

**PENGARUH DERIVATISASI TERHADAP
PARAMETER KUANTITATIF PADA ANALISIS
PESTISIDA 2-ISOPROPILFENIL N-METIL KARBAMAT
DENGAN METODE KROMATOGRAFI GAS**



TF 33/93
Sum
P

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SUKSES BAYA

**OLEH
RIRIN SUMIYANI**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

1 9 9 3

**PENGARUH DERIVATISASI TERHADAP
PARAMETER KUANTITATIF PADA ANALISIS
PESTISIDA 2-ISOPROPILFENIL N-METIL KARBAMAT
DENGAN METODE KROMATOGRAFI GAS**

TESIS

**TELAH DISETUJUI OLEH
PANITIA PENGUJI TESIS PADA TANGGAL 26 FEBRUARI 1993**

**MEMENUHI PERSYARATAN PENDIDIKAN
PASCASARJANA PROGRAM BELAR
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI**

OLEH

**RIRIN SUMIYANI
098910583/M**

Pembimbing Ketua :


Dr. M. ZAINUDDIN

Pembimbing :


Prof. Drs. SOEMADI

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Farmasi


Dr. NOOR CHOLIES Z.

PANITIA PENGUJI TESIS :

Ketua : Drs. HARJANA M.Sc.

Anggota : Dr. M. Zainuddin

Prof. Drs. Soemadi.

Dra. Sri Murniati Purnomo M.S.

Dr. Mulja Hadi Santosa

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas berkah rahmat ALLah S.W.T Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, maka selesailah tesis ini untuk memenuhi persyaratan Pendidikan Pascasarjana Program gelar, Program Studi Ilmu Farmasi, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dengan setulus hati, saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Menteri Pendidikan dan Kebudayaan serta Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan bantuan keuangan melalui Tim Manajemen Program Doktor (TMPD).

2. Koordinator Perguruan Tinggi Swasta Wilayah VII di Surabaya, Rektor Universitas Surabaya serta Dekan Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti Pendidikan Pascasarjana.

3. Rektor Universitas Airlangga serta Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas diterimanya saya sebagai peserta dalam Pendidikan Pascasarjana.

4. DR.M.Zainuddin, Apt, dan Prof.Drs.Soemadi, Apt,

pembimbing-pembimbing saya, yang telah memberikan bimbingan mulai dari awal hingga akhir penelitian dan penyusunan tesis ini dengan penuh kesabaran.

5.DR.Noor Choliz Zaini, Apt, selaku Ketua Program Studi Ilmu Farmasi yang telah memberikan pengarahan-pengarahan yang bermanfaat.

6.Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas tempat, peralatan dan lain-lain yang sangat saya perlukan selama penelitian.

7.Kepala Laboratorium beserta staf Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga, khususnya DR.Mulya Hadi Santoso yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

8.DR.Narsito dan DR.Sri Noegrohati, Apt,selaku Direktur dan Sekretaris Laboratorium Analisis Fisika Kimia Pusat Universitas Gajahmada, yang telah memberikan ijin penggunaan fasilitas dan instrumen yang ada, terutama kromatografi gas, sehingga penelitian ini terlaksana.

9.Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam bentuk apapun, yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu.

10. Ibu, suami dan anak-anak, Devi, Orchidea, Ratih, serta seluruh keluarga, atas dorongan dan ban-

tuan, do'a restu serta pengertian yang telah diberikan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis saya ini.

Mudah-mudahan semua bantuan yang telah diberikan mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah S.W.T. Amien.

Surabaya, Februari 1993

ABSTRAK

Telah dipelajari pengaruh derivatisasi dengan menggunakan Trifluoro asetat anhidrat (TFAA) terhadap parameter kuantitatif (batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi dan presisi) dari pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbanat (Mipcin). Terjadi perbaikan terhadap parameter kuantitatif tersebut. Dengan metode tanpa derivatisasi batas deteksi Mipcin 0,68 ng/ μ L dan batas kuantitasnya 2,28 ng/ μ L, sedangkan melalui derivatisasi 7,5 pg/ μ L dan 25 pg/ μ L. Untuk akurasi juga lebih baik. Dengan metode tanpa derivatisasi kadar yang didapat kembali dari sampel air suling 80,08 % \pm 5,01 % dan sampel air sungai 74,14 % \pm 3,13 %, sedangkan melalui derivatisasi 91,91 % \pm 3,51 % dan 89,98 % \pm 5,71 %. Untuk presisi relatif tidak ada perubahan. Dengan metode tanpa derivatisasi koefisien variasi dari sampel air suling 6,26 % dan sampel air sungai 4,22 % , sedangkan melalui derivatisasi 3,82 % dan 6,35 %.

Penetapan kadar Mipcin tanpa derivatisasi menggunakan kromatografi gas-detektor FID , kolom Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80 temperatur 190°C, aliran gas pembawa N₂ 30 ml/menit. Sedangkan penetapan melalui derivatisasi menggunakan kromatografi gas-detektor ECD, kolom Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80 temperatur 175°C, aliran gas pembawa N₂ 40 ml/menit.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PANITIA PENGUJI TESIS	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Perumusan masalah	8
I.3. Hipotesis penelitian	9
I.4. Tujuan Penelitian	10
I.5. Manfaat penelitian	10
I.6. Definisi Operasional	11
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	12
II.1. Tinjauan tentang Kromatografi Gas	12
II.1.1. Keseimbangan distribusi	13
II.1.2. Waktu retensi	14
II.1.3. Teori "plate"	17
II.1.4. Hukum Van Deemter	19
II.1.5. Resolusi	21
II.2. Tinjauan tentang detektor pada kromato grafi gas	26

II.2.1. Tinjauan tentang "Thermal Conductivity Detector"	26
II.2.2. Tinjauan tentang "Flame Ionization Detector"	30
II.2.3. Tinjauan tentang "Electron Capture Detector"	33
II.3. Tinjauan tentang kromatografi gas * spektra- massa	37
II.4. Analisis kualitatif dengan metode kromatografi gas	38
II.5. Analisis kuantitatif dengan metode kromatografi gas	42
II.6. Tinjauan tentang derivatisasi pada kromatografi gas	45
II.7. Validasi pada metode analisis	47
II.8. Penyediaan Sampel untuk Analisis Pestisida	50
II.9. Tinjauan tentang pestisida	55
II.10. Tinjauan tentang Pestisida Karbanat ..	56
BAB III. BAHAN, ALAT DAN METODA	59
III.1. Bahan	59
III.2. Alat	59
III.3. Metode	60
III.3.1. Pembuatan larutan baku induk dan baku kerja Mipcin	60
III.3.2. Pembuatan sampel air suling yang "mengandung" Mipcin	60
III.3.3. Pembuatan sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin	61
III.3.4. Analisis pestisida Mipcin tanpa derivatisasi	61
III.3.5. Analisis pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan Trifluoroasetat anhidrat	69

III.3.5.1. Analisis kualitatif hasil derivatisasi pestisida Mipcin dengan Trifluoroasetat anhidrat	69
III.3.5.2. Analisis kuantitatif pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan Trifluoroasetat anhidrat	70
III.3.6. Komparasi antara metode analisis Mipcin tanpa melalui dan melalui derivatisasi.	74
III.3.7. Evaluasi linieritas respon detektor ECD Ni ⁶³ terhadap kadar Mipcin-TFA ...	75
BAB IV. Hasil penelitian	76
IV.1. Analisis pestisida Mipcin tanpa derivatisasi	78
IV.1.1. Hasil penentuan selektifitas Mipcin ...	76
IV.1.2. Hasil penentuan linieritas Mipcin.....	85
IV.1.3. Hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dari Mipcin	89
IV.1.4. Hasil penetapan kadar sampel air suling dan sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin pada analisis tanpa derivatisasi ...	94
IV.2. Analisis pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan trifluoroasetat anhidrat	101
IV.2.1. Hasil penentuan selektifitas pada analisis Mipcin melalui derivatisasi	107
IV.2.2. Hasil penentuan linieritas Mipcin-TFA.	114
IV.2.3. Hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dari Mipcin-TFA	118
IV.2.4. Hasil penetapan kadar sampel air suling dan sampel air sungai yang mengandung "Mipcin" pada analisis melalui derivatisasi ...	123
IV.3. Komparasi hasil analisis sampel air suling dan air sungai yang "mengandung" Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi	131

BAB V. Pembahasan	141
BAB VI. Kesimpulan	153
BAB VII. Saran saran	154
DAFTAR PUSTAKA	155

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Senyawa yang responnya kecil atau tidak memberikan respon pada detektor "FID" ..	32
Tabel 2	Ciri isotop	35
Tabel 3	Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC pada berbagai temperatur	77
Tabel 4	Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC pada temperatur kolom 190°C dengan berbagai kecepatan gas pembawa	80
Tabel 5	Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC berbagai kadar pada kondisi terpilih	82
Tabel 6	Hasil kromatogram yang digunakan untuk analisis regresi antara kadar Mipcin dan luas area	85
Tabel 7	Hasil kromatogram yang digunakan pada perhitungan harga S dari Mipcin	91
Tabel 8	Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel aquades dengan metode tanpa derivatisasi	95
Tabel 9	Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air sungai dengan metode tanpa derivatisasi	96
Tabel 10	Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPMC-TFA pada berbagai laju aliran gas pembawa N_2	110
Tabel 11	Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPMC-TFA berbagai kadar pada kondisi terpilih	112

Tabel 12	Hasil kromatogram yang digunakan pada analisis regresi antara kadar Mipcin-TFA luas area	114
Tabel 13	Hasil kromatogram yang digunakan pada perhitungan harga S dari Mipcin-TFA	120
Tabel 14	Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air suling dengan metode melalui derivatisasi	124
Tabel 15	Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air sungai dengan metode melalui derivatisasi	125
Tabel 16	Kadar sampel air suling yang "mengandung" Mipcin dengan analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi	132
Tabel 17	Kadar sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin dengan analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi	132
Tabel 18	Hasil perhitungan analisis Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi	134
Tabel 19	Harga log kadar Mipcin-TFA baku dan luas area	136
Tabel 20	Harga kadar Mipcin-TFA sampel air suling dan luas area	136
Tabel 21	Harga log kadar Mipcin-TFA sampel air suling dan luas area	137
Tabel 22	Harga kadar Mipcin-TFA sampel air sungai dan luas area	137
Tabel 23	Harga log kadar Mipcin-TFA sampel air sungai dan luas area	138
Tabel 24	Harga koefisien determinasi dan kemaknaan harga F Mipcin-TFA pada beberapa macam sampel	138

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Suatu segmen kolom kromatografi partisi..	14
Gambar 2	Menghitung (N) dari kromatogram	18
Gambar 3	Diagram persamaan Van Deenter	20
Gambar 4	Kromatogram 2 komponen	22
Gambar 5	Bagan suatu sel TC detektor	27
Gambar 6	Bagan rangkaian detektor pengionan	31
Gambar 7	Kelinieran detektor "ECD"	36
Gambar 8	Kurva kalibrasi metode standar eksternal dan metode standar internal	44
Gambar 9	Kurva metode standar adisi	45
Gambar 10	Kromatogram Mipcin dan BPNC pada berbagai temperatur, I (175°C), II (180°C), III (185°C), IV (190°C) dan V (195°C)	78
Gambar 11	Kromatogram Mipcin (M) dan BPNC (B) pada temperatur kolom 190°C dengan bermacam-macam kecepatan gas pembawa, I (25 ml/menit), II (30 ml/menit) dan III (35 ml/menit)	81
Gambar 12	Kromatogram Mipcin dan BPNC pada bermacam- macam kadar, I (5ppm:5,05ppm), II (10 ppm: 10,1 ppm), III (20 ppm:20,2 ppm), IV (40 ppm :40,5 ppm) dan V (80 ppm:81 ppm)	83
Gambar 13	Kurva hubungan antara harga Rs dan α dengan campuran Mipcin dan BPNC pada kadar I (5 ppm:5,05 ppm), II (10 ppm : 10,1 ppm), III (20 ppm:20,2 ppm), IV (40 ppm : 40,5 ppm) dan V (80 ppm:81 ppm)	84

-
- Gambar 14 Kromatogram Mipcin 2,5 ng/ μ L, 5,0ng/ μ L, 10,0 ng/ μ L, 20,0 ng/ μ L, 40,0 ng/ μ L, 80,0 ng/ μ L, 100 ng/ μ L dan 160,0 ng/ μ L yang digunakan pada penentuan linieritas 87
- Gambar 15 Kurva regresi linier antara kadar Mipcin dan luas area, pada kadar 2,5 ng/ μ L, 5,0 ng/ μ L, 10,0 ng/ μ L, 20,0 ng/ μ L,40,0 ng/ μ L, 80,0 ng/ μ L, 100 ng/ μ L dan 160,0 ng/ μ L 88
- Gambar 16 Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi dengan kadar 2,5 ng/ μ L, 5,0 ng/ μ L dan 10,0 ng/ μ L..... 90
- Gambar 17 Kromatogram Mipcin 2,5 ng/ μ L, 5,0 ng/ μ L, 10,0 ng/ μ L, 20,0 ng/ μ L dan 40,0 ng/ μ L .. 92
- Gambar 18 "Base line noise" pada penyuntikan eluen dari Mipcin 93
- Gambar 19 Kromatogram Mipcin baku (M) 20,0 ppm dan hasil ekstraksi sampel air suling 5 replikasi (R1, R2, R3, R4 dan R5) dengan kadar 0,2 ppm dengan penyuntikan 25 ng/ μ L 97
- Gambar 20 Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi hasil ekstraksi sampel air suling dengan kadar 0,1 ppm 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm dengan penyuntikan masing-masing 12,5 ng/ μ L, 25,0 ng/ μ L, 50,0 ng/ μ L, 75,0 ng/ μ L dan 100,0 ng/ μ L 98
- Gambar 21 Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi hasil ekstraksi sampel air sungai dengan kadar 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm, dengan penyuntikan masing-masing 12,5 ng/ μ L, 25,0 ng/ μ L, 50,0 ng/ μ L, 75,0 ng/ μ L dan 100,0 ng/ μ L 99
- Gambar 22 Kromatogram massa campuran Mipcin dan BPMC dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60

- /80 panjang 3m ,ID 3 mm, suhu kolom 175°C, energi ionisasi 70 ev 103
- Gambar 23 Spektra massa dari Mipcin dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3m , ID 3 mm, suhu kolom 175°C, energi ionisasi 70 ev 104
- Gambar 24 Spektra massa dari BPMC dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3m , ID 3 mm, suhu kolom 175°C, energi ionisasi 70 ev 104
- Gambar 25 Kronatogram massa hasil derivatisasi Mipcin-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol. JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3m, ID 3 mm suhu kolom 175°C,energi ionisasi 70 ev 105
- Gambar 26 Kronatogram massa hasil derivatisasi BPMC-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3m, ID 3 mm suhu kolom 175°C,energi ionisasi 70 ev 105
- Gambar 27 Spektra massa hasil derivatisasi Mipcin-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10 % Uniport HPS 60/80 panjang 3m, ID 3 mm suhu kolom 175 °C, energi ionisasi 70 ev 106
- Gambar 28 Spektra massa hasil derivatisasi BPMC-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, . kolom Silicon DC 200-P 10 % Uniport HPS 60/80 panjang 3m, ID 3 mm suhu kolom 175 °C, energi ionisasi 70 ev 106
- Gambar 29 Kronatogram campuran Mipcin-TFA dan BPMC-TFA pada suhu kolom 175°C dengan berbagai kece-

- patan aliran gas pembawa, I(25 ml/menit), II (30 ml/menit), III(35 ml/menit), IV (40 ml/menit) dan V(45 ml/menit) 108
- Gambar 30 Kromatogram campuran Mipcin-TFA dan BPMC-TFA pada kondisi terpilih dengan berbagai kadar, masing-masing I(0,2 ng/ μ L, II(0,4 ng/ μ L) III (0,8 ng/ μ L), IV (1,6 ng/ μ L) dan V(3,2 ng/ μ L) 111
- Gambar 31 Kurva hubungan antara harga Rs dengan campuran Mipcin-TFA dan BPMC-TFA pada kadar masing-masing 0,2 ng/ μ L(I), 0,4 ng/ μ L(II), 0,8 ng/ μ L (III), 1,6 ng/ μ L(IV) dan 3,2 ng/ μ L(V) 113
- Gambar 32 Kromatogram Mipcin-TFA 20 pg/ μ L, 40 pg/ μ L, 100 pg/ μ L, 200 pg/ μ L, 400 pg/ μ L, 800 pg/ μ L, 1600 pg/ μ L dan 3200 pg/ μ L, yang digunakan pada penentuan linieritas 116
- Gambar 33 Kurva regresi linier antara kadar Mipcin-TFA dan luas area pada kadar 20 pg/ μ L, 40 pg/ μ L, 100 pg/ μ L, 200 pg/ μ L, 400 pg/ μ L, 800 pg/ μ L, 1600 pg/ μ L dan 3200 pg/ μ L 117
- Gambar 34 Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dengan konsentrasi 20 pg/ μ L, 40 pg/ μ L, 100 pg/ μ L 119
- Gambar 35 Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dengan konsentrasi 20 pg/ μ L, 40 pg/ μ L, 100 pg/ μ L, 200 pg/ μ L dan 400 pg/ μ L pada penentuan harga S 121
- Gambar 36 "Base line noise" pada penyuntikan eluen dari Mipcin-TFA 122
- Gambar 37 Kromatogram Mipcin-TFA baku (m-TFA) 1 ng/ μ L dan hasil ekstraksi sampel aquades 0,2 ppm 5 replikasi (R1, R2, R3, R4 dan R5) dengan penyuntikan 1 ng/ μ L 126

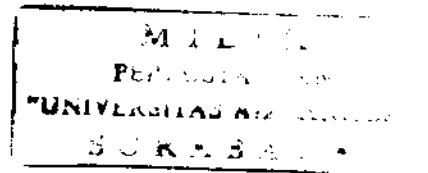
- Gambar 38 Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dari ekstraksi sampel air suling dengan kadar 0,1ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm, dengan penyuntikan masing-masing 0,5 ng/μL, 1,0 ng/μL, 2,0 ng/μL, 3,0 ng/μL dan 4,0 ng/μL 127
- Gambar 39 Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dari ekstraksi sampel air sungai dengan kadar 0,1ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm, dengan penyuntikan masing-masing 0,5 ng/μL, 1,0 ng/μL, 2,0 ng/μL, 3,0 ng/μL dan 4,0 ng/μL 128
- Gambar 40 Kurva non linier dari Mipcin-TFA baku dengan persamaan garis $Y = - 13332 + 8618,14 \log X$ 140

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
I	Skema cara kerja	160
II	Skema reaksi derivatisasi	161
III	Analisis regresi kadar Mipcin vs luas area .	162
IV	Analisis regresi kadar Mipcin vs tinggi puncak	163
V	Contoh perhitungan kadar Mipcin dengan metode standar eksternal	164
VI	Uji t satu sampel dari sampel air suling dengan metode tanpa derivatisasi	165
VII	Uji t satu sampel dari sampel air sungai dengan metode tanpa derivatisasi.....	166
VIII	Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area	167
IX	Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs tinggi puncak	168
X	Uji t satu sampel dari sampel air suling dengan metode melalui derivatisasi	169
XI	Uji t satu sampel dari sampel air sungai dengan metode melalui derivatisasi	170
XII	Uji t sepasang tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi sampel air suling	171
XIII	Uji t sepasang tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi sampel air sungai ...	172
XIV	Perhitungan uji variansi	173
XV	Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA baku vs luas area	174
XVI	Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area sampel air suling	175
XVII	Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area sampel air suling	176

XVIII	Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area sampel air sungai	177
XIX	Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area sampel air sungai	178
XX	Tabel F	179

BAB I.
PENDAHULUAN



I.1. Latar Belakang Masalah

Dalam usaha peningkatan produksi di bidang pertanian diperlukan sarana produksi, antara lain pestisida. Pestisida merupakan sarana terpilih untuk mengatasi gangguan hama tanaman, karena lebih efektif dan efisien. Penakaaian pestisida tidak hanya di bidang pertanian, tapi juga digunakan dalam memberantas serangga-serangga pengganggu dalam kehidupan, seperti : nyanuk, rayap dan sebagainya (1).

Disatu sisi pestisida mempunyai peranan yang sangat penting bagi kehidupan manusia, tapi di sisi yang lain penakaaian pestisida yang terus menerus dan tak terkendali akan dapat menimbulkan dampak negatif yang cukup serius, yaitu dapat menimbulkan pencemaran lingkungan hidup.

Berdasarkan struktur kimianya, pestisida digolongkan atas: pestisida anorganik (misalnya timbal arsenat, kalium arsenat), pestisida organik alam (nikotin, rotenon) dan pestisida organik sintetis. olongan terakhir ini diklasifikasikan lagi atas : golongan organoklorin (DDT, BHC, Aldrin), golongan organofosfat (Diazinon, Paration, Malation),

golongan karbanat (Sevin, BPMC, Mipcin) dan golongan kumarin (tomorin)(1, 2). Sampai saat ini pemakaian karbanat adalah yang terbesar, dan dari berbagai golongan karbanat yang digunakan ternyata senyawa 2-isopropilfenil metil karbanat dengan nama dagang Mipcin menempati urutan pertama dalam pemakaian (3).

Dalam pembangunan yang berwawasan lingkungan, masalah pengelolaan dan pencemaran oleh pestisida perlu mendapat perhatian yang sungguh-sungguh. Berkaitan dengan hal itu, maka pemerintah melalui Permenkes No.453/Per/XI/1983 tentang bahan berbahaya, telah mengatur dan mengawasi peredaran, penyimpanan dan penggunaan pestisida (4). Demikian pula dalam upaya melindungi keselamatan manusia, sumber kekayaan air, flora dan fauna dari pencemaran lingkungan hidup, pemerintah melalui Keputusan Menteri KLH No.02/Men KLH/I/1988 telah menetapkan tentang pedoman baku mutu lingkungan, dimana didalamnya ditetapkan kadar maksimum pestisida yang diperbolehkan dalam air, air laut dan air limbah. (5). Syarat-syarat dan pengawasan kualitas air juga diatur melalui Permenkes RI dalam surat keputusannya No.416/Menkes/Per/IX/1990 (6).

Demikian juga badan-badan internasional seperti WHO dan FAO menetapkan ketentuan-ketentuan tentang pestisida, antara lain penetapan tentang batas maksimum residu pestisida (Maximum Residual limit) pada tiap jenis makanan produk pertanian dan banyaknya residu pestisida yang masih dapat diterima perhari (Acceptable Daily Intake) (7, 8).

Didalam Surat Keputusan Menteri KLH No.02/MenKLH/I/1988 kadar pestisida dalam air yang digunakan untuk air minum harus nihil, untuk organo-fosfat dan karbanat, kadar maksimum yang diperbolehkan dalam air yang dipergunakan sebagai air baku untuk diolah sebagai air minum dan keperluan rumah tangga adalah 0,100 mg/L. Batas maksimum residu pestisida karbaril (salah satu golongan karbanat) yang diperbolehkan pada apel, buah anggur, sayuran dan kacang-kacangan sebesar 5mg/kg, sedang untuk gandum dan terigu 2 mg/kg (5). Banyaknya residu yang dapat diterima perhari (Acceptable Daily Intake) untuk Karbaril, menurut WHO sebesar 0 - 0,01 mg/kg berat badan (9).

Untuk mengetahui apakah berbagai ketentuan tentang kadar maksimum atau kadar yang telah ditentukan tersebut dilewati atau tidak, baik sebagai cemaran dalam air ataupun yang ada dalam tanaman, sangat diperlukan suatu metode analisis pestisida yang tepat, teliti dan mempunyai batas deteksi rendah, cepat dan murah (10).

Analisis cemaran pestisida dalam air minum, air laut, air limbah dan residu dalam tanaman, dapat dilakukan dengan berbagai cara. Yang paling umum digunakan adalah cara kromatografi, karena dapat sekaligus untuk analisa kualitatif dan kuantitatif. Teknik kromatografi yang dapat digunakan antara lain kromatografi lapisan tipis (TLC), kromatografi cair tekanan tinggi (HPLC) dan kromatografi gas (GC) (10, 11, 12).

Dua teknik kromatografi terakhir ini (HPLC dan GC) merupakan puncak teknologi kromatografi saat ini. Tetapi GC mempunyai kelebihan dibandingkan HPLC, khususnya untuk analisis residu pestisida karena dilengkapi detektor yang lebih peka. Lagi pula tidak diperlukan sistem pelarut yang relatif mahal.

Analisis kuantitatif untuk pestisida organoklorin dan organofosfat dengan teknik kromatografi gas telah banyak diteliti dan dikembangkan. Sedangkan penelitian sejenis untuk pestisida golongan karbamat relatif masih sangat sedikit. Padahal dalam kenyataannya, khususnya di Indonesia pemakaian golongan karbamat terutama 2-isopropilfenil N-metil-karbamat seperti yang telah disebutkan di atas terus mengalami peningkatan (3).

Telah dilaporkan analisis beberapa pestisida karbamat tanpa derivatisasi, untuk karbaril diperoleh "recovery" 70 %, hal ini terjadi karena adanya degradasi, sedangkan analisis methomyl dalam air diperoleh "recovery" 75,1 % (13,14). Pada penelitian tersebut batas deteksi metode tidak dilaporkan, sehingga ketentuan-ketentuan seperti tersebut di atas tidak dapat dipantau dengan metode ini.

Telah dilaporkan oleh Coburn dan kawan-kawan, analisis beberapa pestisida karbamat dalam air, antara lain propoxur, karbofuran, dan karbaril dengan tehnik kromatografi gas-detektor ECD melalui derivatisasi dengan pentafluorobenzylbromid, didapatkan "recovery" 87 - 98% (14). Sedangkan penelitian residu beberapa pestisida karbamat antara lain BPMC, MPMC dan karbaril pada produk pertanian dengan

kromatografi gas- detektor ECD melalui derivatisasi dengan Trifluoroasetat anhidrat (TFAA), diperoleh "recovery" 91,2 - 98,8% . Untuk karbamat sebesar 1 ng masih diperoleh kromatogram yang baik (14, 15).

Dari uraian tersebut ternyata bahwa untuk beberapa pestisida karbamat misalnya karbaril, karbofuran dan propoxur, dapat dipakai suatu metode analisis kromatografi gas tanpa derivatisasi, atau melalui derivatisasi (13, 14, 15). Tetapi untuk analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat belum pernah dilaporkan. Maka dari itu perlu dikembangkan dan dievaluasi suatu metode analisis untuk melihat apakah pestisida 2-isopropilfenil N- metilkarbamat yang terdapat sebagai cemaran dalam air, ataupun sebagai residu dalam tanaman, telah melewati ketentuan yang ditetapkan atau tidak.

Pestisida turunan N-metilkarbamat pada temperatur tinggi, pada umumnya mengalami sedikit degradasi, ini terlihat pada analisis karbaril tanpa derivatisasi didapatkan "recovery" 70% (13), sedangkan analisis melalui derivatisasi didapatkan " recovery" 87-98 % (14). Jadi adanya derivatisasi dapat meningkatkan "recovery".

Tujuan derivatisasi pada kromatografi gas antara lain untuk memperoleh senyawa yang stabil,

menurunkan titik didih, memperoleh selektifitas yang lebih baik dan untuk memperkecil batas deteksi (13, 16). Derivatisasi pada kromatografi gas dapat dilakukan dengan asetilasi, metilasi atau sililasi (13, 16, 17). Derivatisasi melalui asetilasi, misalnya menggunakan trifluoroasetat atau pentafluoroasetat, sedangkan metilasi, menggunakan trimetilanilinium hidroksida dan sililasi menggunakan trimetil silil atau senyawa yang sejenis (17).

Suatu metode analisis yang bertugas mengidentifikasi dan mengkuantisasi senyawa kimia dalam kadar yang kecil disebut analisis runut (18). Didalam analisis runut validasi metode merupakan suatu aspek yang sangat penting. Dengan demikian pada analisis pestisida yang juga merupakan suatu analisis runut, maka validasi metode merupakan suatu hal yang perlu mendapat perhatian. Ada beberapa parameter validasi yang dapat dipakai sebagai pedoman, antara lain : selektifitas, linieritas, akurasi, presisi, batas deteksi dan batas kuantisasi (18, 19). Akurasi, presisi, batas deteksi dan batas kuantitasi, merupakan parameter kuantitatif suatu metode analisis.

Dibidang pertanian pada umumnya senyawa 2-isopropilfenil N-netil karbamat digunakan pada

tanaman padi dan kedelai, karena itu air dan sungai di sekitarnya kemungkinan akan tercemar terutama pada musim hujan karena pada akhirnya air persawahan akan masuk kedalam sungai (1). Seperti diketahui untuk air baku air minum sebagian besar digunakan air sungai, misalnya, baku air minum untuk kota Surabaya didapatkan dari sungai Brantas. Oleh karena itu perlu dievaluasi dan dikembangkan metode analisis yang dapat digunakan untuk memantau cemaran pestisida pada air sungai. Sebagai bahan perbandingan dilakukan juga analisis pada air suling.

