %KV       | 18,32                 | 8,86      | 3,55      | 9,62      | 9,43      |



**Lampiran 6****Data pembuatan kurva standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro**

| Replikasi | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |           |           |           |           |
|-----------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           | 1                              | 2         | 3         | 4         | 5         |
| 1         | 221132,0                       | 566862,0  | 674287,0  | 988788,0  | 1122652,0 |
| 2         | 232856,0                       | 436416,0  | 685928,0  | 929662,0  | 1304436,0 |
| 3         | 264874,0                       | 457046,0  | 775924,0  | 873348,0  | 1104436,0 |
| $\Sigma$  | 718862,0                       | 1460324,0 | 2136139,0 | 2791798,0 | 3531524,0 |
| $n$       | 3                              | 3         | 3         | 3         | 3         |
| $\bar{x}$ | 239620,7                       | 486774,0  | 712046,3  | 930599,0  | 1177174,7 |
| STDV      | 22642,0                        | 70120,5   | 55625,0   | 57725,7   | 110587,3  |
| %KV       | 9,45                           | 14,40     | 7,81      | 6,20      | 9,39      |
| %R        | 97,48                          | 102,03    | 100,40    | 98,86     | 100,36    |

Kondisi ekstraksi :

Volume standar DEHP (fasa air) = 20 mL

Pelarut organik n-heksan, waktu ekstraksi 12 menit, volume drop 3  $\mu$ L, kecepatan pengadukan 1200 rpm, kondisi pH larutan 6, konsentrasi NaLS 0,5 ppm dan NaCl 5 ppm.

## Lampiran 7

## Data penentuan LOD instrumen dan metode analisis DEHP dengan ekstraksi tetes mikro

| Parameter           | Konsentrasi |            |           |             |            |
|---------------------|-------------|------------|-----------|-------------|------------|
|                     | 1 ppm       | 2 ppm      | 3 ppm     | 4 ppm       | 5 ppm      |
| $y_i$               | 245455,0    | 477348,0   | 709241,0  | 941134,0    | 1173027,0  |
| $\hat{y}$           | 239620,7    | 486774,0   | 712046,3  | 930599,0    | 1177174,7  |
| $(y_i - \hat{y})^2$ | 34039056,5  | 88862672,9 | 7869708,1 | 110979904,1 | 17203415,3 |

$$\sum (y_i - \hat{y})^2 = 258954756,9$$

$$S_{v_x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{258954756,9}{5-2}} = 9290,8$$

maka untuk menghitung nilai  $Y_{LOD}$  dengan persamaan :

$$\begin{aligned} Y_{LOD} &= Y_{BL} + 3 \cdot S_{BL} \\ &= 13562 + (3 \times 9290,8) \\ &= 41434,4 \end{aligned}$$

Nilai  $Y_{BL}$  diperoleh dari intersep persamaan regresi dan  $S_{BL}$  sama dengan  $S_{v_x}$ . Kemudian disubstitusikan ke persamaan regresi kurva standar DEHP dengan ekstraksi tetes mikro untuk menghitung limit deteksi instrumen :

$$\begin{aligned} Y &= 13562 + 231893x \\ 41434,4 &= 13562 + 231893x \\ x &= 0,120 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Jadi instrumen dapat menganalisis DEHP dengan kadar terkecil 0,120 ppm dengan ekstraksi tetes mikro.