I.2. Perumusan masalah

Berdasar uraian tersebut diatas timbul permasalahan :

Sejauh mana pengaruh *derivatisasi* dengan trifluoroasetat anhidrat terhadap batas deteksi dan batas kuantitasi, akurasi dan presisi pada analisis pestisida 2-isopropil N-metilkarbamat dengan kromatografi gas pada sampel air suling dan sampel air sungai yang "mengandung" senyawa tersebut.

I.3. Hipotesis Penelitian.

Hipotesis penelitian ini disusun dengan kerangka teori sebagai berikut :

Derivatisasi menggunakan trifluoroasetat anhidrat dapat memperbaiki batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi dan presisi metode kromatografi gas pada analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat

I.4. Tujuan Penelitian

Dengan bertitik tolak pada permasalahan di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

Menentukan *a* batas deteksi dan batas kuantitasi, akurasi dan presisi metode kromatografi gas pada analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi dengan trifluoroasetilanhidrat pada sampel air suling dan sampel air sungai yang "mengandung" senyawa tersebut, untuk menilai pengaruh derivatisasi pada kromatografi gas.

I.5. Manfaat Penelitian.

Dapat memberikan alternatif dalam pemilihan metode analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat untuk mengetahui apakah suatu sampel memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh badan yang berwenang. Misalnya suatu sampel lingkungan apakah memenuhi persyaratan sesuai dengan Keputusan Menteri KLH No.02/Men KLH/I/1988 dan Permenkes No.416/Menkes/Per/IX/1990, atau sampel tanaman apakah memenuhi persyaratan yang ditetapkan WHO.

I.6. Definisi operasional.

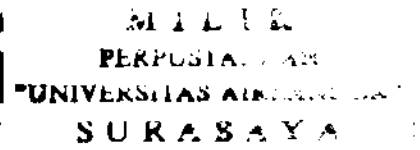
Dalam penelitian ini yang dimaksudkan dengan :

Akurasi ialah kedekatan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar dan biasanya dinyatakan dengan % "recovery" (kadar yang didapat kembali). Metode mempunyai akurasi yang baik, jika tidak ada beda signifikan pada $\alpha = 0,05$ antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar. Untuk analisis residu pestisida presisi 10% masih dianggap baik, dengan demikian harga yang dianggap benar 90% - 110%.

Presisi ialah ukuran derajat keterulangan dari suatu metode analisis. Presisi dinyatakan dengan standar deviasi atau koefisien variasi (K.V), makin kecil harga K.V. suatu metode, makin teliti metode tersebut. Untuk analisis residu pestisida presisi 10 % masih dianggap baik.

Batas deteksi adalah batas kadar terkecil dari analit yang masih dapat dideteksi dan menghasilkan respon yang signifikan dan dapat dibedakan dari "blank".

Batas kuantitasi adalah batas kadar terkecil dari analit dengan presisi dan akurasi yang baik.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan tentang Kromatografi Gas

Kromatografi adalah suatu proses pemisahan komponen sampel yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen tersebut pada dua fase. Salah satu fase yang tetap terpancang didalam sistem disebut "stationary phase" (fase diam), sedangkan fase yang lain yang secara terus menerus bergerak melewati fase diam disebut " mobile phase" (fase gerak). Gerakan dari sampel menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi komponen sampel. Berdasarkan bentuk fase gerak yang digunakan maka dikenal "liquid chromatography" dan "gas chromatography". Pada kromatografi gas yang bertindak sebagai fase gerak adalah gas dan sebagai fase diam dapat berupa fase padat maupun fase cair.

Mekanisme kerja yang mendasari terjadinya pemisahan pada kromatografi gas adalah proses partisi, adsorpsi dan partisi/adsorpsi, tetapi yang paling umum adalah proses partisi (10).

Kemajuan penggunaan kromatografi disebabkan oleh teori yang pertamakali dikemukakan oleh Martin

dan Syngge untuk kromatografi partisi cair dan ini mendasari penggunaan kromatografi gas cair. Selanjutnya prinsip teori ini dapat diterapkan pada semua tipe kromatografi (10,21).

II.1.1. Keseimbangan Distribusi (10,21).

Jika suatu solut dielusikan pada suatu sistem kromatografi, maka solut ini akan mengalami partisi/distribusi dalam kedua fase (fase gerak dan fase diam), yang besarnya tergantung kepada kelarutan solut pada masing-masing fase.

Sebagai ukuran besarnya distribusi masing-masing solut kedalam fase gerak dan fase diam adalah harga koefisien distribusi/ koefisien partisi (K). Hal ini dinyatakan kedalam persamaan sebagai berikut:

$$K = \frac{C_S}{C_M} \dots\dots\dots(1)$$

Dimana :

C_S = konsentrasi solut dalam fase diam (stasioner).

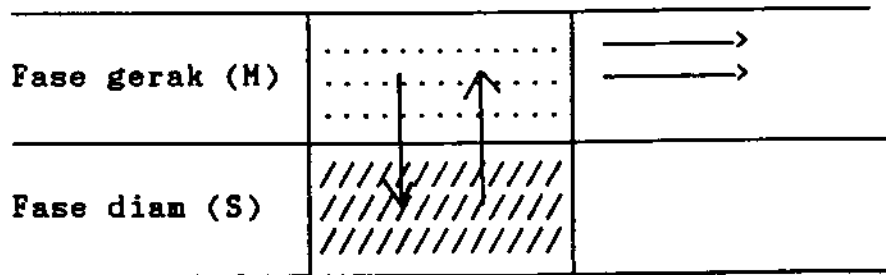
C_M = konsentrasi solut dalam fase gerak (mobil).

Dari persamaan (1) dapat dilihat bila harga K

besar maka konsentrasi solut dalam fase diam lebih besar dari pada yang berada dalam fase gerak.

II.1.2. Waktu retensi (t_R).

Untuk menjelaskan konsep waktu retensi, dipakai model satu segmen kolom kromatografi partisi (gambar 1) :



Gambar 1 : Suatu segmen kolom kromatografi partisi.

Fase gerak (M) yang juga berfungsi sebagai pembawa dan penggerak solut akan bergerak sepanjang fase diam dengan kecepatan yang konstan.

Molekul solut dapat berada didalam fase diam yang berarti tertahan, atau berada dalam fase gerak yang akan dibawa melewati kolom, dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Molekul solut ini

mengalami kesetimbangan yang dinamis (solut keluar masuk fase diam), sehingga perbandingan konsentrasi solut didalam fase diam (C_S) dan konsentrasi solut didalam fase gerak (C_M) selalu sama dengan K .

Harga K menunjukkan konsentrasi relatif solut dalam dua fase. Bila harga K besar, berarti konsentrasi solut dalam fase diam lebih besar dari pada yang berada dalam fase gerak, dan molekul-molekul solut tersebut akan lebih lama tinggal dalam fase diam. Dengan demikian dapat dikatakan : dalam keseimbangan dinamis yang sesungguhnya, fraksi waktu (terhadap waktu total) yang dialami solut dalam fase gerak, berbanding langsung dengan fraksi solut (terhadap jumlah total solut) dalam fase gerak. Dengan demikian, jika fraksi waktu solut dalam fase gerak adalah t , maka :

$$t = \frac{\text{jumlah solut dalam fase gerak}}{\text{jumlah solut total (dalam fase gerak + fase diam)}}$$

$$t = \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S}$$

$$t = \frac{1}{1 + K V_S / V_M}$$

$$t = \frac{1}{1 + K'} \dots\dots\dots(2)$$

Dimana : V_M = volume fase gerak

V_S = volume fase diam

Harga $k' = K V_S / V_M$ disebut *faktor kapasitas* yang merupakan perbandingan jumlah molekul solut (mol ratio) dalam fase diam dan fase gerak.

Jarak yang ditempuh solut (d) dalam pergerakannya bersama-sama fase gerak sepanjang fase diam, adalah ekuivalen dengan hasil kali kecepatan solut (sama dengan kecepatan fase mobil = μ) dengan fraksi waktu solut berada dalam fase mobil (t).

Jadi : $d = \mu \cdot t$

$$d = \mu \cdot \frac{1}{1 + K V_S / V_M} \dots\dots\dots(3)$$

Jika kromatografi partisi ini dilakukan dengan menggunakan kolom sepanjang L, maka waktu yang diperlukan solut untuk mencapai jarak sepanjang kolom atau disebut waktu retensi (t_R) adalah :

$$t_R = \frac{L}{d}$$

$$t_R = \frac{L}{\mu} \left(1 + K \frac{V_S}{V_M} \right) \dots\dots\dots(4)$$

Jika $L/\mu = t_M$, yaitu waktu yang diperlukan fase gerak mencapai ujung kolom, maka persamaan (4) berubah menjadi :

$$t_R = t_M \left(1 + K \frac{V_S}{V_M} \right) \dots\dots\dots(5)$$

Dari persamaan (5) dapat diketahui bahwa harga t_R tergantung pada besarnya t_M , K dan V_S/V_M . Pada sistem kromatografi tertentu (dimana panjang kolom, kecepatan fase gerak, volume fase gerak dan volume fase diam adalah konstan), maka harga t_R hanya dipengaruhi oleh harga K yang spesifik untuk tiap solut. Jadi bila suatu campuran zat (dengan harga K yang berbeda) dielusi pada suatu sistem kromatografi tertentu, maka akan memberikan waktu retensi yang berbeda. Makin besar harga K , makin besar harga t_R -nya.

II.1.3. Teori "plate" (21).

Martin dan Synge mengemukakan adanya kesamaan antara proses yang terjadi dalam kromatografi kolom

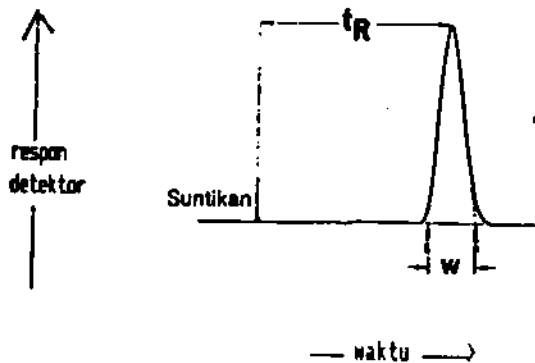
dan kolom destilasi fraksi yang disesuaikan dengan konsep teori "plate". Digambarkan bahwa kolom pada kromatografi partisi terdiri sejumlah "plate" teoritis (N) yaitu sekat-sekat datar yang didalamnya terjadi kesetimbangan yang dinamis. Satu "plate" teoritis analog dengan satu unit mesin Craig.

Jumlah "plate" teoritis (N) dapat dihitung secara empiris dari kromatogram yang terjadi (gambar 2), yaitu :

$$N = \left(\frac{4 t_R}{W} \right)^2 \dots\dots\dots(6)$$

Dimana t_R = waktu retensi

W = lebar puncak.



Gambar 2 : Menghitung (N) dari kromatogram.

Banyaknya "plate" teoritis dapat digunakan sebagai ukuran efisiensi kolom. Makin banyak jumlah

"plate" teoritis (N), pemisahan makin baik, berarti kolom makin efisien.

Parameter lain yang berhubungan dengan "plate" teoritis adalah *HETP* (*Height equivalent to a theoretical plate*), yaitu besarnya ruang atau unit kolom yang ditempati oleh satu "plate" teoritis ($= H$). Bila panjang kolom $= L$, maka :

$$H = \frac{L}{N} \quad \text{persamaan (6) disubstitusikan, maka}$$

$$H = \frac{L}{16} \left(\frac{W}{t_R} \right)^2 \quad \dots\dots\dots(7)$$

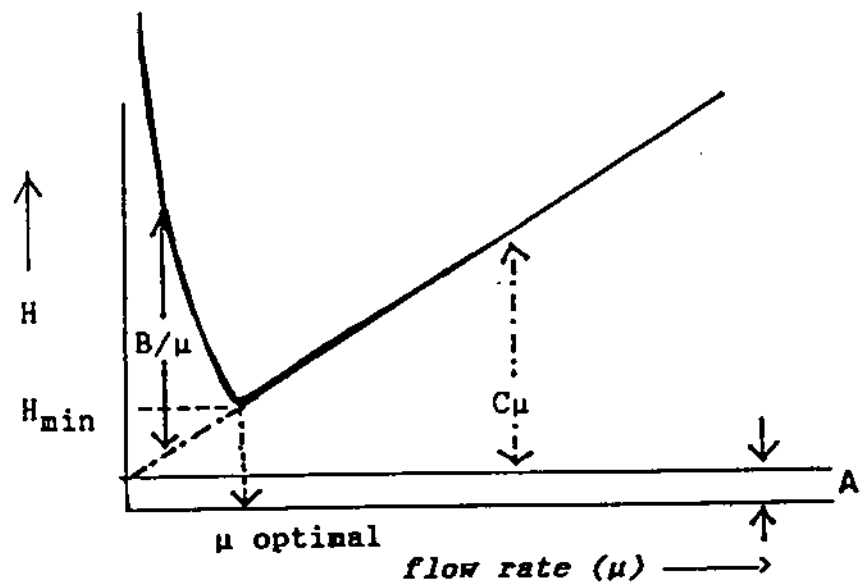
Bila H menurun, maka N makin besar berarti kolom makin efisien. Jadi berdasarkan teori "plate" ini, keadaan ideal dapat didekati dengan cara meningkatkan jumlah "plate" teoritis dengan membuat harga H mendekati nol.

II.1.4. Hukum Van Deemter

Ada tiga faktor yang mempengaruhi harga H , sehingga tidak pernah dicapai $H = 0$. Hal ini dapat dijelaskan dengan hukum Van Deemter :

$$H = A + B/\mu + C.\mu \quad \dots\dots\dots(8)$$

Persamaan Van Deenter menyatakan hubungan antara harga H terhadap flow rate (μ) dan juga menunjukkan kontribusi tiap-tiap faktor A , B dan C sebagai fungsi μ terhadap H . Dan ini, digambarkan pada gambar 3.



Gambar 3 : Diagram persamaan Van Deenter

Faktor A adalah sebagai akibat dari pergerakan solut dengan jalur random, sehingga waktu tempuh dari ujung keujung kolom tiap-tiap solut tidak sama. Kontribusi jalur yang random ini dikenal dengan

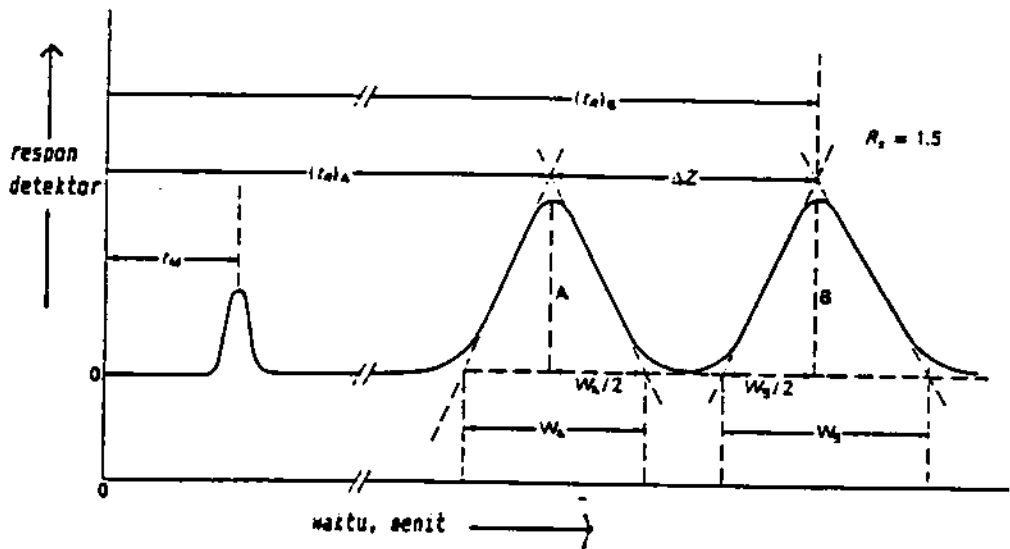
"*Eddy diffusion*". Hal ini merupakan fungsi dari ukuran dan keseragaman partikel kolom. Partikel yang halus dan kompak akan menurunkan harga A.

Faktor B dikenal sebagai *difusi longitudinal*, yaitu pergerakan solut selama melewati kolom yang cenderung mengalami difusi dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, baik kedepan maupun kebelakang. Difusi longitudinal ini berbanding terbalik dengan "flow rate" fase mobil μ . Kontribusi kedua faktor ini dinyatakan dengan B/μ .

Faktor C dikenal sebagai akibat adanya *ketidakseimbangan transfer massa solut*. Harga C dipengaruhi oleh besarnya "flow rate" (μ). Semakin besar μ semakin besar pula C. Kontribusi kedua faktor tersebut dinyatakan dengan $C \cdot \mu$.

II.1.5. Resolusi.

Resolusi merupakan ukuran efisiensi kolom dan efisiensi fase diam, dan ini dinyatakan sebagai derajat pemisahan dua puncak kromatogram yang berurutan. Untuk menjelaskan parameter resolusi (R_s) dapat digunakan contoh kromatogram ideal seperti pada gambar 4 (10, 20) .



Gambar 4: Kromatogram dua komponen

t_R = waktu yang dibutuhkan solut untuk menempuh jarak sepanjang kolom

t_M = waktu yang dibutuhkan fase mobil untuk melulusi komponen yang tidak ditahan oleh kolom.

W_A = lebar puncak A pada alasnya dan diukur antara titik potong garis singgung pada kedua sisi puncak dengan poros horizontal.

Harga derajat resolusi dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut :

$$R_s = \frac{2 | (t_R)_A - (t_R)_B |}{W_A + W_B} \dots\dots\dots(9)$$

Bila $W_A = W_B = W$, maka persamaan (9) menjadi :

$$R_s = \frac{(t_R)_A - (t_R)_B}{W} \dots\dots\dots(10)$$

Bila persamaan (6) disubstitusikan pada persamaan (10), maka :

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4} \dots\dots\dots(11)$$

Harga $k' = K V_S / V_M$ yang disebut *faktor kapasitas* bila disubstitusikan pada persamaan (5), maka akan didapat :

$$t_R = t_M (1 + k')$$

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M} \dots\dots\dots(12)$$

Kemampuan suatu kolom untuk memisahkan dua solute, berhubungan dengan koefisien partisi kedua solute tersebut, dan ini disebut *faktor selektifitas* = α .

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{k'_B}{k'_A} \dots\dots\dots(13)$$

Bila persamaan (12) disubstitusikan pada persamaan (11), maka didapatkan :

$$R_s = \frac{k'_B - k'_A}{1 + k'_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4} \dots\dots\dots(14)$$

Bila k'_A dieliminasi, maka persamaan (14) berubah menjadi :

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_B}{1 + k'_B} \right) \dots\dots(15)$$

Pada kromatogram dua komponen bila harga $R_s = 1,5$, maka hanya terjadi tumpang tindih kromatogram sebesar 0,3% (10). Dengan demikian untuk mendapatkan penisahan yang baik, maka harga R_s harus sama dengan 1,5 atau lebih besar. Dari persamaan (14) terlihat bahwa harga R_s tergantung pada N , α dan k' . Jadi untuk mendapatkan harga R_s yang optimal harga ketiga faktor tersebut harus diperhatikan. Harga N sangat tergantung pada kolom yang dipakai yaitu panjang kolom, ukuran partikel dan cara pengemasan kolom. Karena kolom yang dipakai umumnya sudah tersedia, maka harga R_s dapat dioptimasi dengan mengatur harga k' dan α . Dimana harga k' dan α sangat tergantung pada fase mobil, dan pada kromatografi gas berhubungan dengan variasi suhu (10).

Dari persamaan Van Deemter diketahui bahwa harga H dipengaruhi oleh "flow rate" (μ) dari fase mobil, sedangkan harga N dipengaruhi oleh H , dengan demikian untuk optimasi harga R_s selain variasi suhu, variasi "flow rate" dapat digunakan.

Seperti disebutkan diatas kemampuan suatu kolom untuk memisahkan dua komponen disebut *faktor selektifitas*, yaitu (10) :

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} \quad (k'_B \text{ lebih besar } k'_A)$$

Agar terjadi pemisahan, α hendaknya lebih besar dari satu, karena pada $\alpha = 1$ berarti $k'_B = k'_A$, sehingga komponen A tidak terpisahkan dari komponen B. Tetapi harga α lebih besar dari satu tidak dapat menggambarkan pemisahan yang sempurna, karena harga α menunjukkan pemisahan pada puncak kromatogram tanpa memperhitungkan tumpang tindih yang mungkin terjadi pada bagian bawah kromatogram. Tetapi kemungkinan ini dapat dihindari dengan membuat puncak kromatogram yang relatif sempit (22).

Untuk suatu sistem kromatografi, pada kondisi yang sama harga t_M adalah konstan, sehingga :

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} = \frac{(t_R)_B}{(t_R)_A}$$

Harga $\alpha = (t_R)_B / (t_R)_A$ merupakan harga retensi relatif. Dengan demikian untuk melihat pemisahan dua komponen selain parameter R_s , maka harga α dapat digunakan.

II.2. Tinjauan tentang detektor pada kromatografi gas.

Detektor pada kromatografi gas adalah alat yang menunjukkan dan mengukur banyaknya komponen yang terpisah dalam gas pembawa (16,20).

Pada kromatografi gas terdapat bermacam-macam detektor yang berbeda prinsip kerjanya, tetapi ada beberapa ciri tertentu yang merupakan petunjuk kegunaannya, yaitu selektivitas, kepekaannya dan tanggapan liniernya. Disamping itu perlu diperhatikan juga, detektor harus sederhana, murah dan tidak peka terhadap perubahan laju aliran dan perubahan suhu (16, 20).

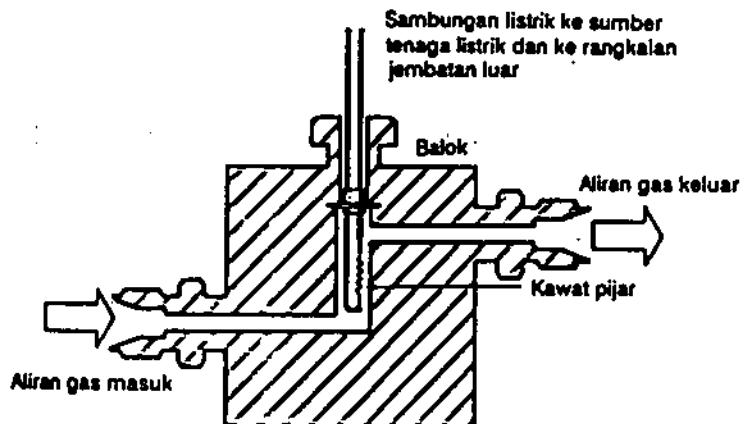
Beberapa detektor yang sering digunakan antara lain : "thermal conductivity detector" (TC detektor), "flame ionization detektor" (detektor FID), dan "electron capture detector" (detektor ECD).

II.2.1. Tinjauan tentang "thermal conductivity detector" (TC detektor).

TC detektor didasarkan pada prinsip bahwa benda panas akan kehilangan "thermal" dengan laju yang tergantung pada susunan gas disekitarnya. Jadi laju kehilangan "thermal" dapat dipakai sebagai ukuran susunan gas (16,20).

Radas dini untuk menentukan kemurnian aliran gas dipatenkan oleh Shakespear pada tahun 1915 dan dinamakan "katarometer". TC detektor diperkenalkan oleh Claesson pada tahun 1946 (16). Pada akhir tahun 1950 TC detektor menunjukkan suatu tehnik yang matang, tetapi secara umum terdapat ketidakpuasan dalam hal sensitivitasnya (16). Dengan berkembangnya detektor pengionan nyala, maka detektor ini menggantikan tempat TC detektor, terutama pada "trace analysis" (16).

Gambar 5 menunjukkan suatu sel TC detektor yang terdiri atas kawat pijar berupa spiral terpasang dalam suatu rongga didalam balok logam (20).



Gambar 5. Bagan suatu sel TC detektor

Kawat pijar yang dipanaskan dapat melepas "thermal" melalui proses berikut: Penghantaran "thermal" kealiran gas, konveksi (bebas atau dipaksa), radiasi dan penghantaran melalui hubungan logam (16, 20).

Penghantaran "thermal" melalui kontak kawat pijar logam dapat diabaikan karena luas yang berkontak kecil. Pelepasan "thermal" melalui radiasi berbanding lurus dengan $(T_f^4 - T_b^4)$, dimana T_f adalah suhu mutlak kawat pijar dan T_b adalah suhu mutlak balok. Perhitungan untuk suatu kawat pijar pada suhu 400°C , suhu balok 300°C , garis tengah kawat $0,001\text{ cm}$, dan panjang kawat (tidak dilingkarkan) 10 cm , menunjukkan bahwa "thermal" yang dilepaskan sekitar 10^{-6} kalori per detik. Ini dapat diabaikan (20). Konveksi paksa dapat diminimumkan, karena itu dapat dianggap bahwa pelepasan "thermal" hanya terjadi melalui hantaran gas pembawa (20).

Kemampuan daya hantar gas pembawa merupakan fungsi dari bobot molekul gas pembawa. Hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut :

"Thermal" dialihkan melalui hantaran jika molekul gas menumbuk kawat pijar yang dipanaskan dan terpantul kembali dengan energi kinetik yang meningkat. Makin besar jumlah tumbukan molekul

dengan kawat persatuan waktu, makin besar pula pelepasan "thermal". Besarnya tumbukan molekul ini tergantung pada kecepatan molekul gas berdiffusi ke dan dari kawat pijar. Kecepatan molekul gas merupakan fungsi dari bobot molekul gas, makin kecil molekul gas, makin tinggi kecepatannya dan makin tinggi daya hantarnya. Jadi gas Hidrogen (BM = 2) dan Helium (BM = 4) yang mempunyai berat molekul kecil, mempunyai daya hantar "thermal" lebih besar bila dibandingkan dengan gas pembawa yang lain yang mempunyai berat molekul lebih besar, misalnya gas Metana (BM = 16) ataupun Nitrogen (BM = 28) (20).

Untuk senyawa propana dengan TC detektor didapatkan "Minimum Detectable Level" (MDL) = 5×10^{-10} g/cm³, sedangkan bila digunakan "flame ionization detector" (FID) akan didapatkan MDL = 10^{-12} g(C)/min (16). Meskipun tidak disebutkan bahwa " FID lebih sensitif dari pada TC detektor", tetapi dengan membandingkan harga MDL dari propana, dapat disimpulkan bahwa FID mempunyai sensitifitas yang lebih tinggi dari pada TC detektor. Karena itu pada perkembangan selanjutnya pemakaian detektor FID lebih banyak dipakai (16).

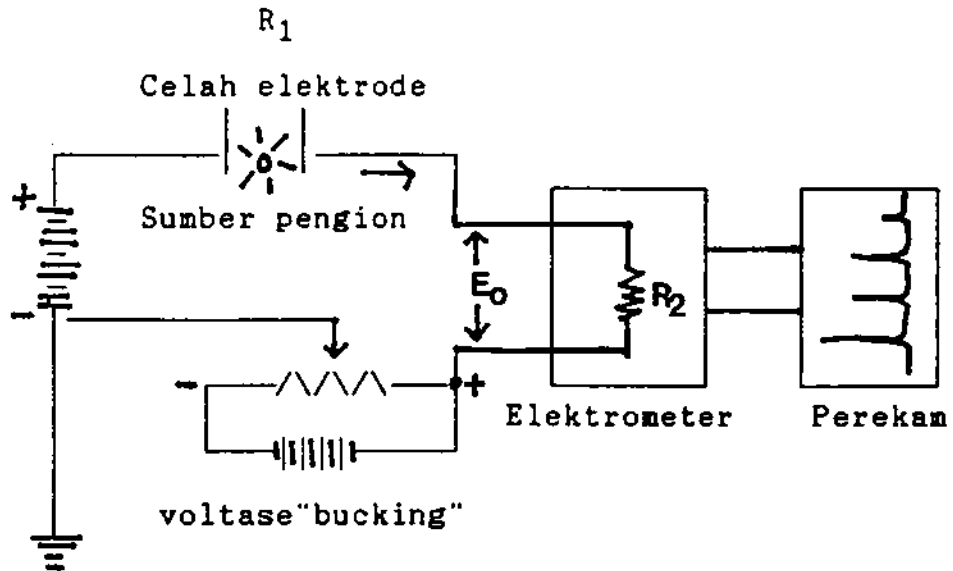
II.2.2. Tinjauan tentang "Flame Ionization Detector"

Beberapa keuntungan pemakaian FID dibandingkan pemakaian detektor yang lain (16):

1. Dapat digunakan untuk semua zat organik dengan sensitifitas yang kira-kira sama.
2. Tidak memberikan respon pada "impurities" gas misalnya H_2O dan CO_2 .
3. Respon tidak dipengaruhi oleh flow rate, tekanan dan temperatur.
4. Bila tidak ada sampel, maka respon tidak ada, sehingga "base line" stabil.
5. Linieritas sampai dengan 10^8 .
6. Mudah pengoperasiannya.

II.2.2.1. Prinsip kerja "Flame Ionization detector"

Secara umum detektor pengionan bekerja berdasarkan prinsip bahwa hantar listrik suatu gas berbanding lurus dengan konsentrasi zarah bermuatan dalam gas. Gambar 6 menunjukkan bagan rangkaian detektor pengionan (20).



Gambar 6. Bagan rangkaian detektor pengionan.

Gas yang keluar dari kolom mengalir melalui celah diantara dua elektrode, melewati sumber pengion yang mengubah beberapa molekul dalam arus gas menjadi ion. Adanya zarah bermuatan (ion positif, ion negatif, elektron) dalam celah elektrode menimbulkan arus I , mengalir melalui celah koresistor pengukur R_2 . Penurunan voltase E_0 yang terjadi pada R_2 diperkuat oleh elektrometer dan dimasukkan kedalam suatu perekam (20).

II.2.2.2. Keselektifan detektor " FID"

Detektor " FID" memberikan respon kepada hampir semua senyawa organik, kecuali beberapa senyawa tertentu yang tertera pada tabel 1, terutama H₂O dan CS₂ (20, 23). Tidak adanya respon terhadap udara dan H₂O menyebabkan FID cocok untuk menganalisis pence nar udara atau cuplikan larutan dalam air, misalnya minuman beralkohol, bahan hayati dsb (20).

Tabel 1. Senyawa yang responnya kecil atau tidak memberikan respon pada detektor "FID".

He	CS ₂	NH ₃
Ar	COS	CO
Kr	H ₂ S	CO ₂
Ne	SO ₂	H ₂ O
Xe	NO	SiCl ₄
O ₂	N ₂ O	SiHCl ₃
N ₂	NO ₂	SiF ₄

Pada detektor " FID", umumnya kepekaan dan kemantapan yang baik diperoleh pada aliran gas pembawa 30 ml/menit, aliran hidrogen 30 ml/menit dan aliran udara 300 ml/menit (20, 21).

II.2 3. Tinjauan tentang "Electron Capture Detector"

II. 2.3.1. Prinsip cara kerja "Electron Capture detector".

Detektor "ECD" mengukur hilangnya sinyal, bukan mengukur arus listrik yang terjadi secara positif. Ketika gas pembawa Nitrogen melalui detektor, sumber tritium atau Ni^{63} mengionkan molekul nitrogen dan terbentuklah elektron lambat. Elektron lambat ini bergerak keanode dan menghasilkan arus tetap yang diperkuat oleh elektrometer. Jika kemudian dimasukkan cuplikan yang mengandung molekul yang dapat menangkap elektron, maka arus itu dikurangi. Besarnya arus yang hilang merupakan ukuran banyaknya (kuantitas) senyawa dan ukuran afinitas elektron senyawa tersebut (20).

II.2.3.2. Keselektifan detektor "ECD"

Detektor "ECD" sangat peka terhadap molekul tertentu seperti alkil halida, karbonil terkonyugasi dan organologam. Demikian juga terhadap hasil halogen derivatisasi dari senyawa-senyawa organik, antara lain steroid, amina dan fenol. Tetapi detektor ini tidak peka terhadap hidrokarbon, alkohol dan

keton (16, 20). Kepekaan selektif terhadap halida menyebabkan detektor ini sangat berharga terutama pada analisis pestisida. Dilaporkan bahwa dengan detektor ini pestisida Lindan terdeteksi sampai dengan pikogram (16, 20).

II. 2.3.3. Sumber radio aktif.

Sebagai sumber radio aktif pada detektor ini dapat digunakan H^3 maupun Ni^{63} . Pada umumnya detektor ini mempunyai kelemahan karena penumpukan pencemar pada permukaan radio aktif. Sumber Ni^{63} dapat dipanaskan sampai dengan $350^{\circ}C$ dan dengan demikian dapat mengurangi pengaruh pencemaran. Sedang lembar Tritium hanya dapat dipanaskan sampai dengan $220^{\circ}C$, karena bocor radio aktif (16, 20). Tabel 2 menunjukkan perbandingan kedua isotop (20).

Tabel 2 : Ciri isotop.

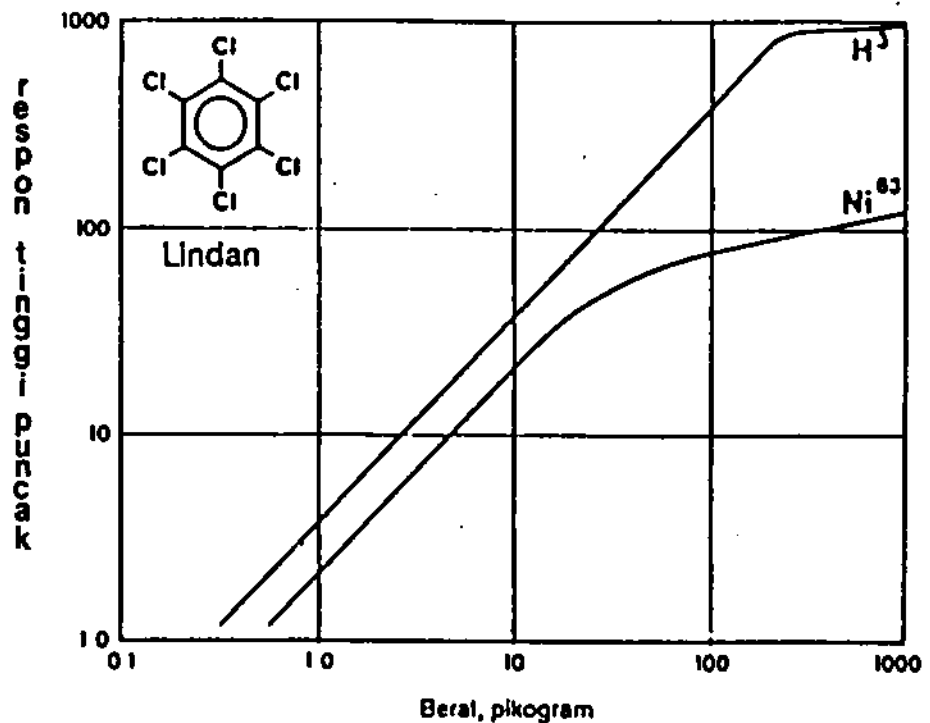
	H ³	Ni ⁶³
Waktu paruh (th)	12,5	125
Jenis peluruhan	a	a
Energi partikel	18 keV	67 keV
Aktivitas jenis	9800 Curie/g	5 Curie/g
Sifat fisika	gas	padat
Pembatasan suhu		
lembaran	220°C	350°C
Keracunan radiasi	sangat rendah	sedang
Harga per Curie	\$ 0,024	\$ 17,50

II.2.3.4. Kelinieran detektor "ECD"

Detektor "ECD" mempunyai kelemahan, yaitu rentang liniernya sempit. Gambar 8 menunjukkan perbandingan kelinieran dari detektor tangkap elektron dengan sumber radio aktif H³ dan Ni⁶³ (20).

Kurva atas adalah respon detektor H³ dan menghasilkan rentang kelinieran yang diharapkan 500 kali. Kurva bawah adalah respon detektor Ni⁶³ yang

menunjukkan kelinieran yang lebih kecil, yaitu sekitar 40 kali atau kira-kira seperduabelas detektor H^3 (20). Bagian atas atau bagian tak linier dari kurva H^3 menjadi mendatar dengan cepat, artinya jika konsentrasi terus meningkat, tinggi puncak tidak bertambah. Untuk kurva Ni^{63} menunjukkan perubahan kemiringan sedikit demi sedikit, dan ini dapat dianggap sebagai kurva kalibrasi dengan rentang kalibrasi kira-kira 1000 kali (20).



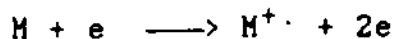
Gambar 7 : Kelinieran detektor "ECD"

Kromatografi gas dengan ketiga detektor diatas pada analisisnya mutlak memerlukan suatu standar. Bila pada suatu analisis kualitatif tidak didapatkan standar, maka dapat diatasi dengan menggunakan kromatografi gas - yang dikombinasikan dengan spektrometri massa (GC-MS), yang mana spektrometri massa sebagai detektor. Respon yang diperoleh dari GC-MS merupakan "Total ion Chromatogram" (TIC), dan setiap puncak pada kromatogram tersebut dapat dibuat spektra- massanya dengan fragmentasi tertentu. Fragmentasi suatu senyawa adalah spesifik dan tergantung dari struktur senyawa tersebut, oleh karena itu MS dapat digunakan untuk identifikasi senyawa tertentu.

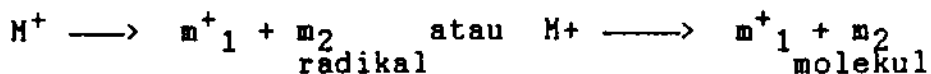
II.3. Tinjauan tentang kromatografi gas - spektra massa. (24,25)

Dalam spektrometri massa, molekul-molekul organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion bermuatan positif yang bertenaga tinggi (ion-ion molekuler atau ion-ion induk). Ion-ion ini dapat pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (ion-ion pecahan atau ion-ion anak). Lepasnya elektron dari molekul menghasilkan radikal kation

dan proses ini dapat dinyatakan sebagai berikut :



Ion molekuler M^+ biasanya terurai menjadi sepasang pecahan/fragmen, yang dapat berupa radikal dan ion, atau molekul yang kecil dan radikal kation.



Ion-ion molekuler, fragmen ion dan ion-ion radikal dipisahkan oleh pembelokan dalam medan magnet yang dapat berubah sesuai dengan massa dan muatannya, dan menimbulkan arus (arus ion) pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatif (relative abundance) masing-masing. Sedangkan partikel-partikel netral (m_2) atau radikal (m_2) yang dihasilkan dari pemecahan tidak dapat dideteksi dalam spektrometer massa.

Spektra massa yang terjadi merupakan gambar antara limpahan relatif terhadap perbandingan massa/muatan (m/e).

II.4. Analisis kualitatif dengan metode kromatografi gas (16, 20, 26) .

Analisis kualitatif dengan kromatografi gas dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu : dengan standar eksternal, standar internal, metode "spiking" dan metode "peak shifting".

II.4.1. Analisis kualitatif dengan standar eksternal.

Analisis kualitatif dengan standar eksternal dilakukan dengan membandingkan waktu retensi dari komponen sampel yang dianalisa, dengan komponen yang sudah diketahui (standart). Apabila t_R sampel sama dengan t_R standar, maka kemungkinan sampel tersebut sama dengan standar. Pengukuran dengan waktu retensi ini mempunyai kelemahan, yaitu t_R ini dapat dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu penyuntikan, sehingga meskipun zatnya sama, t_R nya dapat tidak sama. Untuk mengatasi kelemahan itu maka digunakan waktu retensi relatif (α)

II.4.2. Analisis kualitatif dengan standar internal.

Retensi relatif standar adalah ratio dari retensi larutan standar (t_{Rst}) dan retensi larutan standar yang terlebih dahulu ditambah dengan larutan standar internal (t_{Rist}).

$$a_{st} = \frac{t_{Rst}}{t_{Rist}}$$

Demikian juga untuk retensi relatif sampel, adalah ratio dari retensi sampel (t_{Rsp}) dibanding dengan retensi larutan standar yang terlebih dahulu ditambah dengan larutan standar internal (t_{Rist}).

$$a_{sp} = \frac{t_{Rsp}}{t_{Rist}}$$

Apabila hasil a_{sp} sama dengan a_{st} , maka kemungkinan sampel tersebut sama dengan standar.

Zat yang digunakan sebagai standar internal harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. Sifat kimia dan fisiknya mirip dengan sampel yang dianalisis.
2. Dalam analisis zat tersebut harus terpisah dari senyawa lain yang ada dalam sampel.

3. Puncak zat tersebut harus dielusikan dekat dengan puncak yang dielusikan.
4. Zat tersebut tidak boleh bereaksi dengan senyawa lain yang ada dalam sampel.
5. Zat tersebut harus murni dan stabil dalam penyimpanan.

II.4.3. Analisis kualitatif dengan metode "spiking" (26)

Pada metode ini waktu retensi zat yang dianalisis ditentukan terlebih dahulu (t_{R_X}), setelah itu ditentukan waktu retensi dari zat yang telah ditambah dengan standar (t'_{R_X}). Bila $t_{R_X} = t'_{R_X}$, maka zat X = standar.

II.4.4. Analisis kualitatif dengan metode "peak shifting"

Pada metode ini waktu retensi dari zat yang dianalisis dibandingkan dengan waktu retensi standar dengan parameter yang diubah-ubah, misalnya waktu retensi pada berbagai variasi suhu atau waktu retensi pada kolom yang berbeda. Bila waktu retensi zat sama dengan waktu retensi standar pada berbagai kondisi, maka zat = standar.

Bila dalam analisis kualitatif suatu senyawa tidak didapatkan adanya standar, maka perlu "option" instrumen lain, misalnya ; "infra red spectrophotometer" atau analisis dengan " mass spectra".

II.5. Analisis Kuantitatif dengan metode kromatografi gas (16, 20, 23).

Pada prinsipnya analisis kuantitatif dengan kromatografi gas didasarkan atas kenyataan bahwa tinggi atau luas puncak kromatogram berbanding lurus dengan jumlah bahan yang disuntikkan. Untuk analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan metode standar internal, standar eksternal dan standar adisi.

II.5.1. Metode Standar Eksternal (20, 23).

Cara perhitungan pada metode standar eksternal adalah sebagai berikut :

$$C_x = \frac{A_x}{A_{st}} \times C_{st}$$

Dimana : C_x = konsentrasi sampel.

C_{st} = konsentrasi standar.

A_x = luas area puncak kromatogram sampel.

A_{st} = luas area puncak kromatogram standar.

Persamaan ini dapat berlaku apabila ada hubungan linier antara kadar dan luas area puncak kromatogram, baik untuk zat yang dianalisis dan untuk standar. Kelemahan dari metode standar eksternal ini adalah adanya kesalahan karena kecepatan waktu penyuntikan yang berbeda dan kemungkinan perbedaan volume penyuntikan. Kelemahan ini diatasi dengan metode standar internal.

II.5.2. Metode standar internal (23,41).

Standar internal ini ditambahkan ke dalam sampel, kemudian dilakukan analisis simultan bersama sampel. Cara perhitungan dengan standar internal adalah sebagai berikut :

$$\frac{A_x}{A_{ist}} = K C_x$$

Dimana :

$$K = f_x / f_{ist} \cdot C_{ist}$$

f_x / f_{ist} = perbandingan faktor respon detektor sampel terhadap faktor respon detektor standar internal.

C_x = konsentrasi sampel

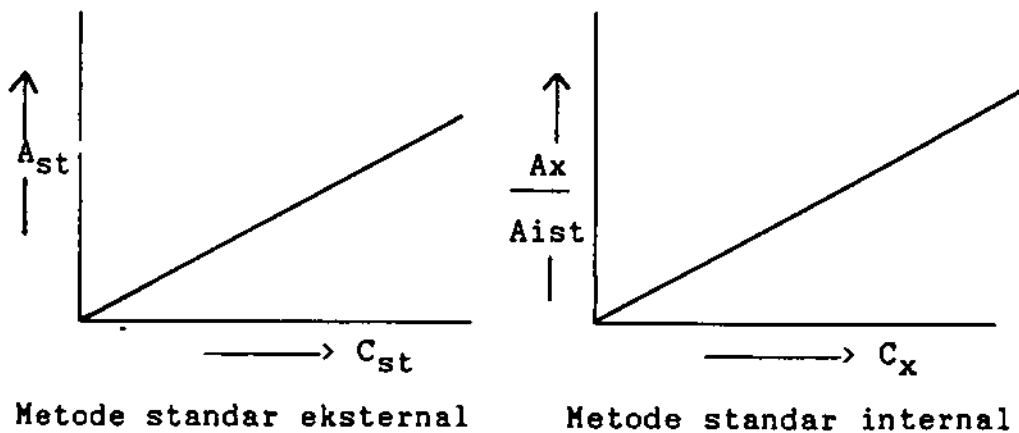
C_{ist} = konsentrasi standar internal.

A_x / A_{ist} = perbandingan luas puncak kromatogram

sampel terhadap luas puncak kromatogram standar internal.

Persamaan diatas dapat berlaku apabila ada hubungann linier antara perbandingan luas puncak kromatogram standar internal terhadap konsentrasi standar.

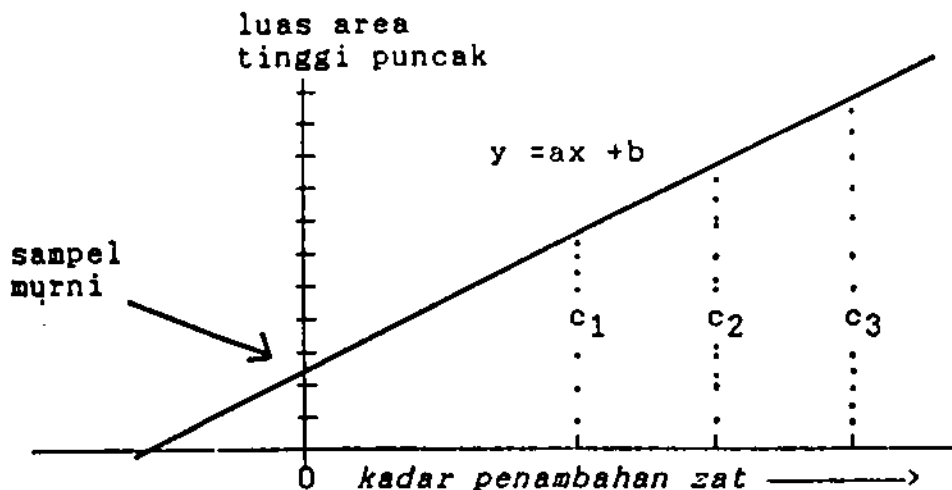
Dari persamaan-persamaan diatas dapat digambar-kan kurva kaliberasinya sebagai berikut (gambar 9):



Gambar8: Kurva kaliberasi metode standar eksternal dan metode standar internal.

II.5.3. Metode standar adisi (23).

Pada metode ini untuk penetapan kadar ditambahkan standar yang sama dengan sampel pada kadar yang berbeda, sehingga didapatkan kurva linier hubungan antara kadar zat dengan luas area puncak kromatogram, (gambar 9)



Gambar 9 : Kurva metode standar adisi.

Keterangan:

Ekstrapolasi kurva kearah kiri memotong sumbu y akan didapat harga b yaitu harga luas atau tinggi puncak tanpa penambahan zat standar, berarti b merupakan harga luas atau tinggi puncak milik sampel saja. Harga $-b/a$ adalah harga terukur dari sampel.

II.6. Tinjauan tentang derivatisasi pada kromatografi gas. (16, 17, 27).

Derivatisasi pada kromatografi gas dilakukan dengan beberapa maksud, antara lain untuk menurunkan titik didih, memperoleh senyawa yang stabil, memperoleh selektifitas yang lebih baik dan untuk memperkecil batas deteksi. Derivatisasi pada kromatografi gas akan sangat bermanfaat bila memenuhi

beberapa hal, antara lain (17) :

1. Derivat yang terbentuk dapat suatu cairan atau padat yang mempunyai titik leleh rendah dan mudah menguap pada "injection port" dari kromatografi gas, tanpa ada dekomposisi dan "rearrangement."
2. Derivat yang terbentuk sangat berbeda dengan senyawa asal dan mempunyai Rf yang sangat berbeda pada kolom yang berbeda polaritas.
3. Reaksi derivatif lengkap dalam 30 menit dengan hasil yang baik, tanpa hasil samping, walaupun ada sangat sedikit.
4. Reagen yang digunakan mudah didapat.
5. Reaksi derivatif dapat komplit atau mendekati komplit, mudah dimurnikan bila hasil derivatif memerlukan pemurnian.

Derivatisasi pada kromatografi gas dapat dilakukan dengan asetilasi, metilasi atau sililasi (16, 17, 27). Untuk asetilasi prakolom derivator yang sering digunakan trifluoroasetat anhidrat dan digunakan detektor ECD (Electron Capture Detector). Metilasi biasanya memakai derivator trimetilamin hidoksida dalam metanol, dan untuk sililasi dipakai trimetil silil atau senyawa yang sejenis (16, 17).

II.7. Validasi metode analisis.

Suatu metode analisis yang bertugas mengidentifikasi dan mengkuantifikasi senyawa kimia dalam kadar yang kecil, disebut analisis runut (18).

Analisis residu pestisida merupakan analisis runut dan salah satu aspek penting pada analisis runut adalah validasi metode (18).

Ada beberapa parameter validasi yang dapat dijadikan pedoman, antara lain : *selektifitas, linieritas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)* (19).

Selektifitas adalah kemampuan membedakan antara zat yang dianalisis dengan zat lain yang tidak dikehendaki (28). Pada kromatografi gas sistem yang dipakai harus selektif untuk zat yang ditentukan. Ini berarti bahwa puncak zat tersebut pada kromatogram harus terpisah dari puncak zat lain, misalnya saja zat yang strukturnya mirip atau zat lain yang mungkin mengganggu. Pada harga resolusi (R_s) = 1,5 hanya terdapat 0,3 % puncak kromatogram yang " overlap " (10). Jadi agar terjadi pemisahan yang baik, maka harga resolusi = 1,5 atau lebih besar.

Linieritas ditunjukkan dengan adanya hubungan yang

linier antara respon dengan konsentrasi zat yang dianalisis pada kondisi yang terpilih. Pada umumnya dibuat kurva linier dengan konsentrasi 25 - 200 % dari kadar yang dianalisis (33). Dapat juga kurva linieritas dibuat 80 - 120 % dari kadar zat yang dianalisis (19).

Batas deteksi (*Limit of detection*) adalah batas kadar terkecil zat yang dianalisis, yang masih dapat dideteksi dan menghasilkan respon yang bermakna dan dapat dibedakan dari "blank" (30).

Batas kuantitasi (*Limit of quantitation*) adalah batas kadar terkecil zat yang dianalisis dengan presisi dan akurasi yang baik (19, 30).

Akurasi suatu metode adalah seberapa dekat hasil analisis terhadap kadar zat yang sebenarnya. Jadi akurasi merupakan ukuran ketepatan metode analisis dan biasanya dinyatakan dengan % "recovery". Harga % "recovery" yang memenuhi persyaratan bervariasi tergantung prosedur yang dipakai, komposisi dan sifat matrik sampel. Untuk analisis runtu cemaran organik harga % "recovery" antara 80 - 120 % (18). Menurut Anson Moye untuk analisis residu

pestisida harga % "recovery" sebaiknya > 85 % (12). Bila harga yang % "recovery" yang dianggap benar 100 % dan presisi yang diperbolehkan 10 %, maka harga akurasi yang baik adalah 90 - 110 %.

Presisi adalah suatu ukuran derajat keterulangan (reproducibility) metode analisis. Presisi menyatakan hasil yang didapat berulang-ulang. Ada beberapa macam ukuran presisi, yang paling umum dipakai adalah standar deviasi dan koefisien variasi atau "relative standar deviation" (RSD). Untuk residu pestisida presisi 10 % asalkan konsisten pada semua replikasi masih dianggap memenuhi persyaratan (12).

Untuk pengolahan data selain parameter diatas, ada beberapa parameter yang harus ditentukan yaitu (29):

1. *Parameter untuk pengolahan puncak ("peak processing parameter")* terdiri dari :

- "Width" adalah lebar dasar minimal dari puncak dalam detik.

- "Slope" adalah sensitifitas ($\mu\text{v}/\text{menit}$) merupakan tangensial sudut minimal puncak.

- "Drift" adalah derajat variasi garis dasar ("base line"), yaitu evaluasi tinggi puncak terha-

dap "drift base line".

- "Minimal area" adalah luas area terkecil yang masih diperhitungkan.

2. *Parameter pencatat ("recording parameter")* terdiri dari :

- "Attenuation" adalah faktor pengecilan "signal".
- "Chard speed" adalah kecepatan kertas (mm/menit).

II.8. Penyediaan sampel untuk Analisis Pestisida (8, 14, 31).

Secara umum analisis residu pestisida meliputi tahap-tahap sebagai berikut:

1. Ekstraksi.
2. Pemurnian (clean up) hasil ekstraksi.
3. Analisa hasil ekstraksi yang telah dimurnikan, secara kualitatif dan kuantitatif.

II.8.1. Ekstraksi (8).

Untuk mengekstraksi pestisida dari suatu substrat diperlukan suatu pelarut organik. Suatu metode ekstraksi yang ideal adalah, dengan sekali ekstraksi hendaknya semua pestisida yang terdapat dalam sampel

dapat tertarik. Tiap jenis pelarut organik mempunyai daya ekstraksi yang berbeda terhadap berbagai pestisida. Terdapat beberapa pelarut yang sangat efektif terhadap pestisida, tetapi juga menarik serta bahan-bahan alam yang terdapat pada substrat (ko-ekstraktan yang dapat mengganggu pada penetapan selanjutnya). Selain itu perlu diperhatikan toksisitas dari pelarut, kemudahan untuk memurnikannya, menguapkan dan menyaring, serta segi harganya. Pelarut organik yang sering digunakan pada ekstraksi pestisida antara lain : eter, petroleum eter, kloroform, diklormetan, aseton, heksana, asetoni-tril, etilasetat, isopropanol dan metanol. Kombinasi dari pelarut-pelarut diatas juga sering digunakan.

II.8.2. Pemurnian hasil ekstraksi (8 ,31).

Untuk membebaskan ko-ekstraktan yang terdiri dari bahan-bahan alami didalam ekstrak, maka harus dilakukan pemurnian. Cara pemurnian hasil ekstraksi yang biasa dilakukan adalah dengan jalan partisi dalam dua pelarut yang tidak tercampur, dengan cara kimia misalnya oksidasi dan saponifikasi, secara fisika dengan jalan destilasi.

Pemisahan hasil ekstraksi dalam fraksi-fraksi

(fraksinasi) dapat menyempurnakan pemurniannya.

Biasanya dilakukan dengan kolom kromatografi adsorpsi. Sebagai adsorben dapat digunakan alumina, silika gel, karbon aktif, dan yang banyak dipakai adalah florisisil (magnesium silikat artifisial). Untuk elusinya dipakai pelarut atau campuran pelarut organik dengan berbagai perbandingan. Dari hasil kolom kromatografi adsorpsi akan diperoleh fraksi-fraksi eluat yang mengandung pestisida atau golongan pestisida yang telah terpisah-pisah, dan ini akan membantu dalam identifikasi selanjutnya.

II.8.3. Analisa hasil ekstraksi yang telah dimurnikan (8, 14).

Analisa eluat yang telah dimurnikan yang paling umum dilakukan sampai saat ini adalah dengan cara kromatografi gas. Dibandingkan cara-cara lain seperti kolorimetri, spektrofotometri, potenciometri, enzimatik, kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis, metode kromatografi gas mempunyai beberapa keuntungan, antara lain :

1. Memungkinkan analisa simultan dari berbagai residu pestisida yang mungkin terdapat dalam suatu bahan yang diperiksa.

2. Dengan adanya detektor yang spesifik atau selektif, dapat dilakukan analisa kualitatif dan kuantitatif pestisida pada kadar relatif rendah.

Untuk analisa pestisida dalam air laut , telah dilakukan studi oleh Wilson dan Forester untuk melihat efektifitas beberapa pelarut pada ekstraksi DDT pada air laut. Telah dibandingkan efektifitas pemakaian petroleum eter, 15% etileter dalam heksana dan diklormetan (14). Dari studi ini didapatkan bahwa pemakaian diklormetan lebih efektif dibandingkan dengan pelarut yang lain. Pada penelitian yang lain juga dibandingkan efektifitas pemakaian petroleum eter dan diklormetan pada ekstraksi DDT dari air laut dan air suling. Ternyata pemakaian diklormetan juga lebih efektif (14).

Untuk melihat efektifitas fraksinasi pada analisis pestisida dalam air, telah dilaporkan penelitian beberapa karbamat dalam air dengan tehnik kromatografi gas, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan diklormetan dan dilakukan fraksinasi kolom. Pada penelitian tersebut dibandingkan hasil "recovery" beberapa karbamat dari sampel yang hanya dilakukan ekstraksi dan sampel yang mengalami ekstraksi dilanjutkan dengan fraksinasi.