**Lampiran 8****Perhitungan persen *recovery* dan faktor pemekatan**Perhitungan %*Recovery* larutan standar hasil optimasi

| Standar DEHP 1 ppm  | Standar DEHP 3 ppm   | Standar DEHP 5 ppm   |
|---|--|--|
| $Y = 13562 + 231893x$<br>$239620,7 = 13562 + 231893x$<br>$x = 0,9748$ ppm | $Y = 13562 + 231893x$<br>$712046,3 = 13562 + 231893x$<br>$x = 3,012$ ppm | $Y = 13562 + 231893x$<br>$1177174,67 = 13562 + 231893x$<br>$x = 5,018$ ppm |
| $\%R = \frac{0,9748}{1} \times 100\%$<br>$= 97,48\%$                      | $\%R = \frac{3,012}{3} \times 100\%$<br>$= 100,40\%$                     | $\%R = \frac{5,018}{5} \times 100\%$<br>$= 100,36\%$                       |

$$\% Recovery \text{ rata-rata} = \frac{97,48\% + 100,40\% + 100,36\%}{3} = 99,41\%$$

Faktor pemekatan yang terjadi selama ekstraksi secara teori :

$$E_f = \frac{V_1}{V_2} = \frac{20mL}{100\mu L} = 200 \text{ kali} ; \text{ dengan } V_1 = \text{volume awal} ; V_2 = \text{volume akhir}$$

Faktor pemekatan sebenarnya selama ekstraksi :

$$\begin{aligned} E_{fr} &= E_f \times \%R \\ &= 200 \times 0,9941 \\ &= 198,82 \text{ kali} \end{aligned}$$



## Lampiran 9

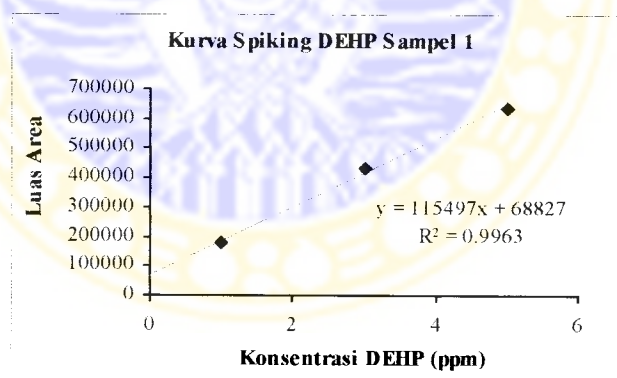
### Data penentuan DEHP dalam sampel

Analisis DEHP dalam sampel air dari kawasan IPAL PT PIER-Pasuruan

| Jenis sampel   | pH | Sifat fisik sampel     | Kec. Pengadukan (rpm) | Luas area rata-rata (satuan) |
|----------------|----|------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Air sungai (1) | 7  | Tidak berwarna, jernih | 1200                  | Tidak terdeteksi             |
| Outlet (2)     | 6  | Agak keruh             | 1200                  | 1554,7                       |
| Inlet (3)      | 6  | Keruh, kental          | 900                   | 3904,0                       |

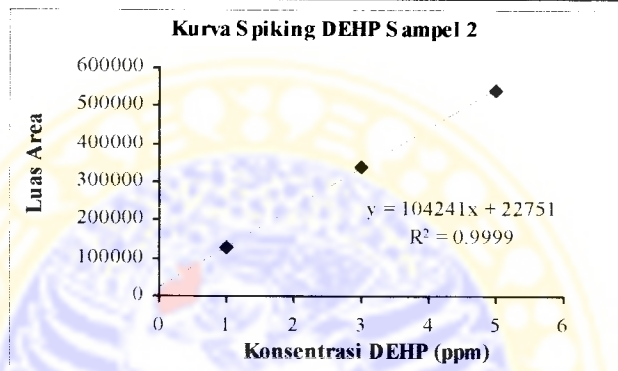
### Spiking Sampel 1

| Replikasi | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |           |           |
|-----------|--------------------------------|-----------|-----------|
|           | 1                              | 3         | 5         |
| 1         | 180958,0                       | 428552,0  | 668347,0  |
| 2         | 166347,0                       | 417675,0  | 589376,0  |
| 3         | 181243,0                       | 448572,0  | 656788,0  |
| $\Sigma$  | 528548,0                       | 1294799,0 | 1914511,0 |
| $n$       | 3                              | 3         | 3         |
| $\bar{x}$ | 176182,7                       | 431599,7  | 638170,3  |
| STDV      | 8519,1                         | 15672,3   | 42650,5   |
| %KV       | 4,84                           | 3,63      | 6,68      |