Hasil "recovery" karbofuran dan propoxur tanpa fraksinasi 96 %, sedangkan dengan fraksinasi masing-masing 95 % dan 100 %. Untuk karbamat yang lain yaitu karbaril tanpa fraksinasi didapatkan "recovery" 100%, sedangkan dengan fraksinasi 68% (14). "Recovery" pestisida 2-isopropilfenil N-netilkarbanat tanpa fraksinasi, maupun dengan fraksinasi belum pernah dilakukan.

Dari hasil penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa untuk analisis pestisida karbanat dalam air, sebaiknya dilakukan ekstraksi dengan diklornetan dan tanpa dilakukan fraksinasi. Karena itu untuk analisis pestisida 2-isopropilfenil N-netilkarbanat (Mipcin), dilakukan ekstraksi dengan diklornetan dan tanpa dilakukan fraksinasi.

Pada penentuan kadar karbanat dalam sampel air, dibuat sampel artifisial dengan menakai air sungai, karena pada penelitian terdahulu diketahui limit deteksi pada sampel air sungai lebih besar dari pada limit deteksi bila digunakan aquademineralisata (32). Sebagai perbandingan juga digunakan sampel air suling.

II.9. Tinjauan tentang pestisida.

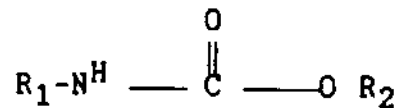
Menurut peraturan pemerintah R.I. No.7. Tahun 1973, yang dimaksud dengan pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang dipergunakan untuk :

1. Memberantas atau mencegah hama-hama dan penyakit yang merusak tanaman, bagian-bagian tanaman atau hasil-hasil pertanian.
2. Memberantas rerumputan.
3. Menatikan daun dan mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan.
4. Mengatur atau merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian-bagian tanaman tidak termasuk pupuk.
5. Memberantas atau mencegah hama-hama luar pada hewan-hewan piaraan dan ternak.
6. Memberantas atau mencegah hama-hama air.
7. Memberantas atau mencegah binatang-binatang dan jasad-jasad renik dalam rumah tangga, bangunan dan dalam alat-alat pengangkutan.
8. Memberantas atau mencegah binatang-binatang yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia atau binatang yang perlu dilindungi dengan penggunaan pada tanaman, tanah atau air.

Berdasarkan struktur kimianya, pestisida digolongkan atas : pestisida anorganik (misalnya timbal arsenat, kalsium arsenat), pestisida organik alam (rotenon, nikotin) dan pestisida organik sintetik. Golongan pestisida organik sintetik diklasifikasikan atas : golongan organoklorin (DDT, Aldrin, BHC), golongan organofosfat (Diazinon, Malation, Parathion), golongan Karbamat (Mipcin, Karbofuran, BPMC) dan golongan kumarin (Tomorin) (1, 2).

II.8. Tinjauan tentang pestisida Karbamat.

Pestisida karbamat merupakan suatu ester asam karbamat dengan substitusi pada N. Secara umum rumus strukturnya sebagai berikut (9) :

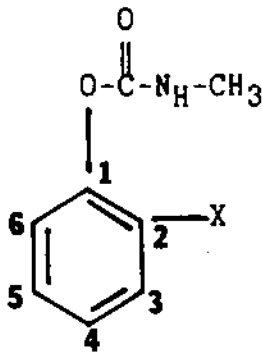


Dimana R^2 merupakan gugus aromatik atau alifatik.

Ada 3 golongan pestisida karbamat yaitu (9);

1. Insektisida karbamat : bila R^1 = gugus metil.
2. Herbisida karbamat : bila R^1 = gugus aromatik.
3. Fungisida karbamat: bila R^1 = gugus benzimidazol.

Beberapa contoh insektisida karbamat yang sering digunakan, dimana R^2 merupakan gugus fenil tersubstituti (13) :



Nama dagang	Substitusi pada fenil (X)
Baygon	2-OCH- (CH ₃) ₂
Butacarb	3,5 - di-C-(CH ₃) ₂
Baycarb	2-CH-CH- (CH ₃) ₂
Landrin	3,4,5-tri- CH ₃ dan 2,3,5- tri-CH ₃
Mipcin	2-CH- (CH ₃) ₂

Pestisida Mipcin dengan nama kimia 2-isopropilfenil N-metilkarbamat mempunyai titik leleh 96°C dan titik didih 128°C (20 mm Hg). Mudah dilarutkan dalam aseton, metanol, etanol, etil asetat, sedikit larut dalam pelarut petroleum, pelarut hidrokarbon. Tidak stabil dalam suasana alkalis dan asam kuat (13).

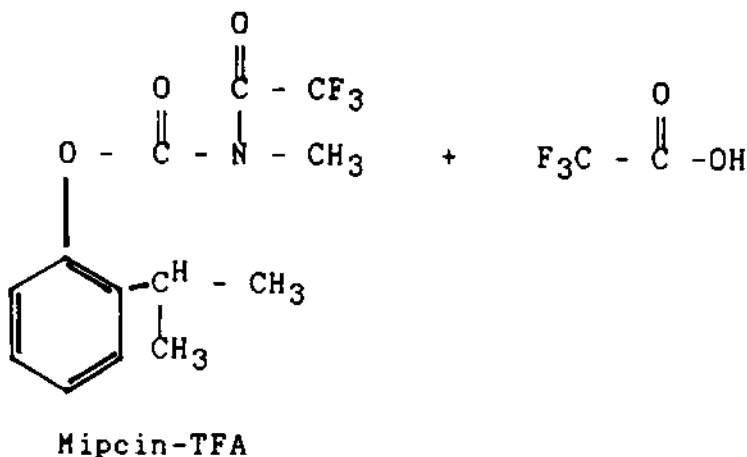
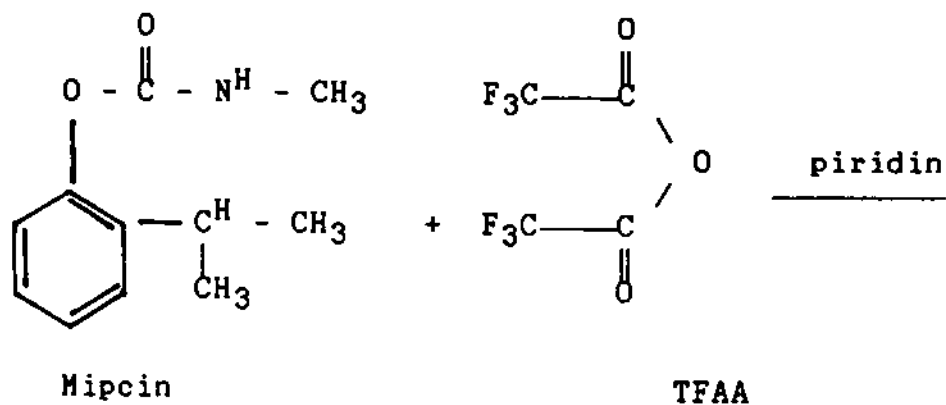
II.10.1. Tinjauan tentang analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat.

Analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat dapat dilakukan tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi. Derivatisasi pada beberapa senyawa karbamat akan memperbaiki "recovery" (13, 14). Telah dilakukan derivatisasi beberapa karbamat dengan menggunakan TFAA dan masih

didapatkan puncak yang baik pada suntikan sebesar 1 ng, tetapi pada analisis ini batas deteksi senyawa-senyawa tersebut tidak dilaporkan (15).

Pada penelitian ini akan dibandingkan bagaimana pengaruh derivatisasi dengan menggunakan TFAA terhadap *akurasi, presisi, batas deteksi dan batas kuantitasi* pada analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat.

Reaksi yang terjadi pada derivatisasi dengan TFAA, adalah sebagai berikut (15, 34):



BAB III

BAHAN, ALAT DAN METODE

III.1. Bahan

Kecuali disebutkan lain, bahan kimia yang digunakan adalah dengan derajat pro analisa.

- Pestisida *2-isopropilfenil N-metilkarbanat* (*Mipcin*) baku (Wako)
- Pestisida BPMC (Petrosida).
- Diklormetan .
- Na₂SO₄ anhidrat.
- Etil asetat derajat pro kromatografi.
- Piridin bebas H₂O .
- Trifluoro asetat anhidrat pro kromatografi gas.
- Dietileter.
- Normal heksana.

III.2. Alat.

- Kromatografi Gas Hitachi 163 dilengkapi dengan:

Kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80, panjang 2m, ID 3 mm.

"Flame Ionization Detektor" (FID)

" Elektron Capture Detektor NI^{63} " (ECD)

Integrator Chromatopac tipe CR 3A.

- Gas pembawa : N_2 derajat UHP (ultra high purity).
- Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS)
Jeol. JMS-DX 303.

III.3. Metode.

III.3.1. Pembuatan larutan baku induk dan baku kerja Mipcin .

Ditimbang Mipcin baku secara teliti sebanyak 100,0 mg, dilarutkan dalam etil asetat sampai volume 100,0 ml. Kadar larutan baku induk ini 1000 ppm. Dari larutan baku induk ini dibuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm , 40 ppm , 80 ppm, 100 ppm, 160 ppm dan 320 ppm.

.III.3.2. Pembuatan sampel air suling yang " mengandung" Mipcin (31).

Dibuat sampel air suling yang " mengandung" Mipcin sebanyak 5 kadar, yaitu 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm .

Masing-masing sampel sebanyak 250,0 ml

diekstraksi dengan diklormetan sebanyak 50 ml. Ekstraksi dilakukan 2 kali. Fraksi diklormetan dikumpulkan dan ditambah Na_2SO_4 anhidrat, kemudian disaring. Hasil penyaringan dipekatkan dengan "rotavapor" pada temperatur 40°C . Hasil penekatan dimasukkan vial dan dialiri gas N_2 sampai kering, kemudian dilarutkan dengan etil asetat 2,0 ml. Bila analisis dilakukan tanpa derivatisasi, maka sampel ini langsung disuntikkan pada kromatografi gas. Bila analisis dilakukan melalui derivatisasi, maka reaksi derivatisasi dilakukan terlebih dahulu. Skema percobaan dapat dilihat pada lampiran I.

.III.3.3. Pembuatan sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin

Dibuat sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin sebanyak 5 kadar, yaitu 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm.

Perlakuan selanjutnya sama seperti terhadap sampel air suling.

.III.3.4. Analisis pestisida Mipcin tanpa derivatisasi.

Menurut SK Menteri KLH No.02/MenKLH/I/1988 kadar pestisida dalam air yang digunakan untuk baku

air minum, maksimum 0,100 mg/L (0,1 ppm). Untuk analisis pestisida tersebut, sebelumnya perlu dilakukan validasi metode yang digunakan. Adapun parameter-parameter yang digunakan adalah : selektifitas, linieritas, batas deteksi, batas kuantisasi, akurasi dan presisi (18, 19).

III.3.4.1. Selektifitas dari Mipcin.

Yang dimaksud dengan selektifitas adalah kemampuan membedakan zat yang dianalisis dengan zat lain yang tidak diinginkan (23). Pada analisis pestisida Mipcin ini berarti puncak Mipcin pada kromatogram harus terpisah dari puncak zat lain, misalnya zat lain yang strukturnya mirip atau komponen matrik sampel. Pada penentuan selektifitas ini digunakan zat yang strukturnya mirip dengan Mipcin, yaitu BPNC.

Mipcin dan BPNC masing-masing disuntikkan pada berbagai kondisi, dan dipilih kondisi yang terbaik. Agar terjadi pemisahan yang baik maka harga resolusi (R_s) sebaiknya 1,5 atau lebih besar dan harga α lebih besar 1 (10). Pada kondisi terpilih juga disuntikkan campuran Mipcin dan BPNC bermacam-macam kadar, apakah harga R_s dan α tidak berubah.

$$R_s = \frac{2 (t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

$$\alpha = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}$$

Dimana: t_{R1} = waktu retensi Mipcin

t_{R2} = waktu retensi BPMP

W_1 = lebar puncak pada alas dari Mipcin.

W_2 = lebar puncak pada alas dari BPMP.

Kromatografi gas diatur pada kondisi optimal untuk analisis Mipcin tanpa derivatisasi:

Kondisi optimal ini dicari pada berbagai variasi suhu dan laju aliran gas pembawa, sehingga didapatkan kondisi dimana harga $R_s > 1,5$ dan harga $\alpha > 1$ pada 2 kromatogram yang berurutan. Pada kromatografi gas dengan detektor FID pada umumnya kepekaan dan kemantapan yang baik didapatkan pada aliran gas pembawa 30 ml/menit, aliran hidrogen 30 ml/menit dan aliran udara 300 ml/menit (16,20).

Pada analisis Mipcin ini laju aliran gas pembawa dibuat 30 ml/menit, dengan demikian optimasi dilakukan pada berbagai temperatur. Pada penelitian yang dilakukan Hari Purnomo dan kawan-kawan (35) analisis Mipcin dilakukan pada temperatur kolom 185°C dan didapatkan hasil yang baik, karena itu

optimasi pada penelitian ini dilakukan pada temperatur sekitar 185°C.

Amplifier pada kromatografi gas diatur pada kondisi:

"Attenuation" = 1

" Range" = 10^2

Parameter pengolahan puncak ("peak processing parameter") dan parameter pencatat ("recording parameter") dari integrator Chromatopac CR-3A diatur pada kondisi sebagai berikut :

"Width" = 5

"Drift" = 0

"Slope" = 57,1199 (ditentukan dengan S tes).

"Minimum area" = 57,1199.

"Chard speed" = 5

"Attenuation" = 0 pada penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi.

"Attenuation" = 0,1 pada penentuan akurasi dan presisi.

III. 3.4.2. Linieritas dari HipcIn

Untuk mengetahui apakah luas area kromatogram dapat digunakan sebagai dasar penentuan kadar, maka diperlukan uji kelinieran regresi dan evaluasi

garis regresi antara kadar Mipcin dan luas area kromatogram. Untuk keperluan ini dibuat beberapa kadar dari Mipcin baku dalam etil asetat dan ditentukan luas area puncak kromatogram.

Dari data yang diperoleh dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi (uji t untuk koefisien regresi dan uji F untuk evaluasi garis regresi). Bila dari uji t diperoleh harga $p < 0,05$ maka harga koefisien regresi signifikan. Bila dari uji F diperoleh harga $p < 0,05$, maka persamaan garis regresi yang diperoleh linier dan valid (40).

III 3.4.3. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dari Mipcin

Yang dimaksud dengan batas deteksi (Limit of detection) adalah kadar terendah dari analit yang masih dapat dideteksi dan menghasilkan respon yang bermakna dan dapat dibedakan dari "blank" (30).

Yang dimaksud dengan batas kuantitasi (Limit of quantitation) adalah kadar terkecil dari analit dengan presisi dan akurasi yang baik (19, 30).

Untuk menghitung LOD dan LOQ dapat dipakai rumus Carr dan Wahlich yaitu :

$$c = k \cdot S_B / S$$

c = konsentrasi pada LOD dan LOQ

k = konstante, untuk LOD = 3 dan LOQ = 10

S_B = standar deviasi "analytical blank signal"

S = sensitivitas slope.

Cara menentukan harga S

Larutan baku kerja Mipcin 0,5 ppm, 1 ppm, 2,5 ppm, masing-masing disuntikkan sebanyak 1 μ L. Dari data kromatogram ditentukan kadar terkecil yang masih memberikan respon (pada kondisi ini dipakai attenuation terkecil). Harga ratio tinggi respon (S) dan tinggi "noise" (N), tidak boleh lebih kecil atau sama dengan 5 ($S/N < 5$). Setelah kadar terkecil ini didapatkan, maka dibuat 4 kadar yang lebih besar.

Pada penentuan harga S ini, masing-masing larutan disuntikkan sebanyak 1 μ L dan dilihat hubungan antara kadar zat dan tinggi puncak. Dari perhitungan didapatkan persamaan garis regresi, dan "slope" persamaan garis ini = harga S .

Cara menentukan harga S_B

Untuk menentukan harga S_B , disuntikkan eluen saja dan diukur jarak puncak tertinggi dan terendah dari "noise" pada daerah 20 x lebar puncak Mipcin, sehingga didapatkan harga N_{p-p} , dan harga $S_B = N_{p-p} / 5$. Sehingga dengan demikian harga LOD dan LOQ dapat dihitung, dimana :

$$LOD = 3 \times S_B / S$$

$$LOQ = 10 \times S_B / S$$

III.3.4.4. Penentuan akurasi pada analisis Mipcin tanpa derivatisasi.

Untuk menentukan akurasi metode analisis tanpa derivatisasi, maka dari lima kadar sampel pada butir III.3.2. masing-masing disuntikkan 1 μ L, dan dihitung harga % recoverynya. Untuk residu pestisida harga % recovery sebaiknya > 85 % (12), bila harga yang dianggap benar 100% dan presisi 10 % masih dianggap baik, maka akurasi yang baik adalah 90 -100% .

$$\% \text{ "recovery"} = \frac{\text{kadar yang didapat}}{\text{kadar sesungguhnya}} \times 100 \%$$

Metode mempunyai akurasi yang baik bila tidak ada beda signifikan pada $\alpha = 0,05$ antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar. Untuk ini dilakukan uji t satu sampel (38).

$$t = \left(\bar{x} - \mu \right) \frac{\sqrt{n}}{SD}$$

Keterangan :

μ = harga yang dianggap benar

\bar{x} = harga rata-rata

n = jumlah sampel

SD = standar deviasi.

III.3.4.5. Penentuan presisi pada analisis pestisida Mipcin tanpa derivatisasi..

Untuk penentuan presisi dihitung harga koefisien variasi (K.V.) f , maka didapatkan koefisien variasi dari metode analisis (" reproducibility"). Dalam hal ini semakin kecil harga K.V., semakin teliti harga percobaan. Pada metode analisis dengan kromatografi gas harga presisi 3% dianggap baik (10,20), tetapi untuk analisis residu pestisida presisi 10% masih dianggap memenuhi persyaratan (12) .

III.3.5. Analisis pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan trifluoro asetat anhidrat (15).

Sampel pestisida dalam pelarut etil asetat diambil 0,2 ml, ditambah piridin bebas air 0,1 ml dan ditambah trifluoro asetat anhidrida (TFAA) 0,2 ml. Diamkan pada temperatur kamar selama 30 menit. Kemudian ditambah dietil eter 0,3 ml, dan tambahkan normal heksana sampai volume 5,0 ml. Kocok dengan air suling 5 ml untuk menghilangkan sisa hasil derivatisasi. Fase heksana dipisahkan dan ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat, kemudian disaring, hasil ini langsung disuntikkan pada kromatografi gas (skema derivatisasi pada lampiran II).

III.3.5.1. Analisis kualitatif hasil derivatisasi pestisida Mipcin dengan trifluoro asetat anhidrat.

Senyawa hasil derivatisasi Mipcin-TFA perlu dibuktikan, apakah sesuai dengan senyawa yang diharapkan. Karena tidak didapatkan senyawa baku yang sesuai, maka untuk ini dipakai instrumen kromatografi gas - spektra massa, dimana akan diketahui berapa berat molekul dari senyawa hasil derivatisasi tersebut (Mipcin-TFA)

Analisis derivatisasi ini dilakukan pada temperatur dibawah temperatur analisis tanpa derivatisasi, karena pada umumnya senyawa hasil derivatisasi mempunyai titik didih lebih rendah dari senyawa induknya.

Pada penentuan selektifitas selain Mipcin, digunakan zat lain yang strukturnya mirip dengan Mipcin yaitu BPMC. Karena itu selain hasil derivatisasi Mipcin (Mipcin-TFA), perlu dilihat juga senyawa hasil derivatisasi dari BPMC (BPMC-TFA). Hasil ini dibandingkan dengan spektra massa dari Mipcin dan BPMC sebelum derivatisasi.

Pada analisis kualitatif dengan kromatografi gas-spektra massa digunakan kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80, panjang 2m, ID 3mm.

III.3.5.2. Analisis kuantitatif pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan trifluoro asetat anhidrat.

Pada analisis melalui derivatisasi ini analog dengan analisis tanpa derivatisasi, ditentukan selektifitas, linieritas, penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi, akurasi dan presisi.

III.3.5.2.1. Selektifitas Mipcin-TFA.

Pada analisis melalui derivatisasi ini kromatografi gas diatur pada kondisi optimum sebagai berikut :

Detektor : Tangkap Elektron Ni⁶³ (ECD)

Kolom : Silicon DC-200 P 10% Uniport 60/80 .

Gas pembawa : Gas N₂ derajat UHP.

Kondisi temperatur dan kolom yang digunakan pada analisis kuantitatif dengan memakai kromatografi gas-detektor ECD, dibuat sama dengan kondisi pada analisis kualitatif dengan memakai kromatografi gas -spektra massa. Jadi temperatur kolom pada analisis kuantitatif sama dengan temperatur kolom pada analisis kualitatif. Dengan demikian maka optimasi dilakukan pada berbagai aliran gas pembawa.

Amplifier pada kromatografi gas = pada analisis tanpa derivatisasi.

Parameter pengolahan puncak dan parameter pencatat = pada analisis tanpa derivatisasi, kecuali :

"Slope" = 110,881 (ditentukan dengan S tes).

"Minimum area = 110,881.

Pada penentuan selektifitas ini, campuran hasil derivatisasi dari Mipcin (Mipcin-TFA) dan

hasil derivatisasi dari BPMS (BPMS-TFA) disuntikkan pada berbagai kondisi . Agar terjadi penisahan yang baik, maka harga R_s harus sama dengan 1,5 atau lebih besar. Demikian juga harga α harus lebih besar dari 1. Pada kondisi terpilih disuntikkan berbagai kadar campuran Mipcin-TFA dan BPMS-TFA, apakah pada kondisi ini harga R_s dan α tidak berubah.

$$R_s = \frac{2 (t_{Rb} - t_{Ra})}{2 (W_b + W_a)}$$

$$\alpha = \frac{t_{Rb}}{t_{Ra}}$$

Dimana :

t_{Ra} = waktu retensi Mipcin-TFA.

t_{Rb} = waktu retensi BPMS-TFA.

W_a = lebar puncak pada alas dari Mipcin-TFA

W_b = lebar puncak pada alas dari BPMS-TFA.

III.3.5.2.2. Linieritas dari Mipcin-TFA.

Untuk mengetahui apakah luas area kromatogram dapat digunakan sebagai dasar penentuan kadar, maka diperlukan uji kelinieran regresi dan kemaknaan regresi antara kadar Mipcin-TFA dan luas area kromatogram . Untuk ini dibuat Mipcin-TFA beberapa

kadar, dan ditentukan luas area puncak kromatogram. Dari data yang diperoleh dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi (uji t untuk koefisien regresi dan uji F untuk evaluasi garis regresi. Bila dari uji t diperoleh harga $p < 0,05$, maka harga koefisien regresi signifikan. Bila dari uji F diperoleh harga $p < 0,05$, maka persamaan garis regresi yang didapat linier dan valid.

III.3.5.2.4. Penentuan akurasi pada analisis Mipcin melalui derivatisasi.

Cara penentuan akurasi metode melalui derivatisasi analog dengan cara penentuan tanpa derivatisasi.

III.3.5.2.5. Penentuan presisi pada analisis pestisida Mipcin melalui derivatisasi.

Presisi metode dapat diketahui dengan menghitung koefisien variasi (K.V.). Dalam hal ini semakin kecil harga K.V semakin teliti harga percobaan. Untuk analisis kromatografi gas K.V 1 - 3 % masih dianggap baik (10, 20), tetapi untuk analisis residu pestisida presisi 10 % masih dianggap memenuhi persyaratan (12).

III.3.6. Komparasi antara metode analisis pestisida 2-isopropilfenil N-metilkarbamat tanpa derivatisasi dan analisis melalui derivatisasi

Komparasi metode analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi dilakukan dengan:

1. Untuk hasil akurasi dapat dibandingkan dengan uji t sepasang, bila harga $p > 0,05$, maka tidak ada perbedaan signifikan antara metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi (38).

2. Untuk presisi dapat dilakukan uji F, bila pada $\alpha = 0,05$ harga $F_{hitung} < F_{tabel}$, maka tidak ada perbedaan signifikan antara presisi metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi (41).

$$F = \frac{(S_1)^2}{(S_2)^2}$$

dimana :

S_1 = standar deviasi metode tanpa derivatisasi

S_2 = standar deviasi metode melalui derivatisasi.

III.3.7. Evaluasi linieritas respon detektor ECD Ni^{63} terhadap kadar Mipcin-TFA

Seperti telah diketahui detektor ECD mempunyai kelemahan yaitu rentang liniernya sempit, dan pada daerah tertentu bentuk kurvanya akan makin landai, dimana kenaikan kadar akan membuat kenaikan luas area yang hanya sedikit. Hal ini terlihat pada kurva kelinieran dari Lindan terhadap detektor ECD Ni^{63} seperti pada gambar 7.

Untuk senyawa hasil derivatisasi Mipcin-TFA perlu dilakukan evaluasi, apakah hubungan kadar Mipcin-TFA terhadap respon detektor ECD Ni^{63} berbentuk kurva linier ataukah berbentuk kurva non linier seperti pada Lindan. Untuk ini perlu dilihat bentuk persamaan yang lebih cocok dengan membandingkan harga koefisien determinasi (r^2) dan kemaknaan harga F persamaan kurva linier dan persamaan kurva non linier dari persamaan regresi hubungan kadar dan luas area baku Mipcin-TFA, sampel air suling dan sampel air sungai.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

IV.1. Analisis pestisida Mipcin tanpa derivatisasi.

IV.1.1. Hasil penentuan selektifitas.

Pada penentuan selektifitas, selain Mipcin digunakan senyawa lain yang strukturnya mirip dengan Mipcin yaitu BPMC. Dibuat larutan Mipcin/etil asetat dengan kadar 40,0 ppm dan larutan BPMC/etil asetat 42,0 ppm. Kemudian disuntikkan 2 μ L dari larutan campuran Mipcin dan BPMC sama banyak. Untuk detektor FID umumnya kepekaan didapatkan pada kecepatan gas pembawa 30 ml/menit, karena itu pada penentuan selektifitas ini kecepatan gas N_2 diatur 30 ml/menit (20). Dari penelitian Hari Purnomo dan kawan-kawan diketahui analisis Mipcin pada temperatur kolom 185°C memberikan hasil yang baik (35). Karena itu untuk penelitian ini optimasi dilakukan pada temperatur sekitar 185°C, yaitu 175°C, 180°C, 185°C, 190°C dan 195°C. Hasil kromatogram Mipcin dan BPMC berbagai temperatur dapat dilihat pada gambar 10.

Kromatogram I diperoleh pada kondisi temperatur kolom 175°C, temperatur injektor dan detektor 225°C. Pada kondisi ini harga resolusi (R_s) = 4,286 dan harga retensi relatif (α) = 1,32.

Kromatogram II diperoleh pada kondisi temperatur kolom 180°C, temperatur injektor dan detektor 230°C. Pada kondisi ini harga $R_s = 3,54$ dan harga $\alpha = 1,309$.