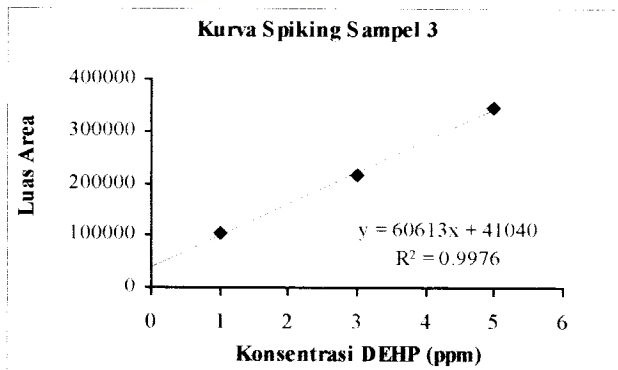
Sampel 2

| Replikasi | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |           |           |
|-----------|--------------------------------|-----------|-----------|
|           | 1                              | 3         | 5         |
| 1         | 132608,0                       | 289304,0  | 561762,0  |
| 2         | 123048,0                       | 355232,0  | 575052,0  |
| 3         | 121906,0                       | 368710,0  | 491640,0  |
| $\Sigma$  | 377562,0                       | 1013246,0 | 1628454,0 |
| $n$       | 3                              | 3         | 3         |
| $\bar{x}$ | 125854,0                       | 337748,7  | 542818,0  |
| STDV      | 5876,9                         | 42492,1   | 44816,8   |
| %KV       | 4,67                           | 12,58     | 8,26      |



Sampel 3

| Replikasi | Konsentrasi Standar DEHP (ppm) |          |           |
|-----------|--------------------------------|----------|-----------|
|           | 1                              | 3        | 5         |
| 1         | 99875,0                        | 188488,0 | 329322,0  |
| 2         | 104950,0                       | 229862,0 | 378910,0  |
| 3         | 110455,0                       | 229649,0 | 334408,0  |
| $\Sigma$  | 315280,0                       | 647999,0 | 1042640,0 |
| $n$       | 3                              | 3        | 3         |
| $\bar{x}$ | 105093,3                       | 215999,7 | 347546,7  |
| STDV      | 5291,5                         | 23826,0  | 27280,2   |
| %KV       | 42,35 %                        | 11,03 %  | 7,85 %    |



## Lampiran 10

Data penentuan persen *recovery* DEHP dalam sampelPerhitungan % *recovery* Sampel 1

| Spiking standar DEHP 1 ppm           | Spiking standar DEHP 3 ppm           | Spiking standar DEHP 5 ppm           |
|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                |
| $176182,7 = 13562 + 231893x$         | $431599,7 = 13562 + 231893x$         | $638170,3 = 13562 + 231893x$         |
| $x = 0,713 \text{ ppm}$              | $x = 1,800 \text{ ppm}$              | $x = 2,690 \text{ ppm}$              |
| $\%R = \frac{0,713}{1} \times 100\%$ | $\%R = \frac{1,800}{3} \times 100\%$ | $\%R = \frac{2,690}{5} \times 100\%$ |
| $= 71,30\%$                          | $= 60,09\%$                          | $= 53,87\%$                          |

$$\% \text{ Recovery rata-rata sampel 1} = \frac{71,3\% + 60,09\% + 53,87\%}{3} = 61,36\%$$

Perhitungan % *recovery* Sampel 2

| Spiking standar DEHP 1 ppm           | Spiking standar DEHP 3 ppm           | Spiking standar DEHP 5 ppm           |
|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                |
| $125854 = 13562 + 231893x$           | $337748,7 = 13562 + 231893x$         | $542818 = 13562 + 231893x$           |
| $x = 0,4842 \text{ ppm}$             | $x = 1,398 \text{ ppm}$              | $x = 2,282 \text{ ppm}$              |
| $\%R = \frac{0,484}{1} \times 100\%$ | $\%R = \frac{1,398}{3} \times 100\%$ | $\%R = \frac{2,282}{5} \times 100\%$ |
| $= 48,42\%$                          | $= 46,60\%$                          | $= 45,64\%$                          |

$$\% \text{ Recovery rata-rata sampel 2} = \frac{48,42\% + 46,60\% + 45,64\%}{3} = 46,89\%$$

Perhitungan % *recovery* Sampel 3

| Spiking standar DEHP 1 ppm           | Spiking standar DEHP 3 ppm           | Spiking standar DEHP 5 ppm           |
|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                | $Y = 13562 + 231893x$                |
| $105093,3 = 13562 + 231893x$         | $215999,7 = 13562 + 231893x$         | $347546,7 = 13562 + 231893x$         |
| $x = 0,395 \text{ ppm}$              | $x = 0,873 \text{ ppm}$              | $x = 1,441 \text{ ppm}$              |
| $\%R = \frac{0,395}{1} \times 100\%$ | $\%R = \frac{0,873}{3} \times 100\%$ | $\%R = \frac{1,441}{5} \times 100\%$ |
| $= 39,50\%$                          | $= 29,10\%$                          | $= 28,81\%$                          |

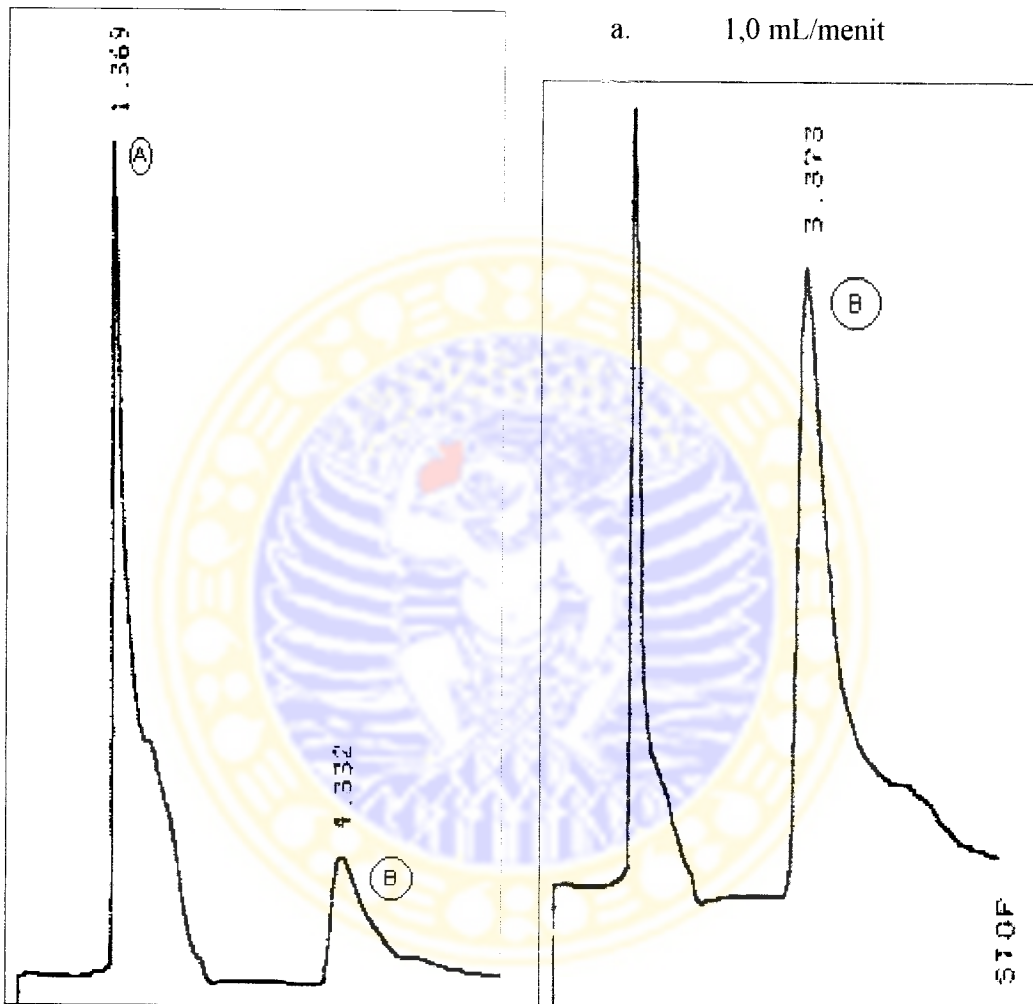
$$\% \text{ Recovery rata-rata sampel 3} = \frac{39,50\% + 29,10\% + 28,81\%}{3} = 32,47\%$$