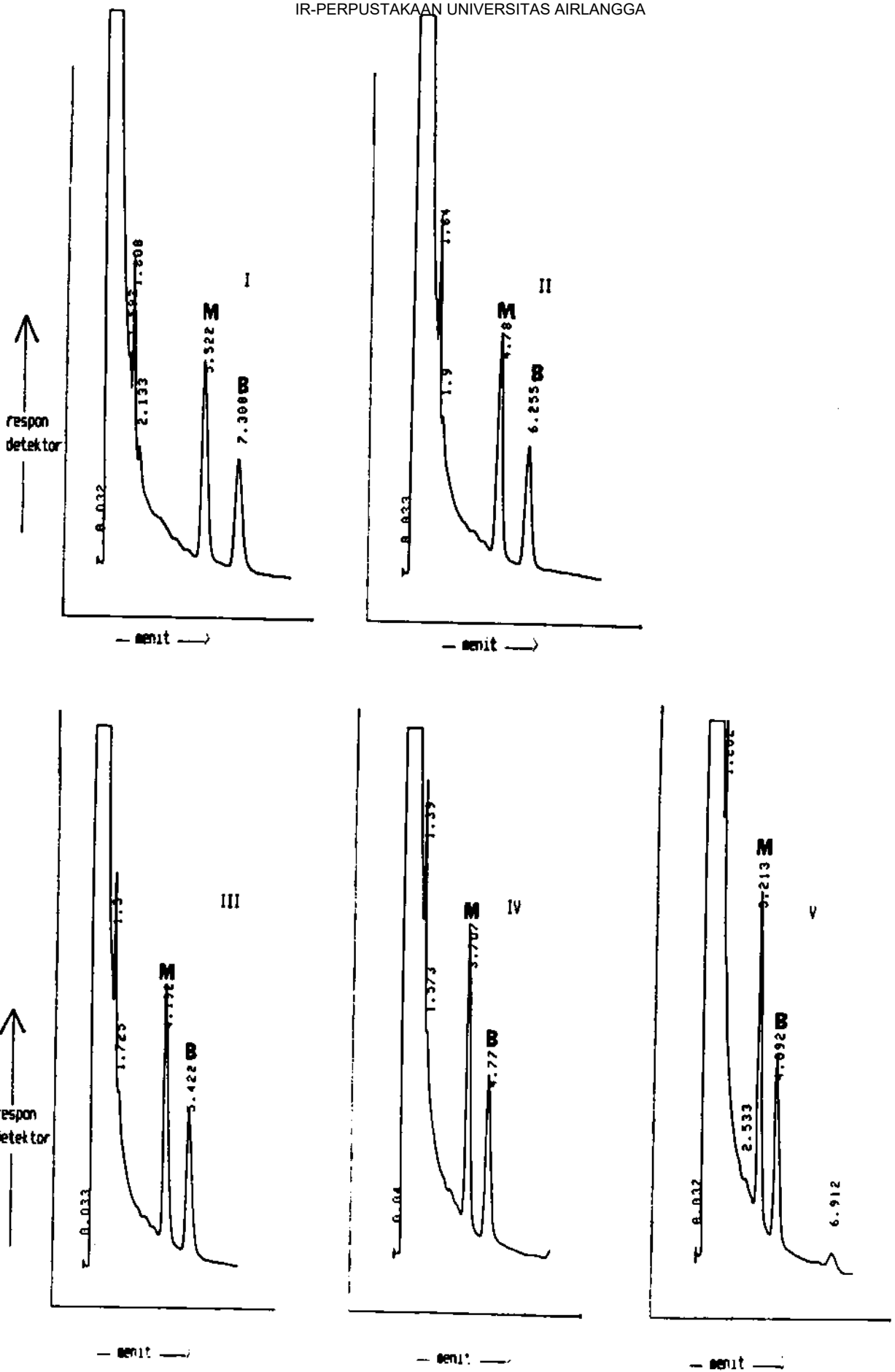
Kromatogram III diperoleh pada kondisi temperatur kolom 185°C, temperatur injektor dan detektor 235°C. Pada kondisi ini harga $R_s = 3,096$ dan harga $\alpha = 1,312$.

Kromatogram IV diperoleh pada kondisi temperatur kolom 190°C, temperatur injektor dan detektor 240°C. Pada kondisi ini harga $R_s = 2,52$ dan harga $\alpha = 1,29$.

Kromatogram V diperoleh pada kondisi temperatur kolom 195°C, temperatur injektor dan detektor 245°C. Pada kondisi ini harga $R_s = 2,11$ dan harga $\alpha = 1,27$. Harga-harga resolusi (R_s) dan retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC ditabelkan pada tabel 3.

Tabel 3
Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC pada berbagai temperatur

Rs / α	Temperatur kolom				
	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C
Rs	4,289	3,54	3,096	2,52	2,11
α	1,323	1,309	1,312	1,287	1,274



Gambar 11 : kromatogram klorin dan BPAC pada berbagai temperatur, I (175°C), II (180°C), III (185°C), IV (190°C), dan V (195°C).

Berdasarkan tabel 3 dan gambar 10 dapat disimpulkan bahwa pada semua kondisi temperatur kolom tersebut dapat memisahkan campuran Mipcin dan BPMC, dimana harga R_s lebih besar dari 1,5 dan harga α lebih besar dari 1. Tetapi dari semua kondisi ini, yang terpilih adalah kondisi pada temperatur 190°C , dengan pertimbangan bahwa kondisi pada temperatur 175°C , 180°C dan 185°C memerlukan waktu elusi yang relatif lebih panjang. Sedangkan pada kondisi temperatur 195°C , harga waktu retensi Mipcin dan BPMC relatif berdekatan, sehingga bila dalam sampel terdapat senyawa lain, kemungkinan dapat terjadi tumpang tindih kromatogram.

Pada kondisi temperatur optimum ini perlu dilihat apakah harga kecepatan gas pembawa teoritis sebesar 30 ml/ menit telah sesuai untuk instrumen yang digunakan. Untuk itu dilakukan optimasi pada temperatur kolom yang terpilih yaitu 190°C dengan berbagai kecepatan gas pembawa yaitu 25 ml/menit, 30ml/menit dan 35 ml/menit. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 11 dan tabel 4.

Kromatogram I diperoleh pada temperatur kolom 190°C dengan kecepatan gas pembawa 25 ml/menit. Pada kondisi ini harga $R_s = 3$ dan $\alpha = 1,30$.

Kromatogram II diperoleh pada temperatur kolom

190°C dengan kecepatan gas pembawa 30 ml/menit. Pada kondisi ini harga $R_s = 2,5$ dan $\alpha = 1,29$.

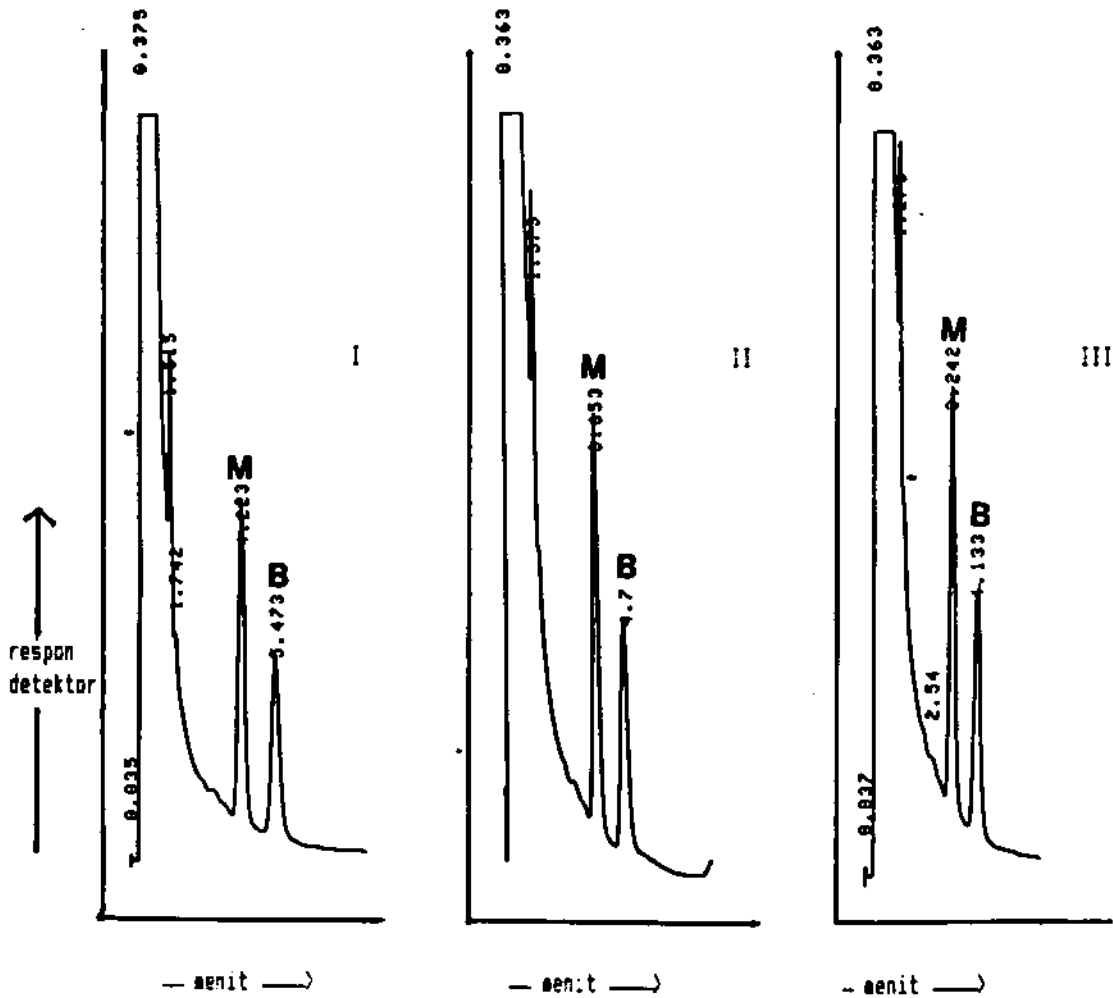
Kromatogram III diperoleh pada kondisi temperatur kolom 190°C dengan kecepatan gas pembawa 35 ml/menit. Pada kondisi ini harga $R_s = 2,14$ dan $\alpha = 1,27$.

Dari gambar 11 dan tabel 4 dapat disimpulkan bahwa semua kondisi memenuhi persyaratan pemisahan yang baik yaitu harga $R_s > 1,5$ dan harga $\alpha > 1$. Tetapi dari ketiga kondisi ini, kondisi yang terpilih adalah kondisi dari kromatogram II, yaitu pada kecepatan gas pembawa 30 ml/menit, dengan pertimbangan kondisi pada kecepatan gas 25 ml/menit memerlukan waktu elusi yang relatif lebih lama. Sedangkan pada kecepatan gas pembawa 35 ml/menit, harga waktu retensi Mipcin dan BPNC relatif berdekatan sehingga bila dalam sampel ada pengotor lain kemungkinan terjadi tumpang tindih kromatogram.

Tabel 4

Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPNC pada temperatur kolom 190°C dengan berbagai kecepatan gas pembawa

Rs / α	Kecepatan gas pembawa ml/menit		
	25	30	35
Rs	3	2,5	2,14
α	1,3	1,29	1,27



Gambar 11: Kromatogram Mipcin (M) dan BPMC (B) pada temperatur kolom 190°C dengan bermacam-macam kecepatan gas pembawa, I (25 ml/menit), II (30 ml/menit) dan III (35 ml/menit).

Pada kondisi terpilih yaitu pada temperatur kolom 190°C dengan kecepatan gas pembawa 30 ml/menit perlu dilihat apakah harga resolusi (R_s) dan harga retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC tetap pada berbagai kadar. Hal ini dapat dilihat pada gambar 12 dan tabel 5.

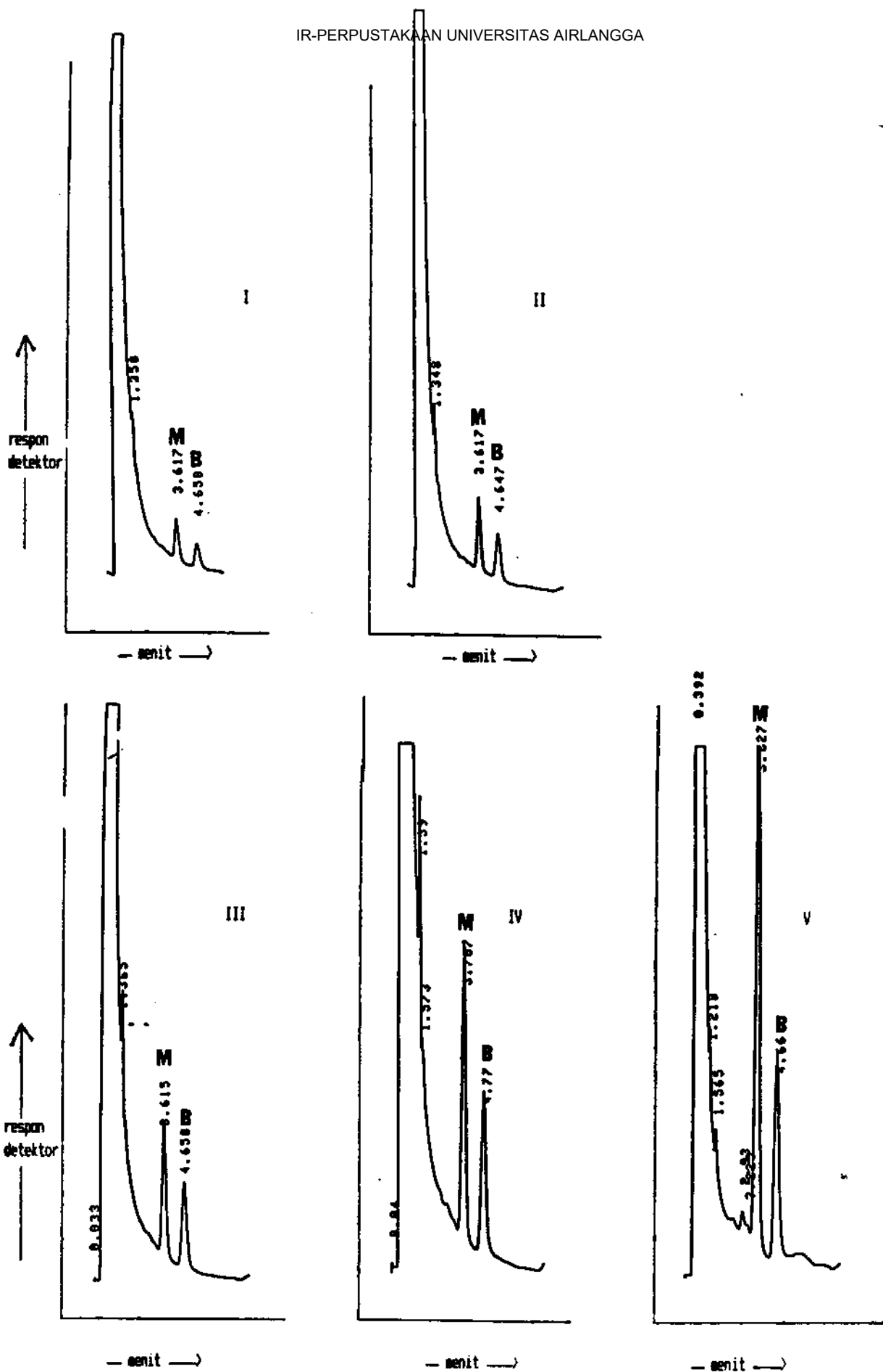
Tabel 5

Resolusi (R_s) dan retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC berbagai kadar pada kondisi terpilih.

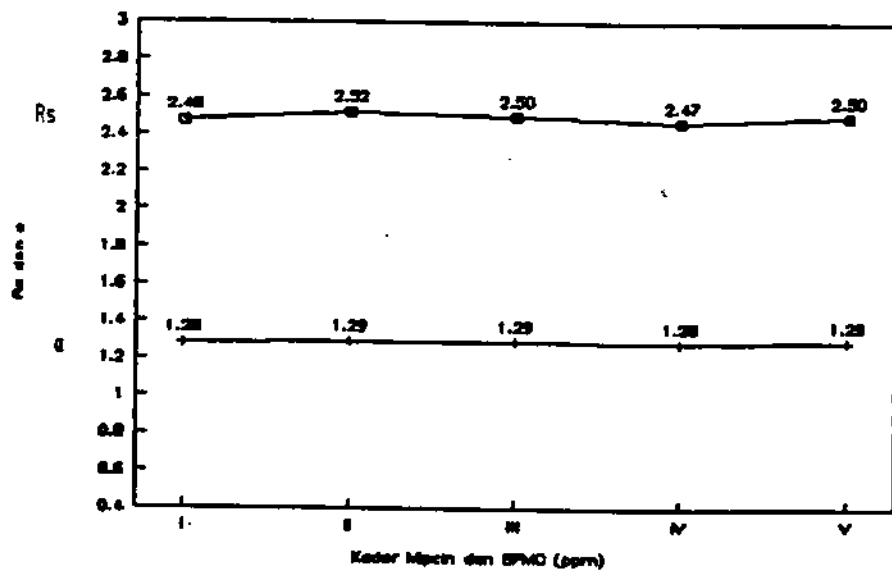
Rs α	Kadar Mipcin dan BPMC (ppm)				
	I 5 & 5,05	II 10 & 10,1	III 20 & 20,2	IV 40 & 40,5	V 80 & 81
Rs	2,48	2,52	2,5	2,47	2,5
α	1,28	1,29	1,29	1,28	1,29

Dari tabel 5 dibuat kurva hubungan antara berbagai kadar Mipcin dan BPMC (I, II, III, IV , V) dengan harga R_s dan harga α (gambar 13).

Dari tabel 5 dan gambar 13 dapat disimpulkan bahwa pada kondisi terpilih harga resolusi (R_s) dan harga retensi relatif (α) dari Mipcin terhadap BPMC pada berbagai kadar relatif tidak berubah.



Gambar 12 : Kromatogram Mipcin dan IPMC pada bermacam-macam kadar, I (5 ppm dan 5,05 ppm), II (10 ppm dan 10,1 ppm), III (20 ppm dan 20,2 ppm , IV (40 ppm dan 40,5 ppm) dan V (80 ppm dan 81 ppm).



Gambar 13 : Kurva hubungan antara harga Rs dan α dengan campuran Mipcin dan BPMD pada kadar 5 ppm & 5,05 ppm (I), 10 ppm & 10,1 ppm (II), 20 ppm & 20,2 ppm (III), 40 ppm & 40,5 ppm (IV) dan 80 ppm & 81 ppm (V).

IV.1.2. Hasil penentuan linieritas Mipcin.

Dari larutan baku Mipcin dengan beberapa kadar, masing-masing disuntikkan sebanyak 1 μL dan didapat luas area puncak kromatogram, hasil dapat dilihat pada tabel 6 dan kromatogram yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 14. Kurva linier hubungan antara jumlah Mipcin yang disuntikkan dan luas area dapat dilihat pada gambar 15.

Tabel 6

Hasil kromatogram yang digunakan untuk analisis regresi antara kadar Mipcin dan luas area.

Kadar ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Luas area ($\mu\text{V}/\text{detik}$)
2,5	477
5,0	723
10,0	1337
20,0	2443
40,0	5435
80,0	9361
100,0	10272
160,0	21136

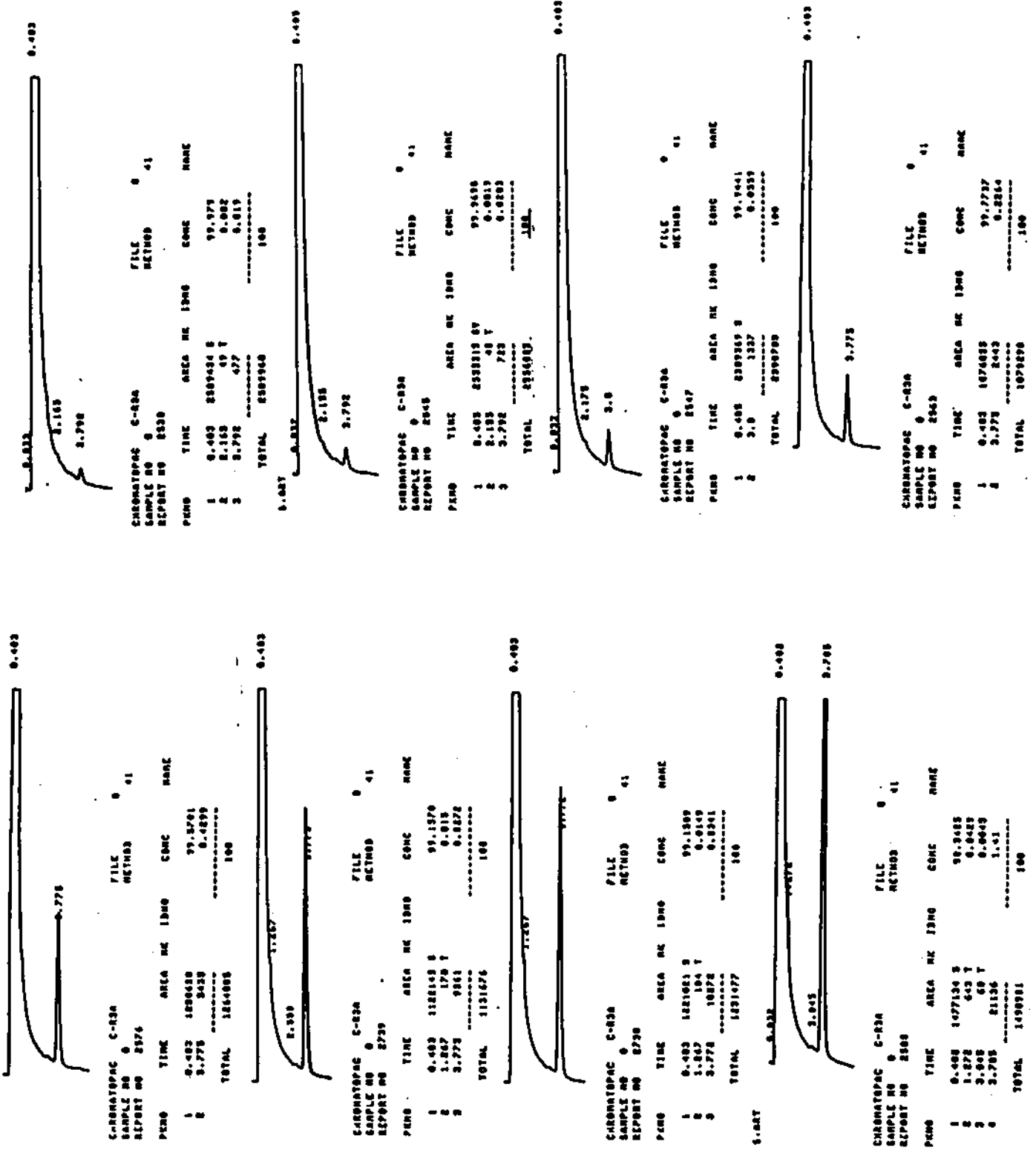
Dari data pada tabel 6 dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi (uji t untuk koefisien regresi dan uji F untuk evaluasi garis regresi). Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran III.

Dari lampiran III dapat disimpulkan bahwa persamaan garis regresi antara kadar Mipcin dan luas area adalah $Y = 124,02615 X - 74,61495$.

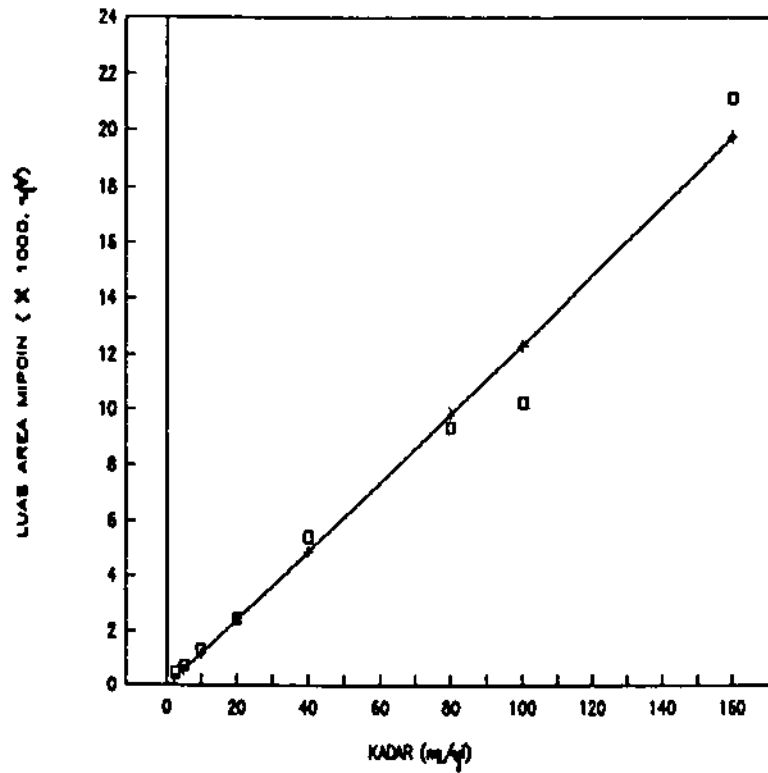
Dari uji t diperoleh harga $p < 0,05$, maka harga koefisien regresi signifikan. Jadi hubungan antara kadar Mipcin dan luas area merupakan hubungan yang linier.

Hasil uji F untuk evaluasi garis regresi diperoleh $p < 0,05$, maka disimpulkan bahwa persamaan garis regresi yang diperoleh linier dan valid.

Dari hasil-hasil perhitungan diatas, dapat disimpulkan bahwa hubungan antara kadar Mipcin dan luas area merupakan hubungan yang linier dan valid. Dengan demikian semua metode untuk perhitungan kadar dapat digunakan. Pada penelitian ini digunakan metode standar eksternal.



Gambar 14 : Kromatogram Mipcin 2,5 ng/µL, 5,0 ng/µL, 10,0 ng/µL, 20,0 ng/µL, 40,0 ng/µL, 80,0 ng/µL, 100,0 ng/µL dan 160,0 ng/µL, yang digunakan pada penentuan linearitas.



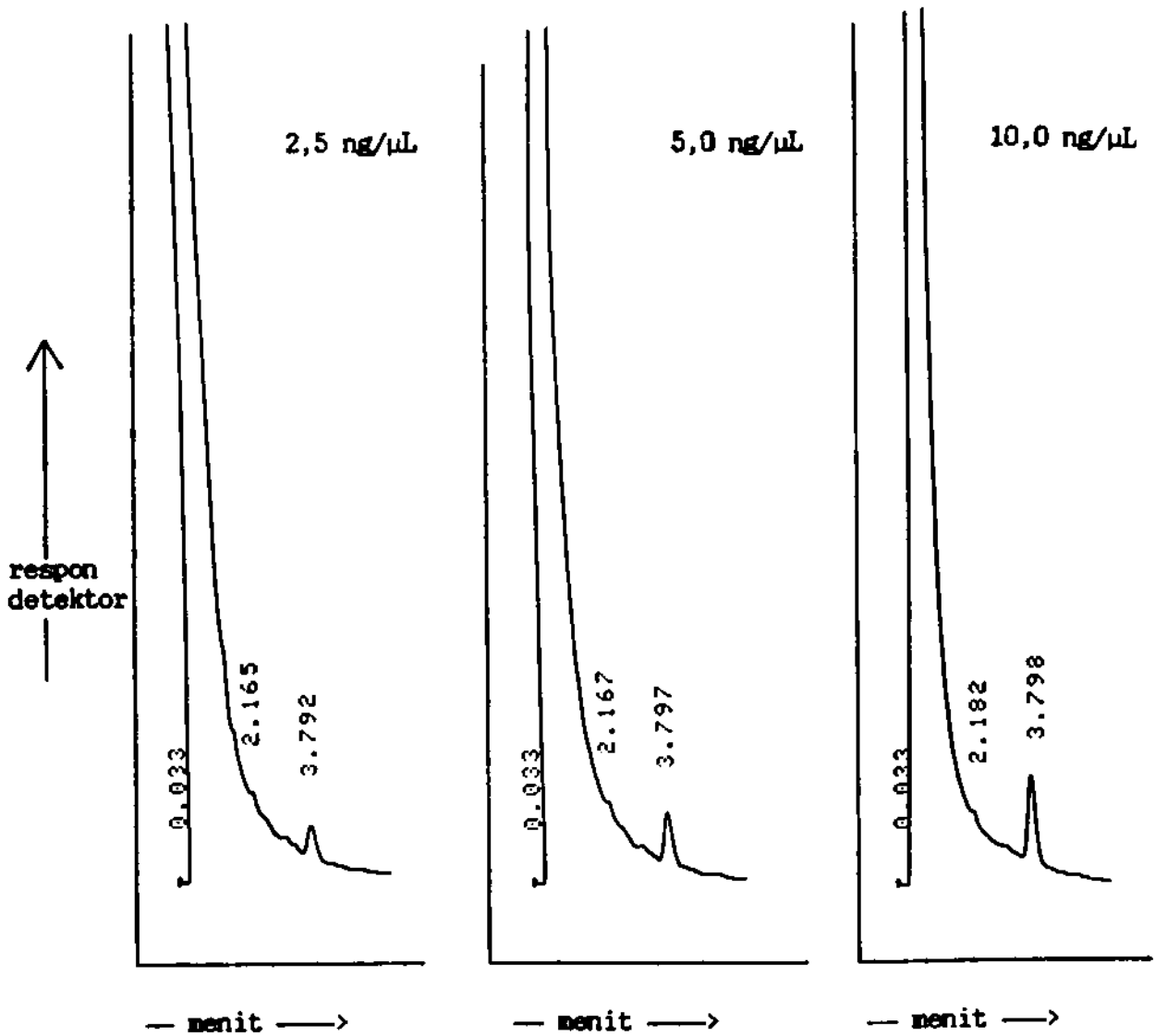
Gambar 15 : Kurva regresi linier antara kadar Mipcin dan luas area , pada kadar 2,5, ng/μL, 5,0, ng/μL, 10,0, ng/μL, 20,0, ng/μL, 40,0 ng/μL, 80,0 ng/μL, 100 ng/μL dan 160,0 ng/μL.

IV.1.3. Hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dari Mipcin

Untuk menentukan harga LOD dan LOQ dari Mipcin terlebih dahulu ditentukan konsentrasi terkecil, dimana ratio tinggi respon (S) dan tinggi "noise" (N) tidak lebih kecil atau sama dengan 5 (pada kondisi ini digunakan "attenuation" = 0). Disini konsentrasi Mipcin terkecil didapatkan pada konsentrasi 2,5 ng/ μ L dan kromatogram yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 16

IV.1.3.1. Hasil penentuan harga S.

Disuntikkan larutan Mipcin/etil asetat 2,5, 5, 10, 20 dan 40 ng/ μ L dengan kondisi terpilih (attenuation = 0). Hasil kromatogram dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 17. Harga S merupakan koefisien regresi dari kurva linier hubungan antara kadar Mipcin dengan tinggi puncak kromatogram. Untuk itu dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi antara kadar Mipcin dan tinggi puncak kromatogram (lihat lampiran IV).



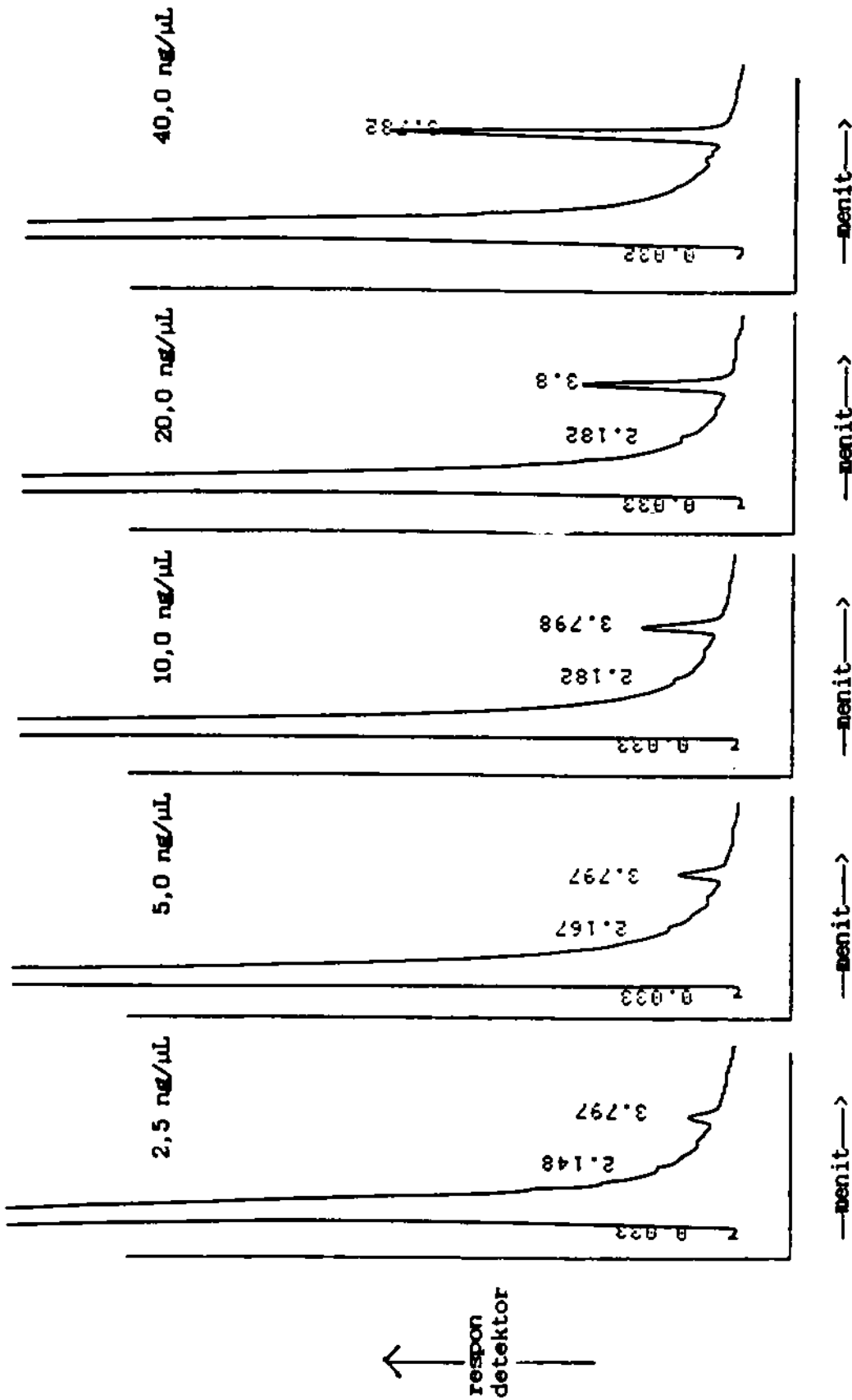
Gambar 16 : Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi dengan kadar 2,5 ng/μL, 5,0 ng/μL dan 10,0 ng/μL.

Tabel 7

Hasil kromatogram yang digunakan pada perhitungan harga S dari Mipcin

Kadar Mipcin	Tinggi puncak kromatogram
2,5 ng/ μ L	3,5 mm
5 ng/ μ L	7,0 mm
10 ng/ μ L	11,5 mm
20 ng/ μ L	24,0 mm
40 ng/ μ L	53,0 mm

Dari perhitungan pada lampiran IV, pada uji F untuk evaluasi garis regresi harga $p < 0,05$. Jadi hubungan antara kadar Mipcin dan tinggi puncak yang merupakan persamaan garis regresi $y = 1,316 x - 0,604$ adalah linier dan valid. Dengan demikian harga koefisien regresi yang merupakan harga S, valid untuk perhitungan LOD dan LOQ.



Gambar 17 ; Kromatogram Hipcicn 2,5 ng/μL, 5,0 ng/μL, 10,0 ng/μL, 20,0 ng/μL dan 40,0 ng/μL pada penentuan harga S.

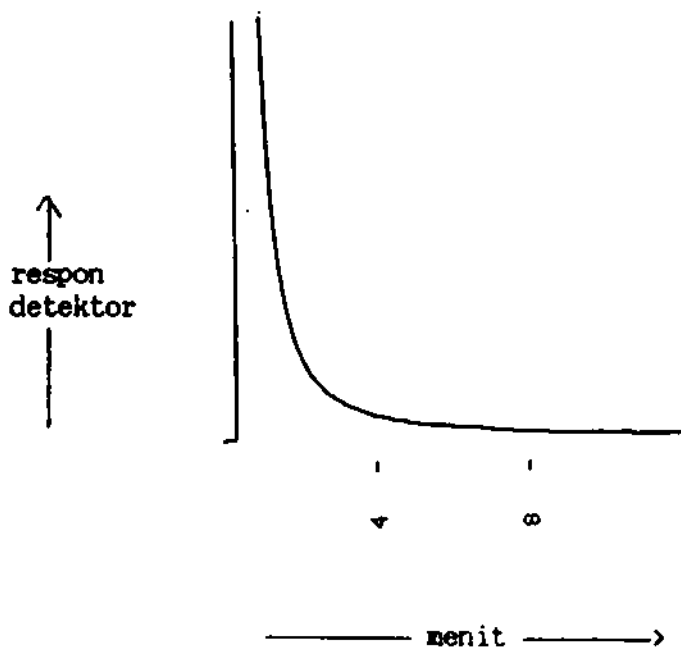
I.3.2. Hasil penentuan harga S_B dari Mipcin

Untuk menentukan harga S_B disuntikkan eluen saja dan diukur jarak puncak tertinggi dan puncak terendah dari "noise" pada daerah 20 x lebar puncak Mipcin, sehingga didapat harga N_{p-p} . Harga $S_B = N_{p-p} / 5$. Hasil dapat dilihat pada gambar 18, dan didapat harga $N_{p-p} = 1,5$ jadi harga $S_B = 0,3$. Dengan demikian harga LOD dan LOQ dapat dihitung.

$$\text{LOD} = k. S_B / S$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0,3 / 1,316 = 0,68 \text{ ng}/\mu\text{L}.$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0,3 / 1,316 = 2,28 \text{ ng}/\mu\text{L}.$$



Gambar 18 : "Baseline noise" pada penyuntikan eluen dari Mipcin.

IV.1.4. Hasil penetapan kadar sampel air suling dan sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin pada analisis tanpa derivatisasi.

Dari 5 kadar sampel air suling masing-masing "mengandung" Mipcin 0,1 ppm (I), 0,2 ppm (II), 0,4 ppm (III), 0,6 ppm (IV) dan 0,8 ppm (V), sebanyak 250,0 ml diekstraksi, dipekatkan dan dialiri gas N₂ sampai kering. Setelah itu ditambahkan etil asetat sebanyak 2,0 ml, dengan demikian konsentrasi akhir masing-masing sampel 12,5 ppm, 25,0 ppm, 50,0 ppm, 75,0 ppm dan 100,0 ppm. Dari masing-masing sampel ini disuntikkan 1 µL, dengan demikian masing-masing sampel yang disuntikkan adalah 12,5 ng/µL, 25,0 ng/µL, 50,0 ng/µL, 75,0 ng/µL dan 100,0 ng/µL (Skena pada gambar 10). Pada analisis sampel ini dipakai "attenuation = 0,1. Cara perhitungan kadar sampel dengan memakai metode standar eksternal dapat dilihat pada lampiran V dan salah satu contoh kromatogram sampel air suling 5 replikasi dengan kadar 0,2 ppm (konsentrasi akhir 25 ppm) dapat dilihat pada gambar 19. Dari analisis sampel aquades ini diperoleh hasil seperti pada tabel 8, dan kromatogram 5 macam kadar sampel air suling dapat dilihat pada gambar 20

Sampel air sungai dengan kadar Mipcin masing-masing 0,1 ppm (I), 0,2 ppm (II), 0,4 ppm (IV), 0,6 ppm (IV) dan 0,8 ppm (V), mengalami perlakuan yang analog dengan sampel air suling. Hasil analisis terdapat pada tabel 8, sedangkan kromatogram 5 kadar sampel yang diperoleh terdapat pada gambar 21

Tabel 8

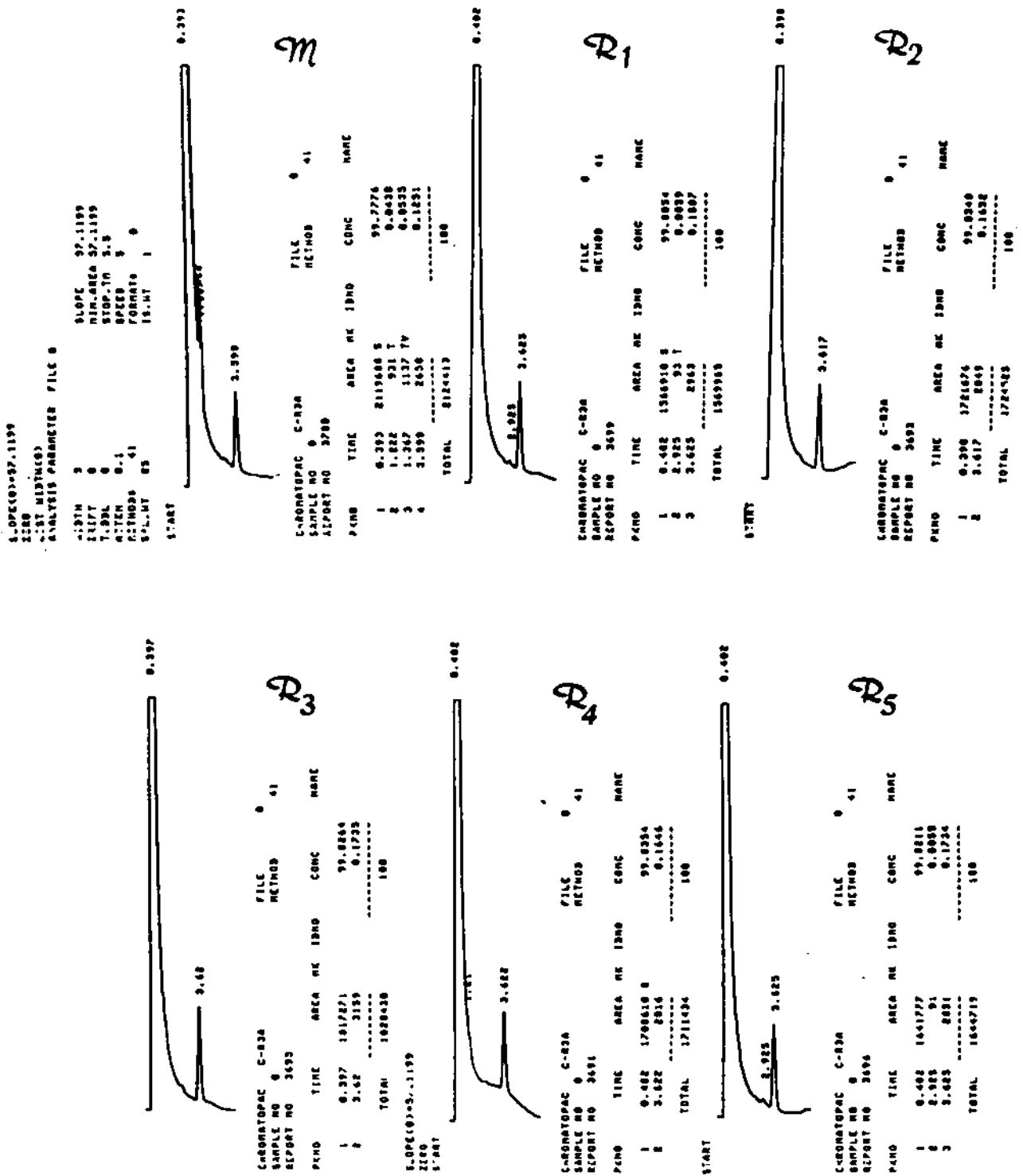
Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air suling dengan metode tanpa derivatisasi

Replikasi	Kadar sampel air suling (%)				
	I	II	III	IV	V
1	77,58	89,18	75,55	77,06	82,04
2	78,56	85,75	85,43	79,46	77,28
3	85,39	95,08	80,0	81,84	80,50
4	78,43	84,76	73,23	76,51	78,20
5	63,3	85,81	73,88	82,56	74,41
\bar{x}	76,65	88,81	77,02	79,49	78,48
$\bar{X} = 80,09 \%$			SD = 5,01		
			KV = 6,26 %		

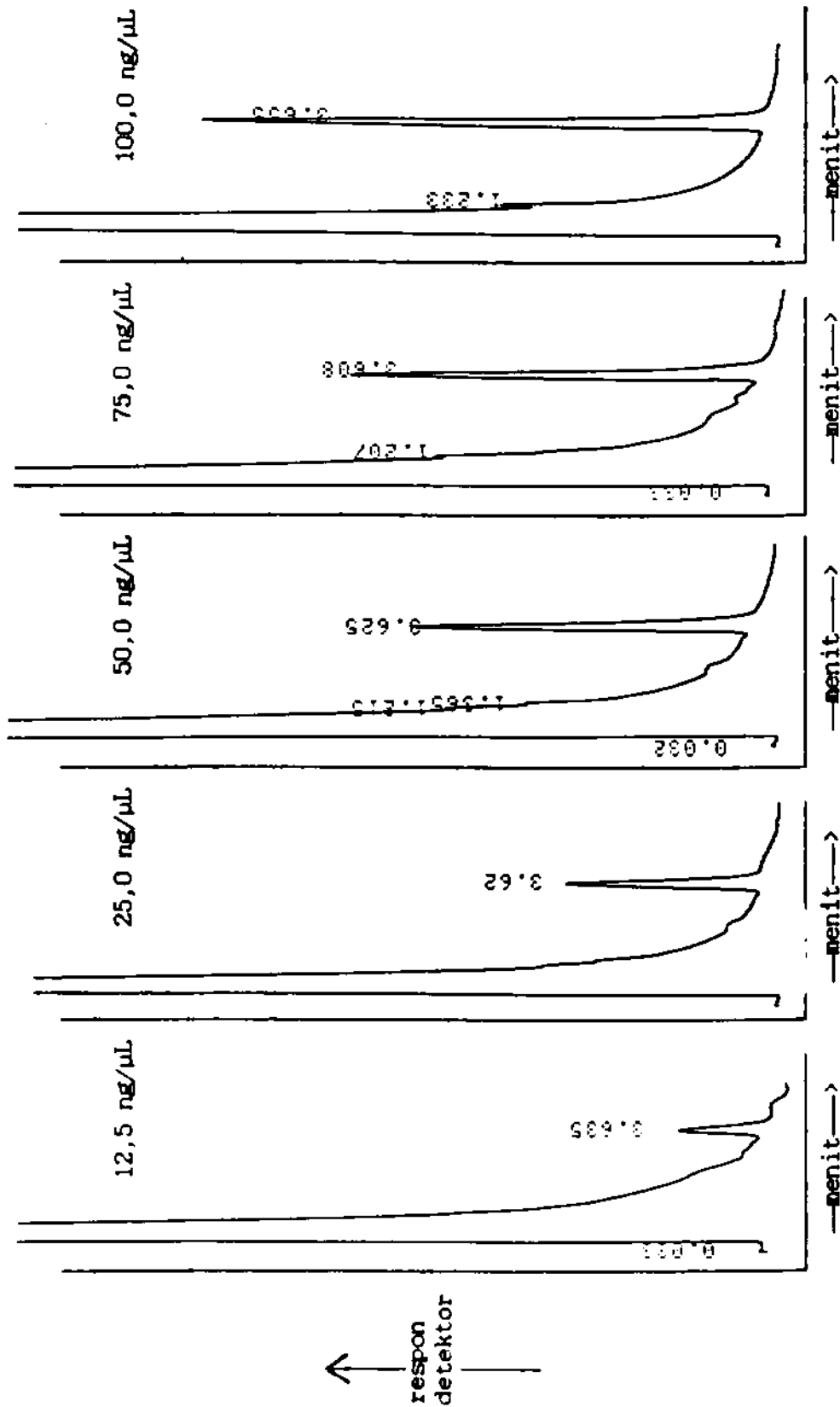
Tabel 9

Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air sungai dengan metode tanpa derivatisasi

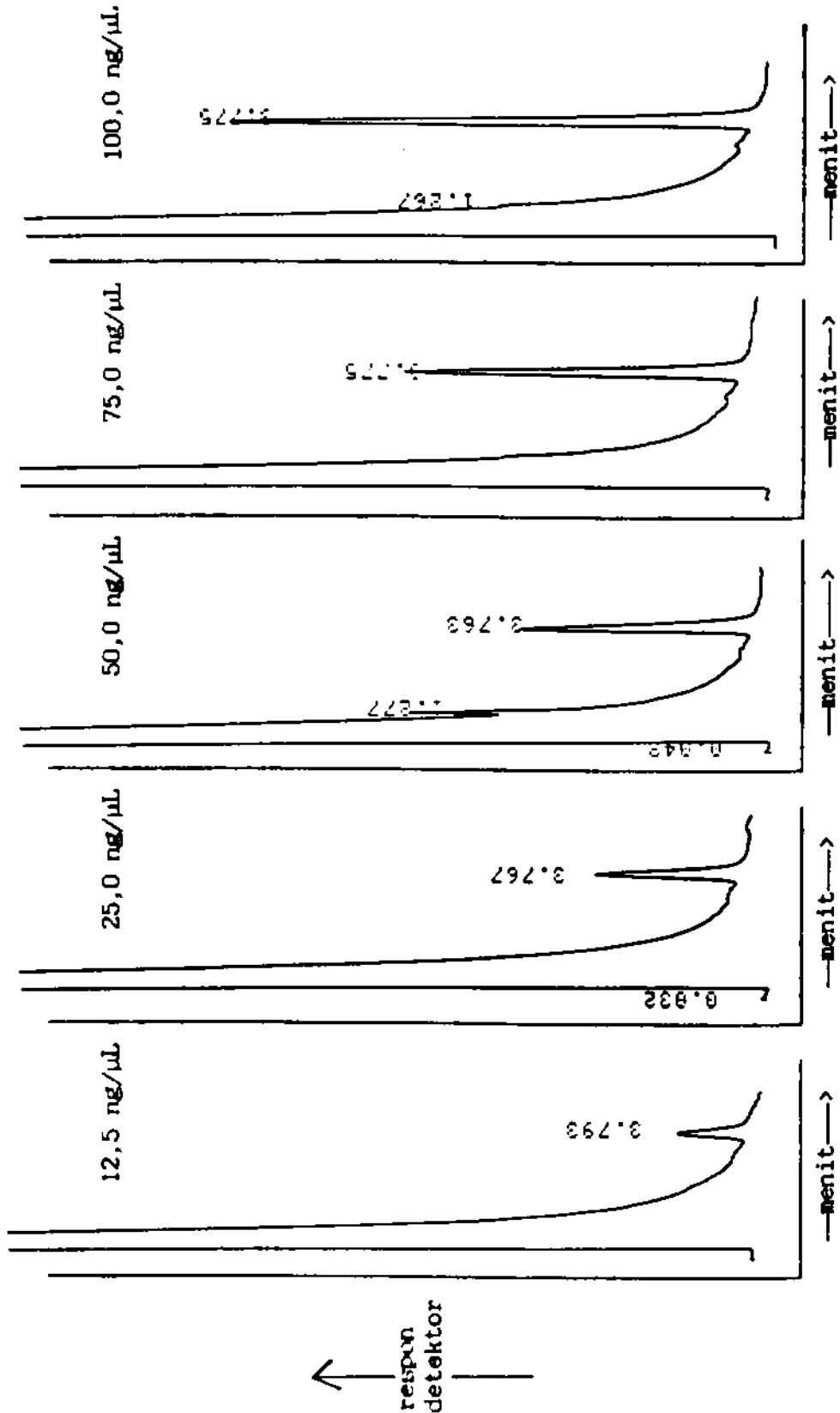
Replikasi	Kadar sampel air sungai (%)				
	I	II	III	IV	V
1	69,55	76,01	69,93	62,18	65,91
2	77,40	84,98	63,39	76,17	65,90
3	93,67	72,24	73,24	70,20	79,25
4	69,18	71,73	72,33	81,54	76,65
5	80,13	77,91	67,28	78,05	72,65
\bar{x}	78,02	76,57	70,43	73,63	72,07
$\bar{X} = 74,14 \%$			SD = 3,13		
			KV = 4,22 %		



Gambar 19 : Kromatogram Mapizin baku (M) 20,0 ppm dan hasil ekstraksi sampel air suling 0,2 ppm 5 replikasi (R1, R2, R3, R4 dan R5) dengan penyuntikan 25 ng/ μ L.



Gambar 20) Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi hasil ekstraksi sampel air suling dengan kadar 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm dengan penyuntikan masing-masing 12,5 ng/μL, 25,0 ng/μL, 50,0 ng/μL, 75,0 ng/μL, dan 100,0 ng/μL.



Gambar 21 : Kromatogram Mipcin tanpa derivatisasi hasil ekstraksi sampel air sungai dengan kadar 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,8 ppm, 0,8 ppm dan 0,8 ppm dengan penyuntikan masing-masing 12,5 ng/μL, 25,0 ng/μL, 50,0 ng/μL, 75,0 ng/μL, dan 100,0 ng/μL.

Dari perhitungan-perhitungan diatas dapat diketahui bahwa untuk analisis Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi diperoleh hasil :

1. Batas deteksi = 0,68 ng/ μ L.

2. Batas kuantitasi = 2,28 ng/ μ L.

3. Kadar yang didapat kembali :

sampel air suling : 80,09 % \pm 5,01 %

sampel air sungai : 74,14 % \pm 3,13 %

4. Koefisien variasi:

sampel air suling: 6,26 %.

sampel air sungai: 4,22 %.

Menurut Anson Moye (1981) untuk residu pestisi da harga % "recovery" (kadar yang didapat kembali) sebaiknya > 85 % (12). Bila harga presisi 10 % masih diterima, maka harga % "recovery" yang baik adalah 90 - 100 %. Dari tabel 8 diketahui untuk metode tanpa derivatisasi sampel air suling, diperoleh kadar rata-rata 80,09 %, sedangkan sampel air sungai diperoleh kadar rata-rata 74,14 %, yang berarti < dari 85 % . Untuk melihat apakah hasil yang diperoleh berbeda signifikan atau tidak dengan harga yang dianggap benar, maka dilakukan perhitungan uji t satu sampel untuk sampel air suling pada lampiran VI, dan uji t satu sampel untuk sampel air sungai pada lampiran VII.

Dari lampiran VI diperoleh harga $p < 0,05$, jadi ada perbedaan yang signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar untuk sampel air suling. Dari lampiran VII diperoleh harga $p < 0,05$, jadi ada perbedaan yang signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar untuk sampel air sungai. Dengan demikian metode tanpa derivatisasi mempunyai akurasi yang kurang baik.

Menurut Anson Moye (1981) untuk analisis residu pestisida harga presisi 10 % , masih dianggap baik (12). Dari tabel 8 dan tabel 9 diketahui harga koefisien variasi untuk sampel aquades = 6,26 % dan untuk air sungai 4,22 % , yang berarti < 10 % . Dengan demikian presisi metode tanpa derivatisasi dianggap baik.

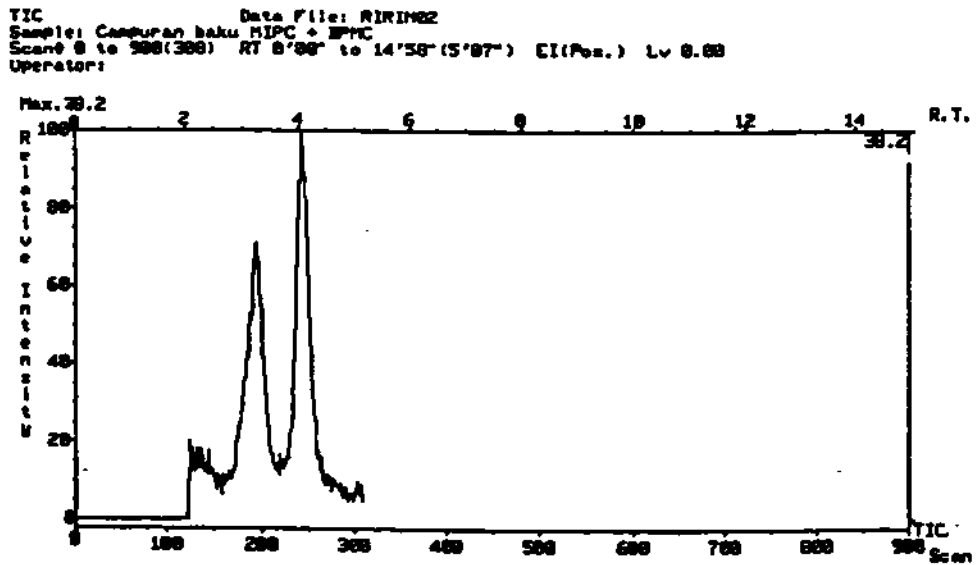
IV.2. Analisis pestisida Mipcin melalui derivatisasi dengan trifluoro asetat anhidrat.

Sebelum dilakukan analisis kuantitatif perlu dibuktikan apakah senyawa hasil derivatisasi antara Mipcin dan trifluoro asetat anhidrat (TFAA) sesuai dengan yang dikehendaki. Karena pada penentuan selektivitas digunakan BPNC, maka hasil derivatisasi BPNC

dengan TFAA juga ditentukan. Sebagai perbandingan dilakukan juga analisis BPMP dan Mipcin sebelum derivatisasi. Semua analisis kualitatif ini dilakukan dengan kromatografi gas - spektra massa.

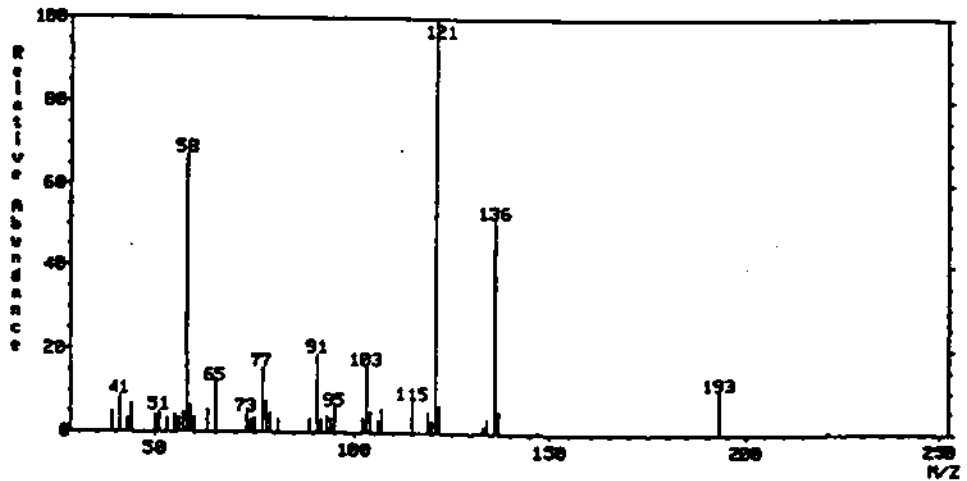
Hasil kromatogram massa Mipcin dan BPMP dengan GC-MS dapat dilihat pada gambar 22, sedangkan hasil spektra massanya pada gambar 23 dan 24, dimana terlihat berat molekul dari Mipcin adalah 193 dan berat molekul dari BPMP adalah 207.