## Lampiran 11

### Hasil kromatogram HPLC

1. Panjang gelombang 270 nm

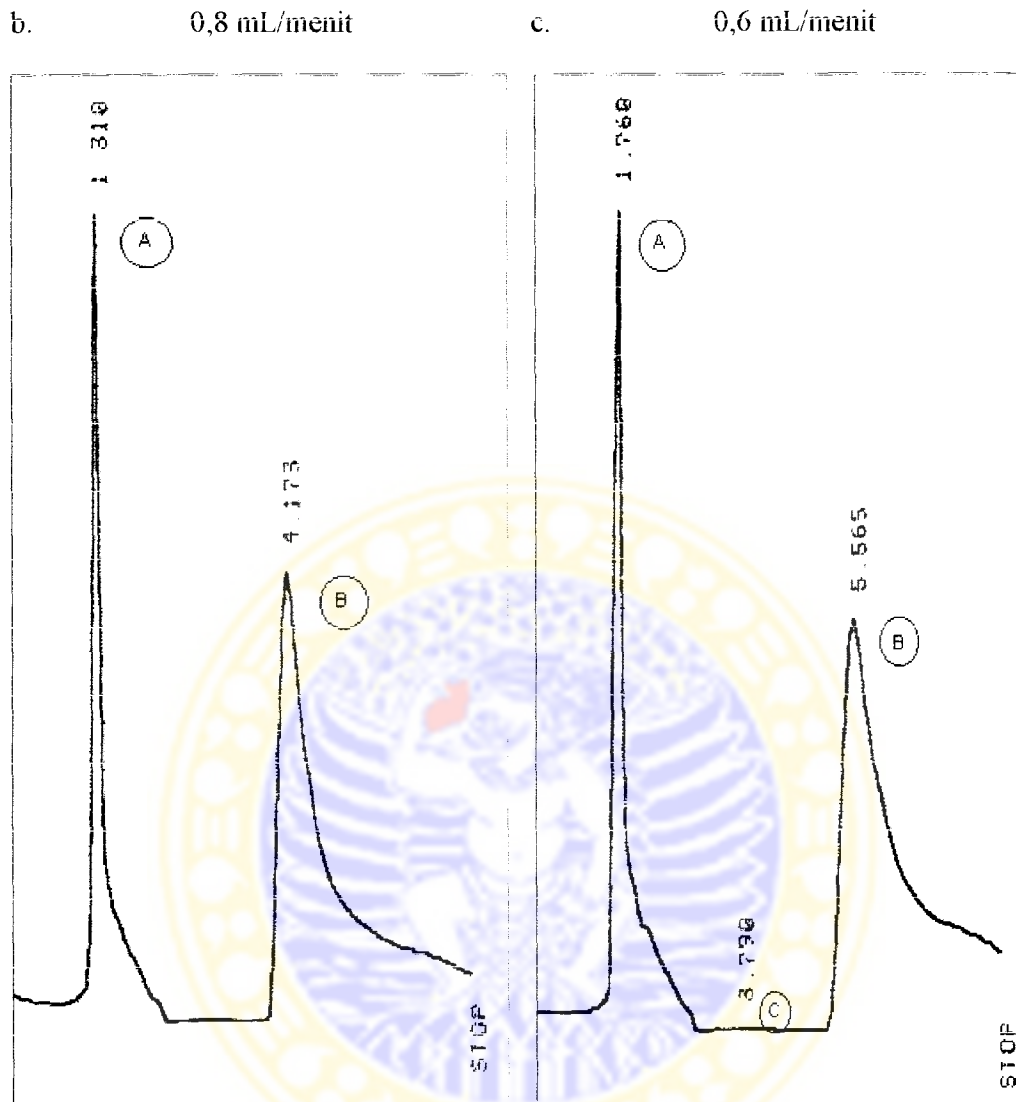
2. *Flow* eluen



**Keterangan :**

**A = Metanol (1,369)**

**B = DEHP (4,332 dan 3,373)**



**Keterangan :**

**A = Metanol (1,310 dan 1,760)**

**B = DEHP (4,173 dan 5,565)**

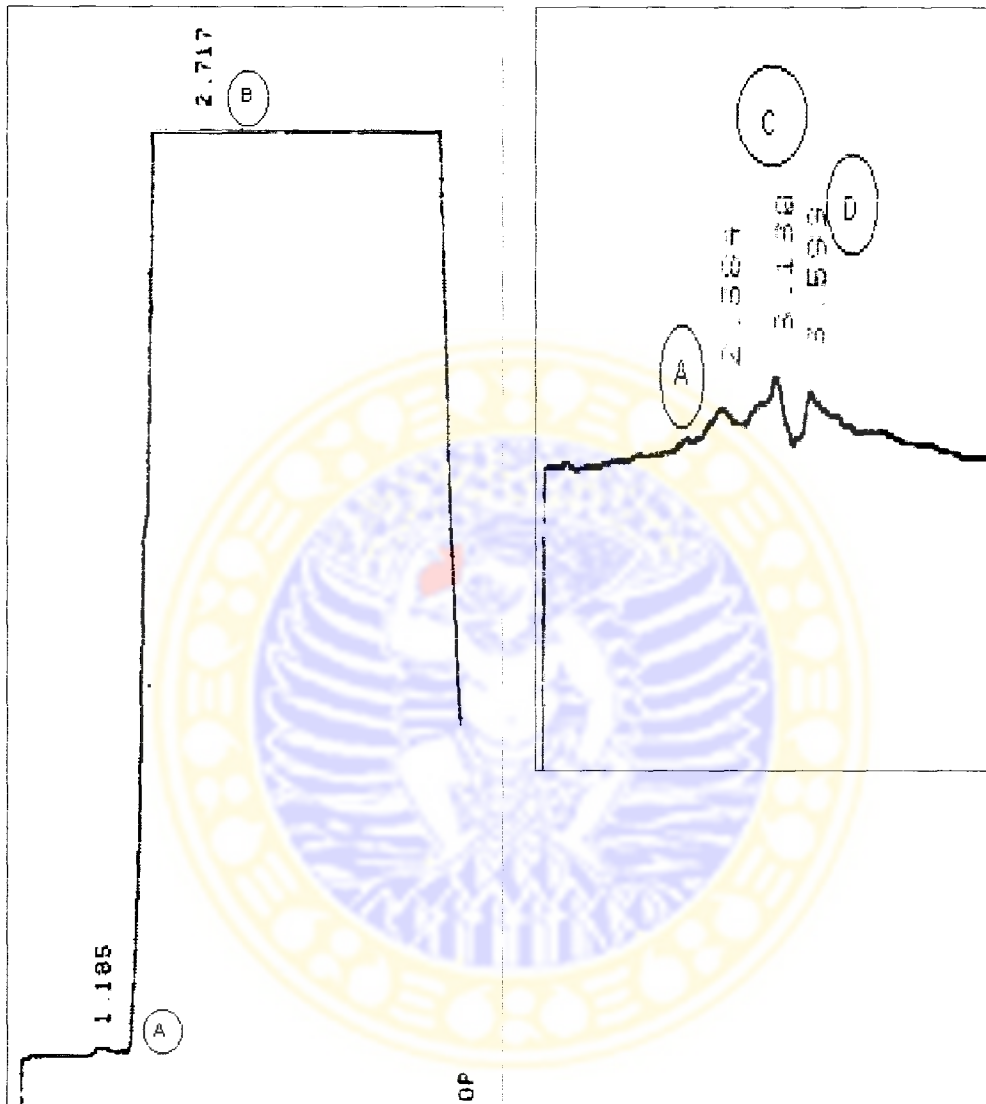
**C = Asetonitril (3,790)**



3. Pelarut organik

a. Toluena

b. n-heksana



**Keterangan :**

**A = Metanol (1,185 dan 2,384)**

**B = Toluena (2,717)**

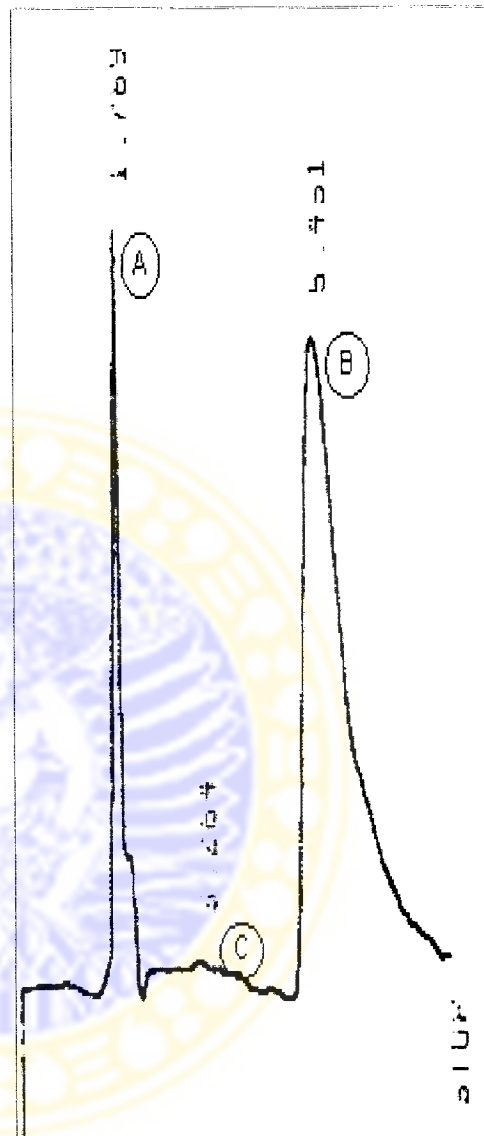
**C = Asetonitril (3,130)**

**D = Heksana (3,599)**

c.  $\text{CCl}_4$



4. Optimasi pH



**Keterangan :**

**A = Metanol (2,399 dan 1,769)**

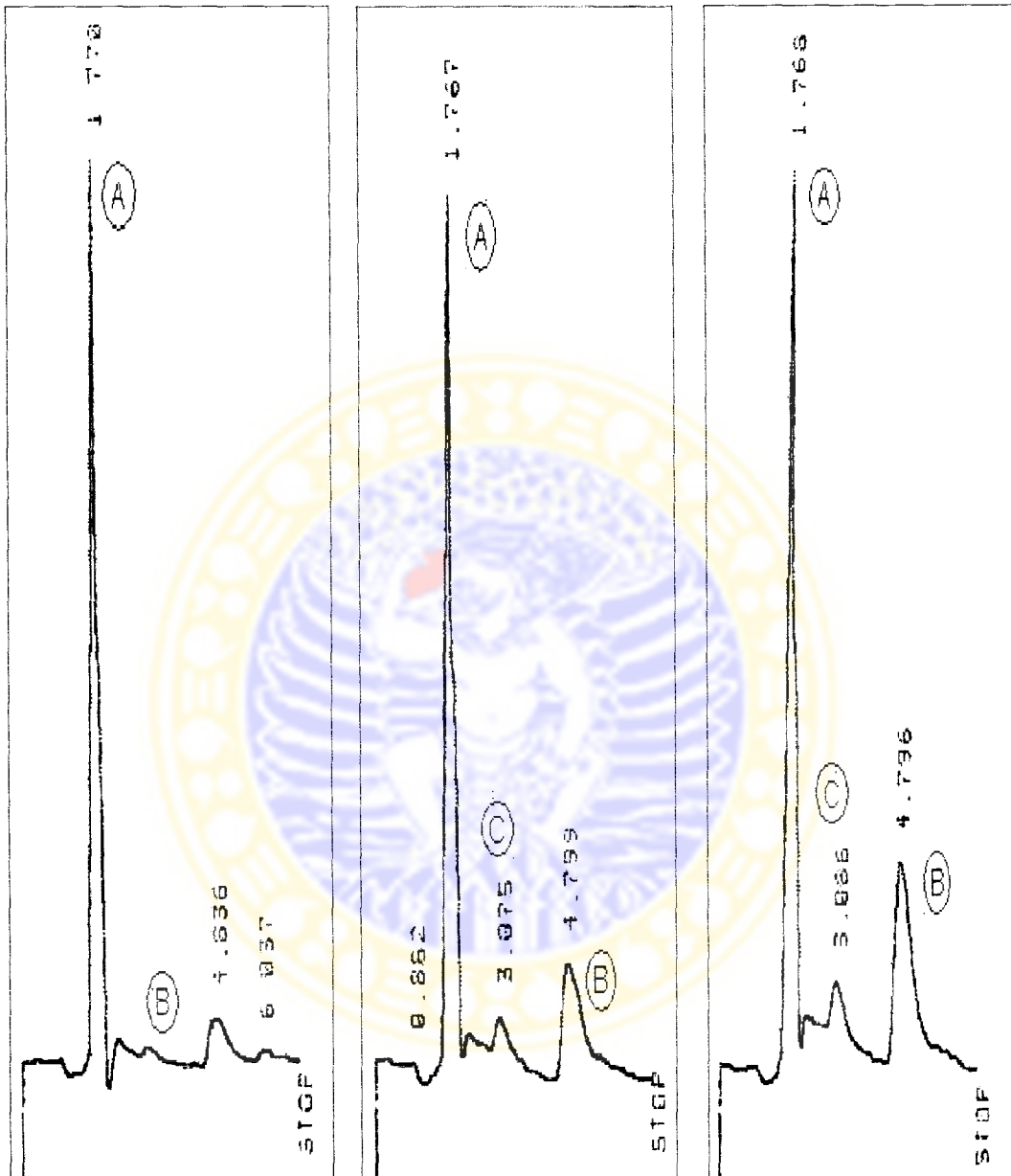
**B = DEHP (5,431)**

**C = Asetonitril (3,264)**

7. Sampel

8. Spiking sampel 3 ppm

9. Standar DEHP 3 ppm



**Keterangan :**

**A = Metanol (1,770; 1,767 dan 1,768)**

**B = DEHP (4,636; 4,799 dan 4,796)**

**C = Asetonitril (3,075 dan 3,086)**