Hasil derivatisasi Mipcin dan BPMP dengan TFAA, kromatogram massanya dapat dilihat pada gambar 25 dan 26, sedangkan spektra massanya pada gambar 27 dan 28. Secara teoritis hasil yang diharapkan pada derivatisasi ini adalah terbentuknya Mipcin-TFA dan BPMP-TFA, dengan berat molekul masing-masing 289 dan 303. Ternyata hasil yang didapat sesuai dengan hasil teoritis yang diharapkan (gambar 27 dan 28).



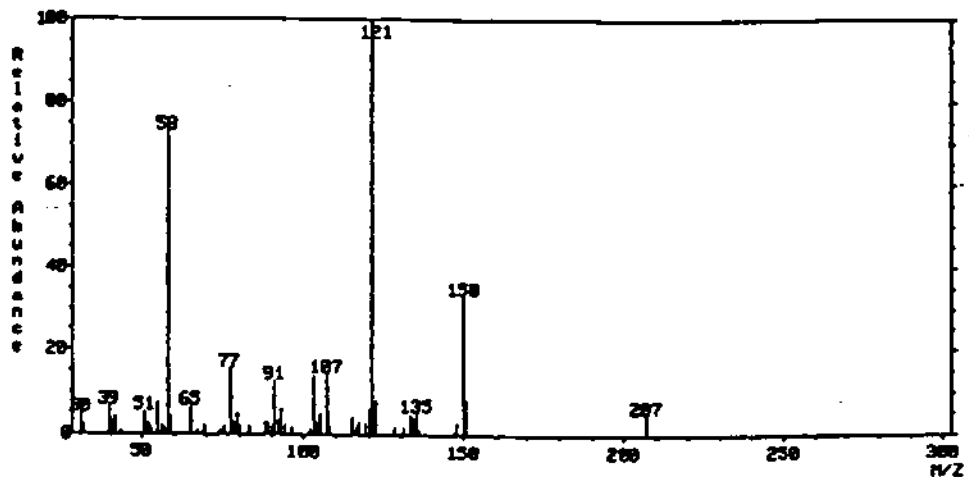
Gambar 22 : Kromatogram massa campuran Mipcin dan BPMC dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC 200-P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3 m ID 3 mm, suhu kolom 175°C, energi ionisasi 70 ev.

MASS SPECTRUM Data File: RIRIN02
 Sample: Campuran baku MIPC + BPNC
 RT 3'15" EI (Pos.) GC 219.5c BP: m/z 121.0000 Int. 3.9350 Lv 0.00
 Scan# (196) - (173, 209) [coef. 1.00]

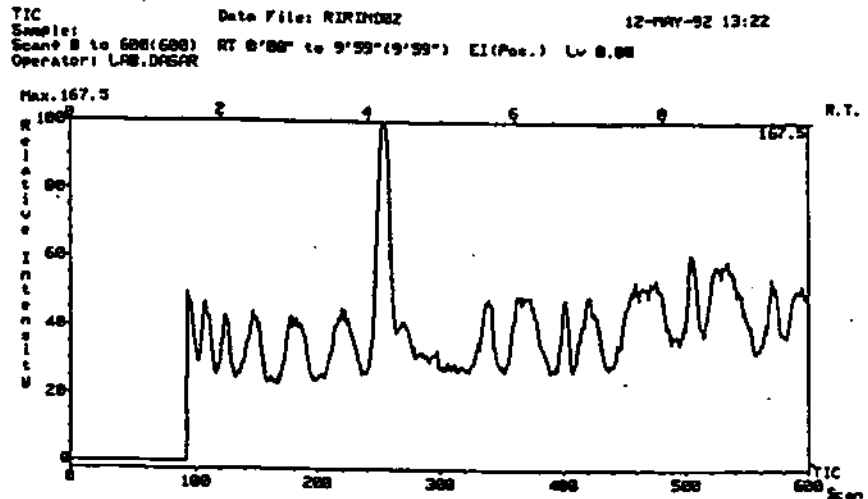


Gambar 23 : Spektra massa dari Mipcin dengan menggunakan GC-MS
 Jeol.JMS DX 303, kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport
 HPS 60/80 panjang 3m ID 3 mm, suhu 175°C, energi
 ionisasi 70 ev.

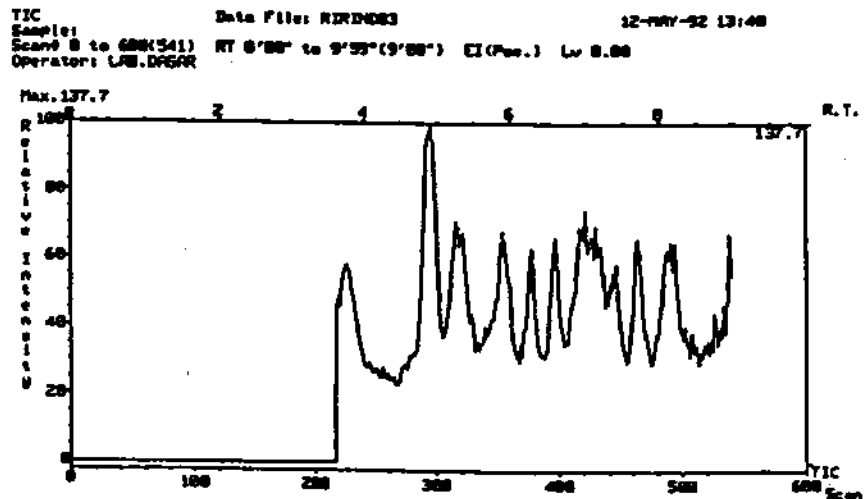
MASS SPECTRUM Data File: RIRIN02
 Sample: Campuran baku MIPC + BPNC
 RT 4'01" EI (Pos.) GC 219.5c BP: m/z 121.0000 Int. 6.3059 Lv 0.00
 Scan# (242) - (228, 259) [coef. 1.00]



Gambar 24 : Spektra massa dari BPNC dengan menggunakan GC-MS
 Jeol.JMS DX 303, kolom Silicon DC-200 P 10% Uni-
 port HPS 60/80 panjang 3 m, ID 3 mm, suhu 175°C,
 energi ionisasi 70 ev.

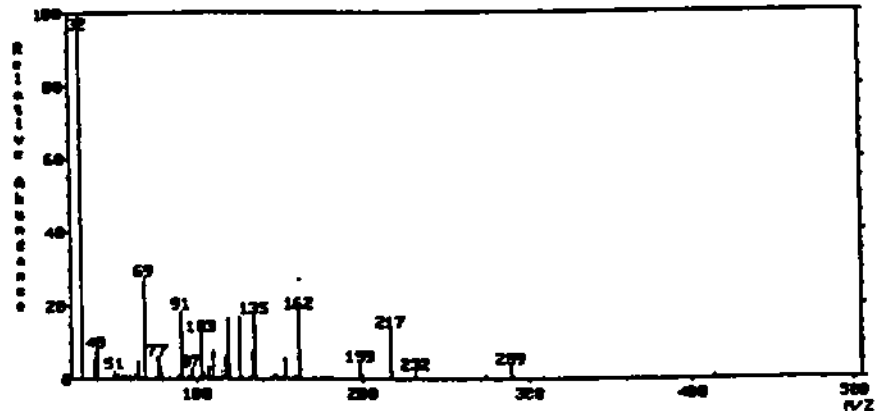


Gambar 25 : Kromatogram massa hasil derivatisasi Mipcin-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3 m ID 3 mm, suhu 175°C, energi ionisasi 70 ev.



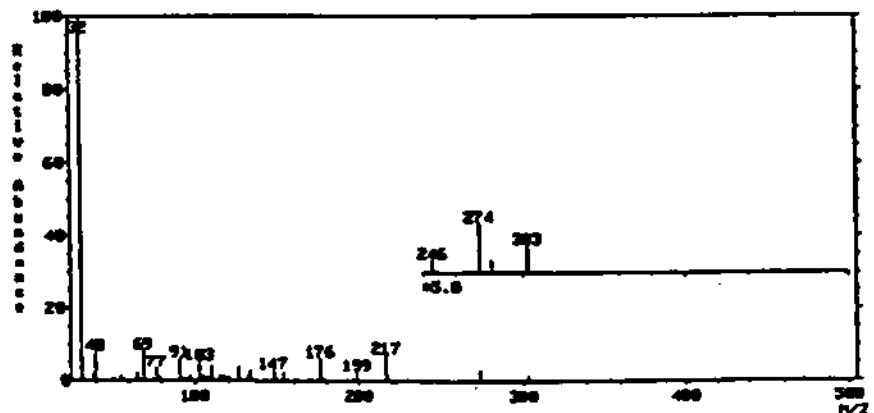
Gambar 26 : Kromatogram massa hasil derivatisasi BPMC-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3 m ID 3 mm, suhu 175°C, energi ionisasi 70 ev.

MASS SPECTRUM Data File: RIRIND02 12-MAY-92 13:22
 Sample:
 RT 4'12" EI (Pos.) GC 224.5e BP: m/z 32.0000 Int. 27.7123 Lv 0.00
 Scan# (233) - (233, 200) (coef. 1.00)



Gambar 27 : Spektra massa hasil derivatisasi Mipcin-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3 m ID 3 mm, suhu 175°C, energi ionisasi 70 ev.

MASS SPECTRUM Data File: RIRIND03 12-MAY-92 13:40
 Sample:
 RT 4'35" EI (Pos.) GC 224.4e BP: m/z 32.0000 Int. 30.2523 Lv 0.00
 Scan# (296) - (277, 300) (coef. 1.00)



Gambar 28 : Spektra massa hasil derivatisasi BPMC-TFA dengan menggunakan GC-MS Jeol.JMS-DX 303, kolom Silicon DC-200P 10% Uniport HPS 60/80 panjang 3 m ID 3 mm, suhu 175°C, energi ionisasi 70 ev.

IV.2.1. Hasil penentuan selektifitas pada analisis Mipcin melalui derivatisasi.

Pada penentuan selektifitas, selain Mipcin-TFA hasil derivatisasi, juga digunakan BPNC-TFA. Pada analisis kualitatif dengan kromatografi gas-spektra massa, untuk melihat hasil derivatisasi Mipcin-TFA dan BPNC-TFA, digunakan kondisi sebagai berikut :

Kolom : Silicon DC-200 P 10% Uniport HPS 60/80.

Panjang 2 m, ID 3mm. Temperatur 175°C.

Detektor dan injektor: temperatur 225°C.

Karena itu untuk analisis kuantitatif hasil derivatisasi, temperatur kolom, injektor dan detektor dibuat sama dengan pada analisis kualitatif. Dengan demikian optimasi dilakukan dengan variasi aliran gas pembawa. Hasil kromatogram campuran Mipcin-TFA dan BPNC-TFA pada berbagai kecepatan gas pembawa dapat dilihat pada gambar 31.

Kromatogram I diperoleh pada kondisi temperatur kolom 175°C, detektor dan injektor 225°C, aliran gas N_2 25 ml/menit. Pada kondisi ini harga t_R Mipcin-TFA (M-TFA) = 5,525 dan t_R BPNC-TFA (B-TFA) = 7,282 . Dari kromatogram I diperoleh harga R_s = 4,22 dan harga α = 1,32.

Kromatogram II diperoleh pada kondisi tempera-

tur = kromatogram I, dengan aliran gas pembawa 30 ml/menit. Pada kondisi ini harga tR Mipcin-TFA (M-TFA) = 4,975 dan tR BPMC-TFA (B-TFA) = 6,553. Dari kromatogram II diperoleh harga Rs = 3,79 dan harga α = 1,32.

Kromatogram III diperoleh pada kondisi temperatur = kromatogram I, dengan aliran gas pembawa 35 ml/menit. Pada kondisi ini harga tR Mipcin-TFA (M-TFA) = 4,172 dan tR BPMC-TFA (B-TFA) = 5,488. Dari kromatogram III diperoleh harga Rs = 3,15 dan harga α = 1,32.

Kromatogram IV diperoleh pada kondisi temperatur = kromatogram I, dengan aliran gas pembawa 40 ml/menit. Pada kondisi ini harga tR Mipcin-TFA (M-TFA) = 3,91 dan tR BPMC-TFA (B-TFA) = 5,142. Dari kromatogram IV diperoleh harga Rs = 2,96 dan harga α = 1,32.

Kromatogram V diperoleh pada kondisi temperatur = kromatogram I, aliran gas pembawa 45 ml/menit. Pada kondisi ini harga tR Mipcin-TFA (M-TFA) = 3,638 dan tR BPMC-TFA (B-TFA)= 4,782. Dari kromatogram V diperoleh harga Rs = 2,75 dan harga α = 1,31.

Harga-harga resolusi (Rs) dan retensi relatif(α) dari Mipcin-TFA terhadap BPMC-TFA ditabelkan pada tabel 10.

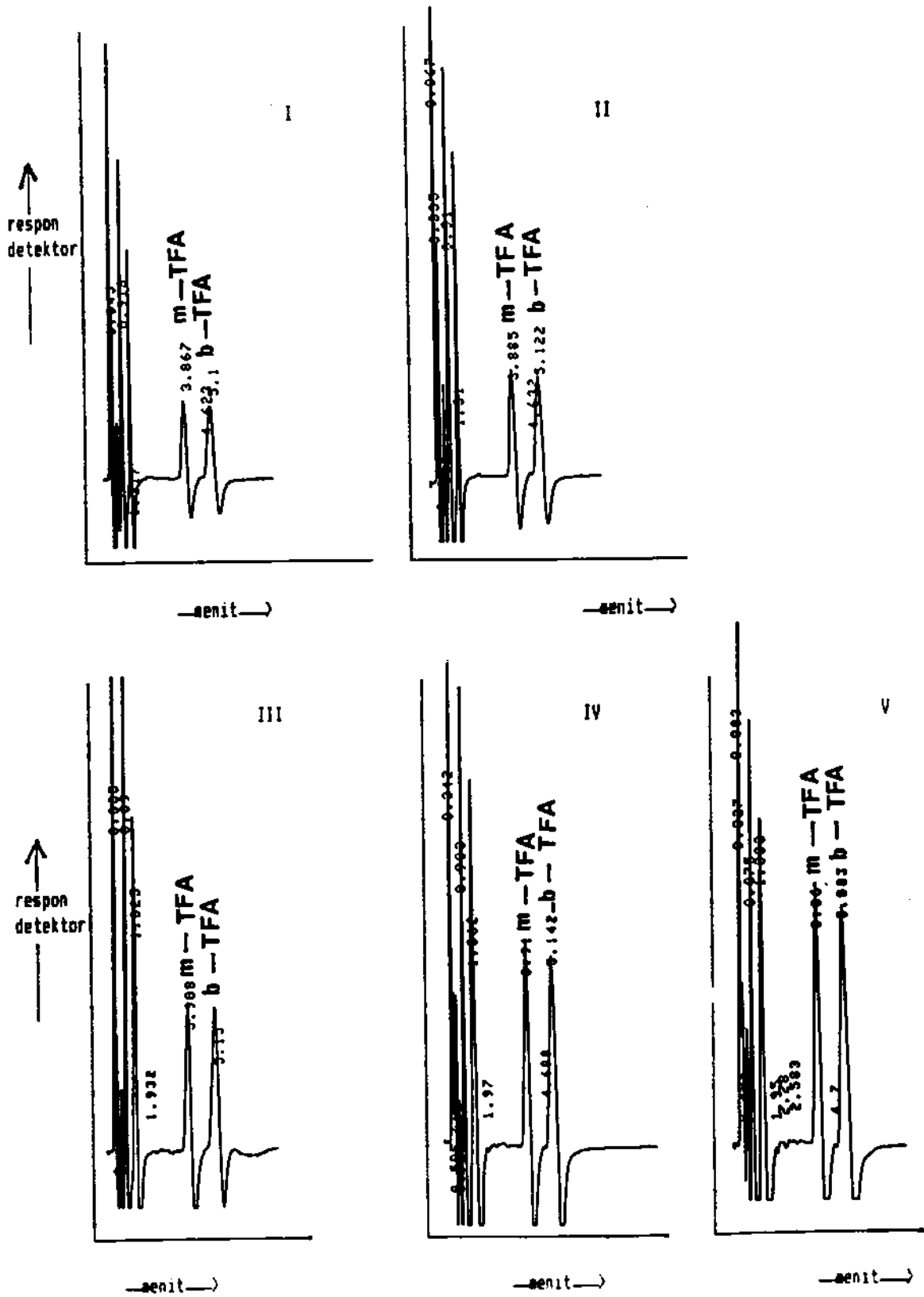
Tabel 10

Resolusi (R_s) dan Retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPNC-TFA pada berbagai laju aliran gas pembawa N_2

Rs/ α	Laju aliran gas pembawa (ml/menit)				
	25 ml/min	30ml/min	35ml/min	40ml/min	45ml/min
Rs	4,22	3,79	3,15	2,96	2,75
α	1,32	1,32	1,32	1,32	1,31

Berdasarkan tabel 10 dan gambar 31 dapat disimpulkan bahwa semua kondisi kecepatan aliran gas pembawa dapat menisahkan campuran Mipcin-TFA dan BPNC-TFA, dimana harga $R_s >$ dari 1,5 dan harga $\alpha >$ dari 1. Tetapi dari semua kondisi ini, yang terpilih adalah kondisi dengan aliran gas pembawa 40 ml/menit, dengan pertimbangan bahwa kondisi dengan aliran kecepatan gas pembawa 25 ml/menit, 30 ml/menit dan 35 ml/menit memerlukan waktu elusi yang relatif lebih panjang. Sedangkan pada kondisi aliran gas 45 ml/menit, harga waktu retensi Mipcin-TFA dan BPNC-TFA relatif berdekatan, sehingga bila dalam sampel ada senyawa lain kemungkinan dapat terjadi tumpang tindih kromatogram.

Pada kondisi terpilih perlu dilihat apakah harga resolusi (R_s) dan harga retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPNC-TFA tetap pada berbagai kadar. Hasil pada gambar 30 dan tabel 11.



Gambar 30 : kromatogram campuran Mipcin-TFA dan BPNC-TFA pada kondisi terpilih dengan berbagai kadar masing-masing, I (0,2 ng/ μ L), II (0,4 ng/ μ L), III (0,8 ng/ μ L), IV (1,6 ng/ μ L) dan 3,2 ng/ μ L.

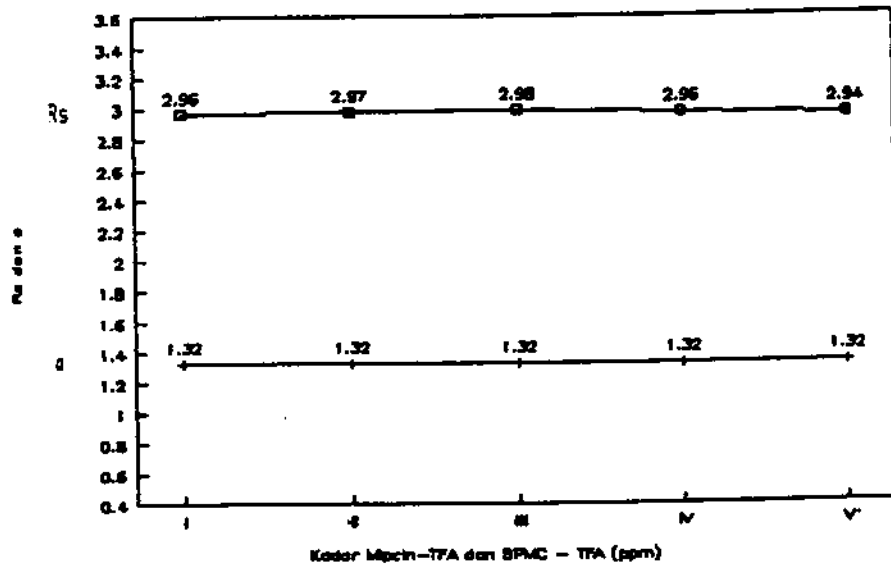
Tabel 11

Resolusi (R_s) dan retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPMC-TFA berbagai kadar pada kondisi terpilih.

R_s α	Kadar Mipcin-TFA dan BPMC-TFA (ng/ μ L)				
	I 0,2	II 0,4	III 0,8	IV 1,6	V 3,2
R_s	2,86	2,97	2,98	2,96	2,94
α	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32

Dari tabel 11 dibuat kurva hubungan antara berbagai kadar Mipcin-TFA dan BPMC-TFA (I, II, III, IV, V) dengan harga R_s dan α (gambar 31) .

Dari tabel 11 dan gambar 31 dapat disimpulkan bahwa pada kondisi terpilih, harga resolusi (R_s) dan harga retensi relatif (α) dari Mipcin-TFA terhadap BPMC-TFA pada berbagai kadar relatif tidak berubah.



Gambar 31 : Kurva hubungan antara harga Rs dan α dengan campuran Mipcin-TFA dan BPMC-TFA pada kadar 0,2 ng/ μ L (I), 0,4 ng/ μ L (II), 0,8 ng/ μ L (III), 1,6 ng/ μ L (IV) dan 3,2 ng/ μ L (V).

IV.2.2. Hasil penentuan linieritas Mipcin-TFA.

Dari hasil derivatisasi antara larutan baku Mipcin dengan TFAA pada beberapa kadar, masing-masing disuntikkan sebanyak 1 μL dan didapat luas area puncak kromatogram, hasil dapat dilihat pada tabel 12 dan kromatogram yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 32. Kurva regresi hubungan antara jumlah Mipcin-TFA yang disuntikkan dan luas area dapat dilihat pada gambar 33.

Tabel 12

Hasil kromatogram yang digunakan pada analisis regresi antara kadar Mipcin-TFA dan luas area .

Kadar Mipcin-TFA	Luas area (μV /detik)
20 pg/ μL	408
40 pg/ μL	1271
100 pg/ μL	2022
200 pg/ μL	3242
400 pg/ μL	8086
800 pg/ μL	11771
1600 pg/ μL	15905
3200 pg/ μL	17947

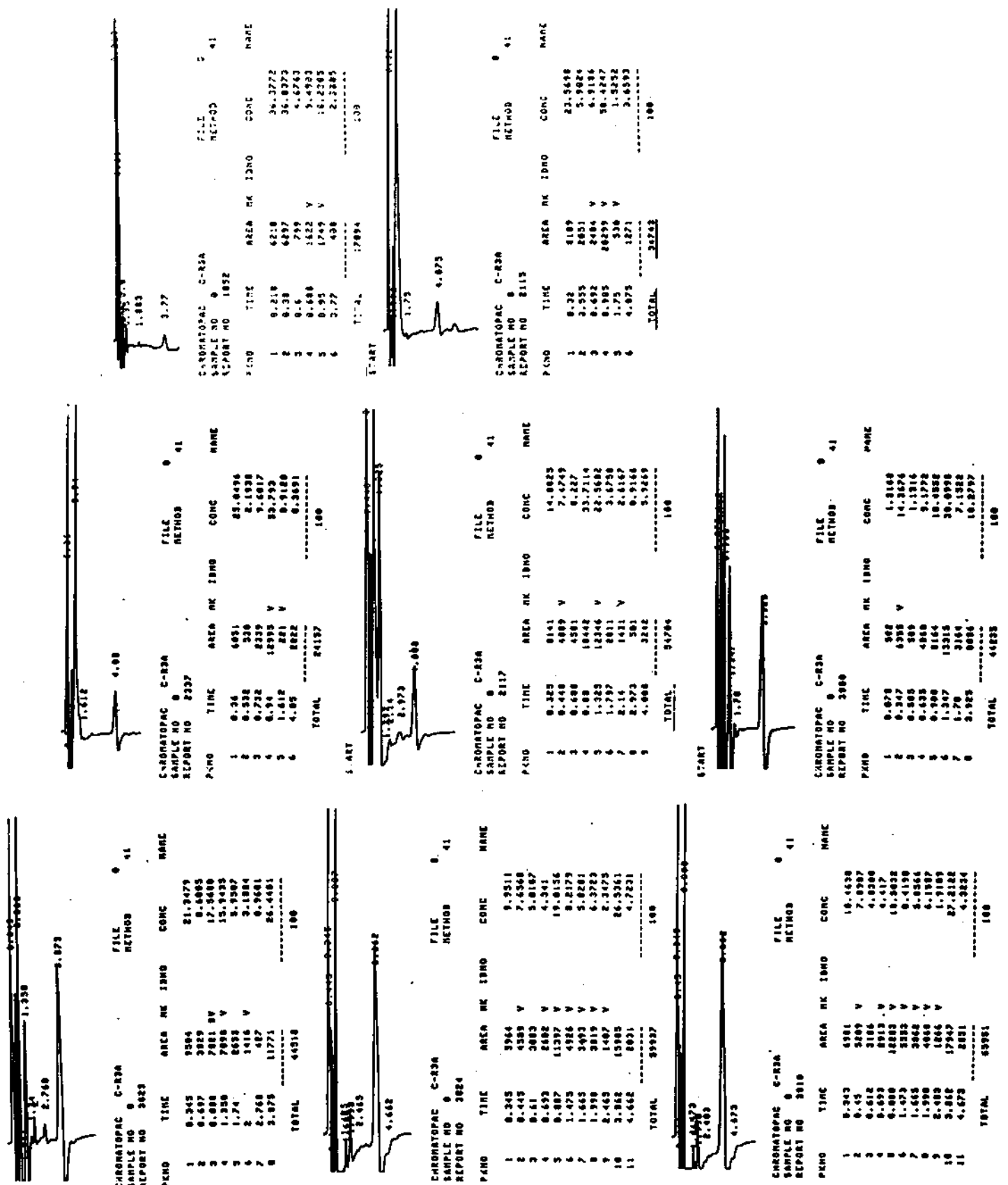
Dari data pada tabel 12 dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi (uji t untuk koefisien regresi dan uji F untuk evaluasi garis regresi). Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran VIII.

Dari lampiran VIII dapat disimpulkan bahwa persamaan garis regresi antara kadar Mipcin-TFA dan luas area adalah $Y = 5,61 X + 3121,70$.

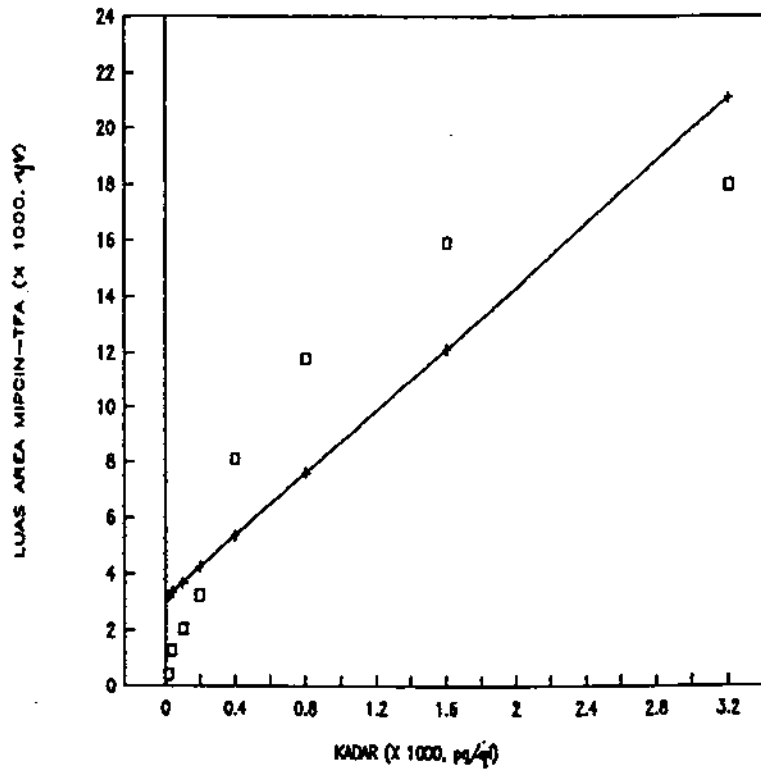
Dari uji t diperoleh harga $p < 0,05$, maka harga koefisien regresi signifikan. Jadi hubungan antara kadar Mipcin-TFA dan luas area merupakan hubungan yang linier.

Hasil uji F untuk evaluasi garis regresi diperoleh $p < 0,05$, maka disimpulkan bahwa persamaan garis regresi yang diperoleh linier dan valid.

Dari hasil-hasil perhitungan diatas, dapat disimpulkan bahwa hubungan antara kadar Mipcin-TFA dan luas area merupakan hubungan yang linier dan signifikan, dengan demikian semua metode untuk perhitungan kadar dapat digunakan. Pada penelitian ini digunakan perhitungan metode standar eksternal.



Sambar 32 : Kromatogram Mipcin-TFA 20 pg/μL, 40 pg/μL, 100 pg/μL, 200 pg/μL, 400 pg/μL, 800 pg/μL, 1600 pg/μL dan 3200 pg/μL, yang digunakan pada penentuan linieritas.



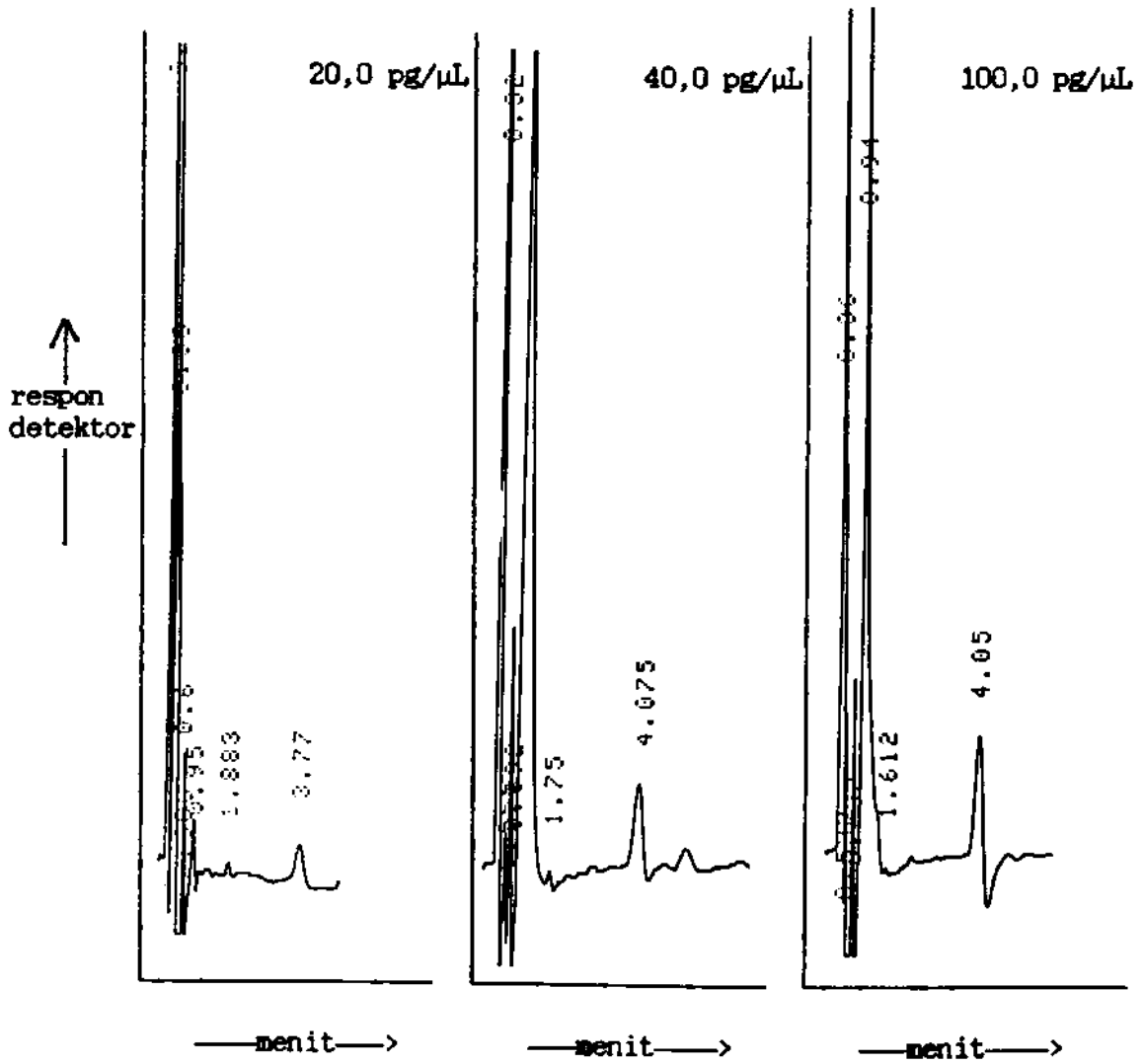
Gambar 33 : Kurva regresi linier antara kadar Mipcin-TFA dan luas area pada kadar 20,0 pg/μL, 40,0 pg/μL, 100,0 pg/μL, 200,0 pg/μL, 400,0 pg/μL dan 800,0 pg/μL, 1600 pg/μL dan 3200 pg/μL .

IV.2.3. Hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ) dari Mipcin-TFA.

Untuk menentukan harga LOD dan LOQ dari Mipcin-TFA terlebih dahulu ditentukan kadar terkecil dari Mipcin-TFA, dimana ratio tinggi respon (S) dan tinggi "noise" (N) tidak lebih kecil atau sama dengan 5 (pada kondisi ini digunakan "attenuation" = 0). Disini respon terkecil dari Mipcin-TFA didapatkan pada kadar 20 pg/ μ L, kromatogram yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 34.

IV.2.3.1. Hasil penentuan harga S.

Untuk menentukan harga S disuntikkan larutan Mipcin-TFA hasil derivatisasi dengan kadar 20,0 pg/ μ L, 40,0 pg/ μ L, 100,0 pg/ μ L, 200,0 pg/ μ L dan 400,0 pg/ μ L pada kondisi terpilih (attenuation = 0). Hasil kromatogram dapat dilihat pada tabel 13 dan gambar 35. Harga S merupakan koefisien regresi dari kurva linier hubungan antara kadar Mipcin-TFA dengan tinggi puncak kromatogram. Untuk itu dilakukan analisis regresi dan evaluasi garis regresi antara kadar Mipcin-TFA dan tinggi puncak kromatogram (lihat lampiran IX).



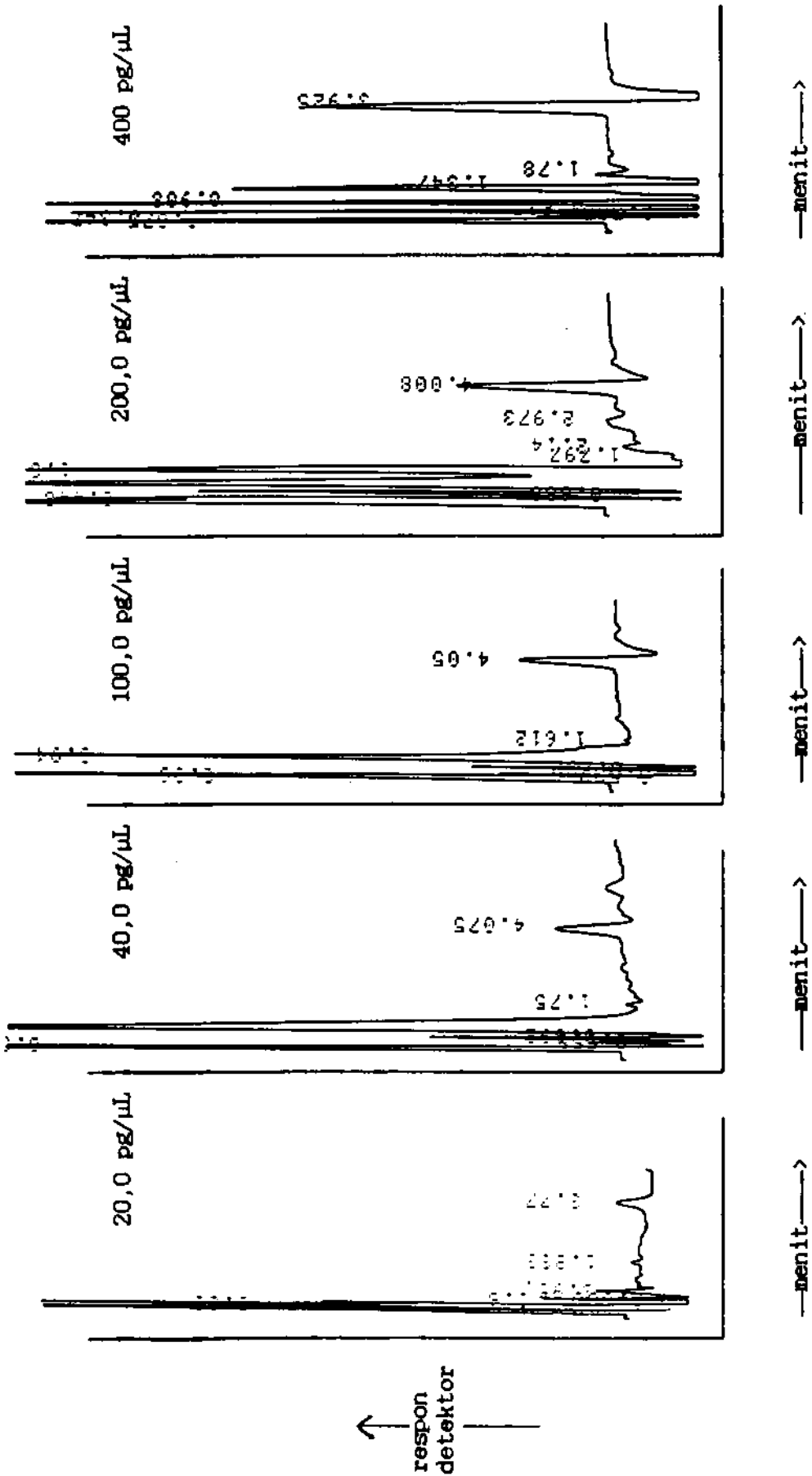
Gambar 34 : Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dengan konsentrasi 20,0 pg/μL, 40,0 pg/μL dan 100,0 pg/μL.

Tabel 13

Hasil kromatogram yang digunakan pada perhitungan harga S dari Mipcin-TFA

Kadar Mipcin-TFA	Tinggi puncak kromatogram
20 pg/ μ L	5 mm
40 pg/ μ L	11,5 mm
100 pg/ μ L	17 mm
200 pg/ μ L	28 mm
400 pg/ μ L	54 mm

Dari perhitungan pada lampiran IX, pada uji F untuk evaluasi garis regresi harga $p < 0,05$. Jadi hubungan antara kadar Mipcin-TFA dan tinggi puncak yang merupakan persamaan garis regresi $Y = 0,12 X + 4,35$ adalah linier dan valid. Dengan demikian harga koefisien regresi yang merupakan harga S, valid untuk perhitungan LOD dan LOQ.



Gambar 35 : Kromatogram Mipoin-TFA hasil derivatisasi 20,0 pg/μL, 40 pg/μL, 100 pg/μL, 200 pg/μL dan 400 pg/μL pada penentuan harga S.

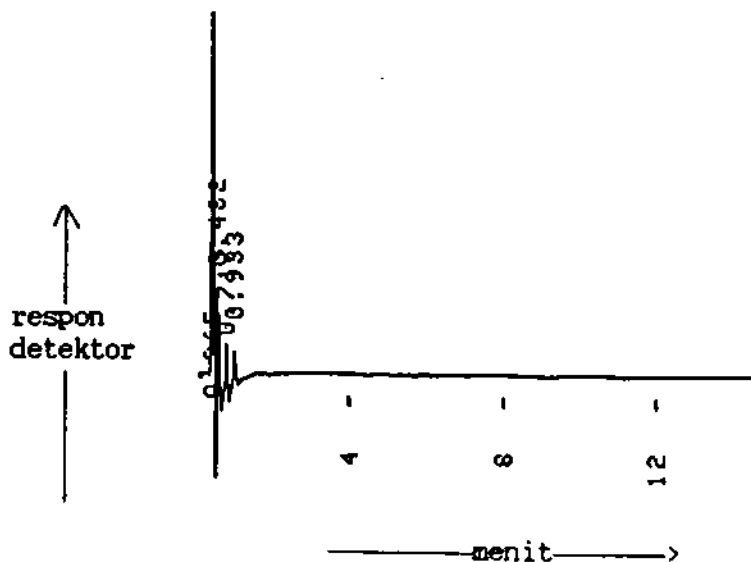
IV.2.3.2. Hasil penentuan harga S_B dari Mipcin-TFA.

Untuk menentukan harga S_B dari Mipcin-TFA, disuntikkan eluen saja dan diukur jarak puncak tertinggi dan puncak terendah dari "noise" pada daerah 20 X lebar puncak Mipcin-TFA, sehingga didapat harga N_{p-p} . Harga $S_B = N_{p-p} / 5$. Hasil dapat dilihat pada gambar 36, dan diperoleh harga $N_{p-p} = 1,5$, jadi harga $S_B = 0,3$. Dengan demikian harga LOD dan LOQ dapat dihitung.

$$\text{LOD} = k. S_B / S$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0,3 / 0,12 \text{ pg}/\mu\text{L} = 7,5 \text{ pg}/\mu\text{L}.$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0,3 / 0,12 \text{ pg}/\mu\text{L} = 25 \text{ pg}/\mu\text{L}.$$



Gambar 36 : "Baseline noise" pada penyuntikan eluen dari Mipcin-TFA

IV.2.4. Hasil penetapan kadar sampel air suling dan sampel air sungai yang mengandung "Mipcin" pada analisis melalui derivatisasi .

Dari lima kadar sampel air suling dengan kadar masing-masing 0,1 ppm (I), 0,2 ppm (II), 0,4 ppm (III) , 0,6 ppm (IV) dan 0,8 ppm (V) yang terdapat pada butir IV.1. 4., sehingga didapat konsentrasi akhir 12,5 ppm, 25,0 ppm, 50,0 ppm, 75,0 ppm dan 100,0 ppm, sebagian dilakukan analisis langsung tanpa derivatisasi dan hasilnya terdapat pada tabel 8. Sedangkan untuk analisis melalui derivatisasi, dilakukan reaksi terlebih dahulu seperti pada butir III.3.4.(skema pada lampiran II), sehingga didapatkan kadar Mipcin-TFA masing-masing 0,5 ng/ μ L, 1 ng/ μ L, 2 ng/ μ L, 3ng/ μ L dan 4 ng/ μ L. Dari hasil derivatisasi tersebut disuntikkan masing-masing sebanyak 1 μ L.

Pada analisis sampel air suling ini dipakai "attenuation" = 0,1 . Cara perhitungan kadar sampel dengan memakai metode standar eksternal analog dengan cara perhitungan kadar tanpa derivatisasi yang terdapat pada lampiran V. Salah satu contoh kromatogram sampel air suling 5 replikasi yang mengandung Mipcin 0,2 ppm dan setelah

dapat dilihat pada gambar 37 . Hasil analisis sampel air suling melalui derivatisasi ini diperoleh hasil seperti pada tabel 14, sedangkan kromatogram 5 macam kadar sampel dapat dilihat pada gambar 38

Tabel 14

Hasil penetapan kadar Mipcin lima macam sampel air suling dengan metode melalui derivatisasi.

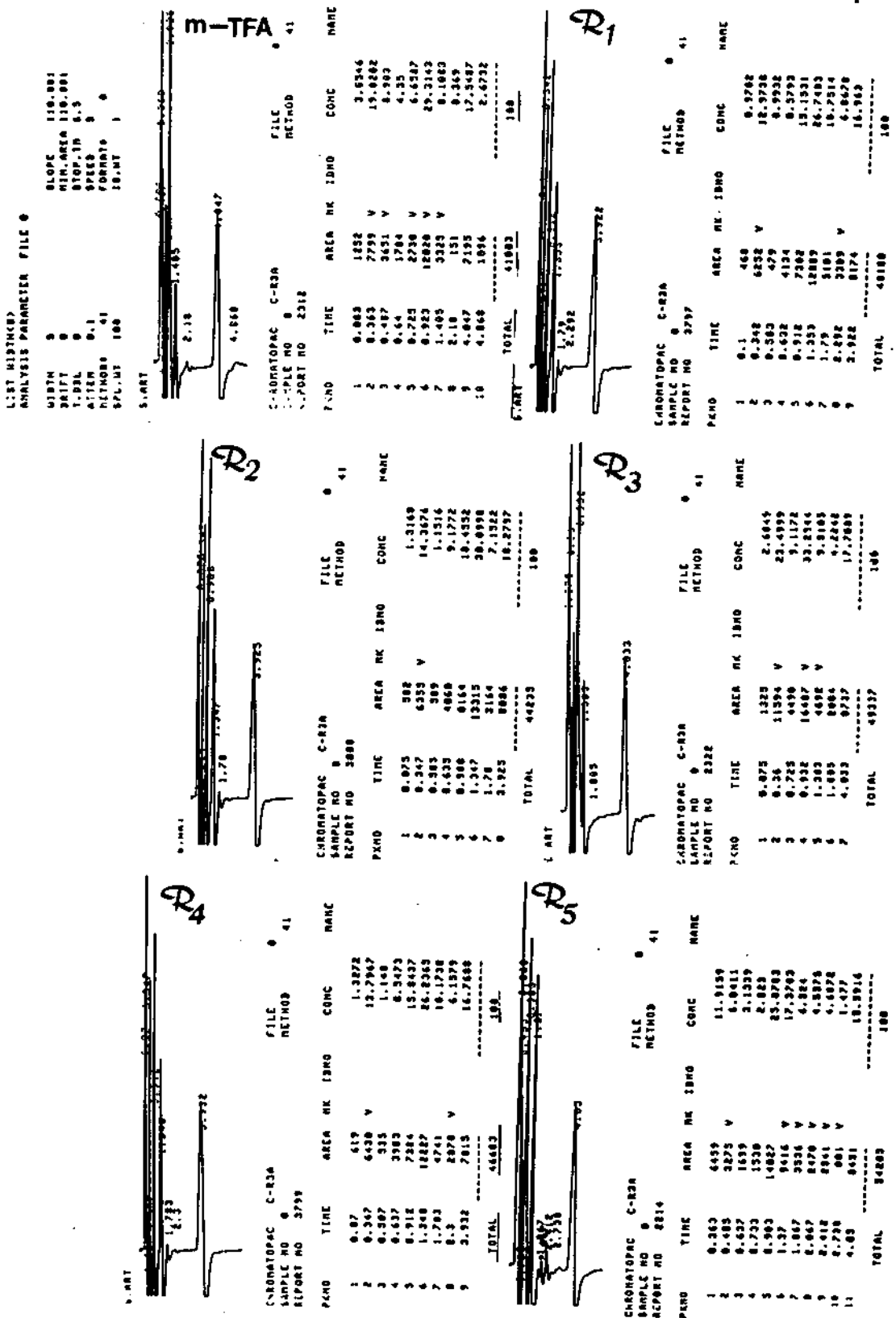
Replikasi	Kadar sampel air suling (%)				
	I	II	III	IV	V
1	100,59	90,88	77,78	90,50	88,59
2	93,29	89,91	98,39	92,19	79,00
3	99,93	97,14	81,78	96,16	94,90
4	84,24	86,89	80,82	98,06	107,08
5	81,36	93,96	92,54	99,50	102,32
\bar{x}	91,88	91,76	86,26	95,28	94,38
$\bar{X} = 91,91 \%$			SD = 3,51 %		
			KV = 3,82 %		

Sampel air sungai 5 macam kadar yang terdapat pada butir IV.1.4. sebagian langsung dianalisis (hasil pada tabel 9) dan sebagian dilakukan analisis derivatisasi yang analog dengan derivatisasi pada sampel air suling (skema pada lampiran I & II). Hasil analisis ditabelkan pada tabel 15 , sedangkan kromatogram 5 macam kadar sampel pada gambar 39

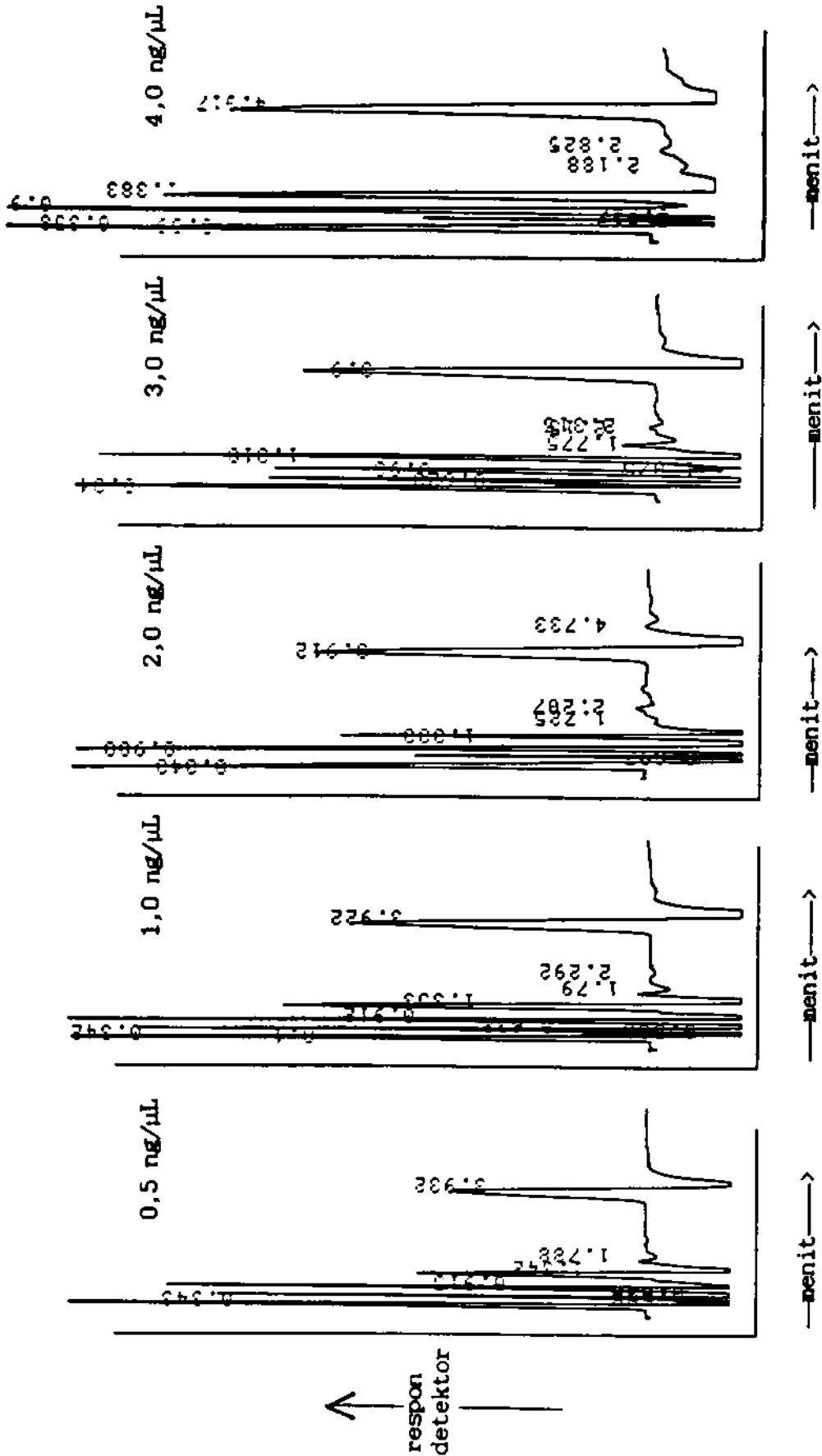
Tabel 15

Hasil penetapan kadar Mipcin pada lima macam sampel air sungai dengan metode melalui derivatisasi.

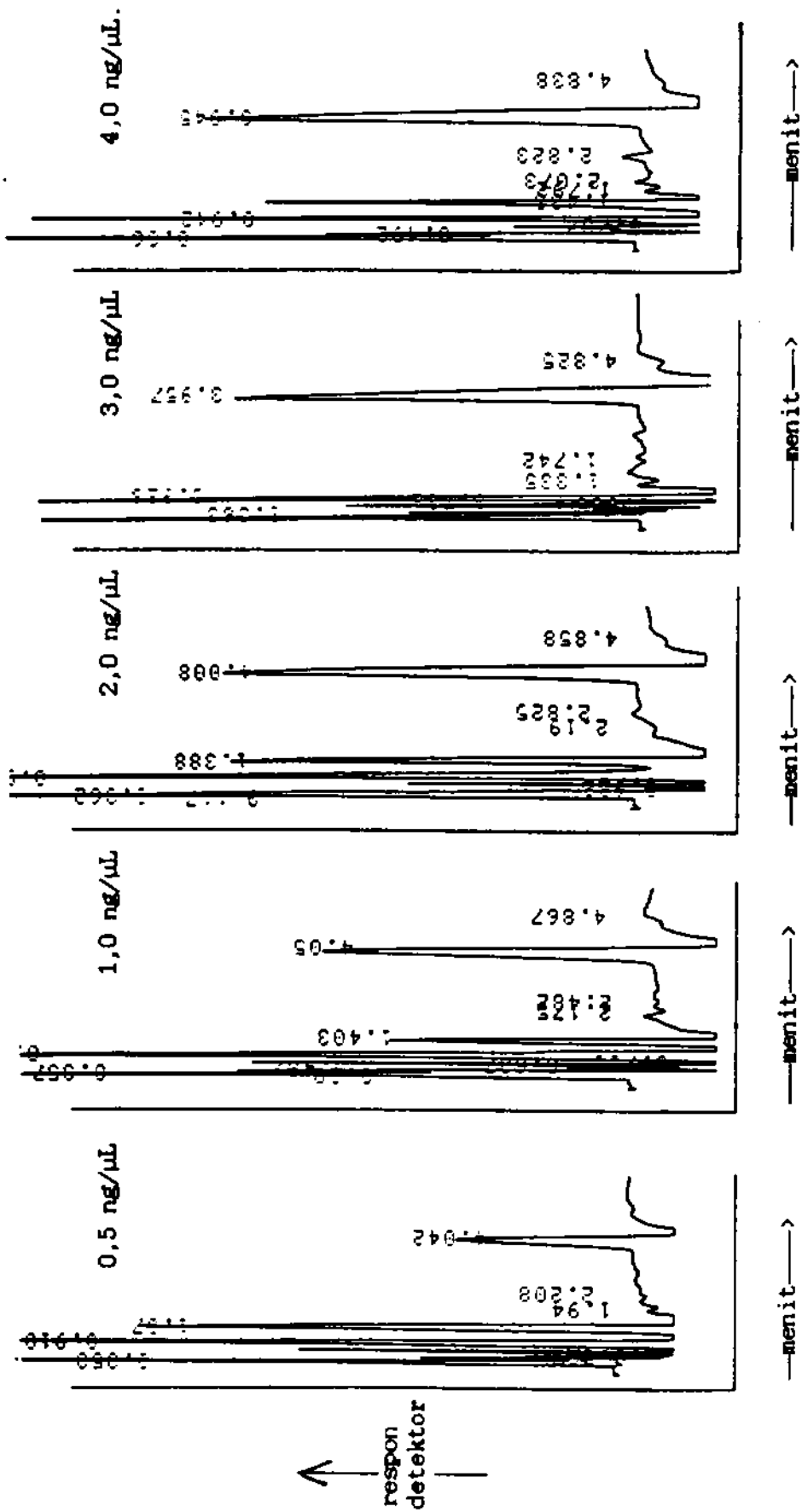
Replikasi	Kadar sampel air sungai (%)				
	I	II	III	IV	V
1	85,39	84,67	76,27	91,05	81,33
2	92,29	84,39	90,85	89,06	84,83
3	101,46	85,56	90,83	100,68	89,41
4	90,98	77,83	87,36	98,15	84,53
5	99,87	91,62	84,95	109,06	79,07
x	94,00	88,54	85,94	97,60	83,83
X = 89,98 %			SD = 5,71 %		
			KV = 6,35 %		



Gambar 37 : Kromatogram Mipcin-TFA baku (m-TFA) $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan hasil ekstraksi sampel air suling 0,2 ppm 5 replikasi (R1, R2, R3, R4 dan R5) dengan penyuntikan $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.



Gambar 38 : Kromatogram Mipcin-TFA hasil derivatisasi dari ekstraksi sampel air suling dengan kadar 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm dan 1,0 ppm dengan dengan penyuntikan masing-masing 0,5 ng/μL, 1,0 ng/μL, 2,0 ng/μL, 3,0 ng/μ dan 4,0 ng/μL.



Gambar 39 : Kromatogram Hpicin-TFA hasil derivatisasi dari ekstraksi sampel air sungai dengan kadar 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm dan 0,8 ppm, dengan dengan penyuntikan masing-masing 0,5 ng/μL, 1,0 ng/μL, 2,0 ng/μL, 3,0 ng/μ dan 4,0 ng/μL.

Dari perhitungan-perhitungan diatas, diketahui bahwa untuk analisis Mipcin dengan metode melalui derivatisasi diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Batas deteksi : 7,5 pg/ μ L

2. Batas kuantitasi: 25 pg/ μ L.

3. Kadar yang didapat kembali :

sampel air suling: 91,91 % \pm 3,51 %

sampel air sungai: 89,98 % \pm 5,71 %

4. Koefisien variasi :

sampel air suling: 3,82 %

sampel air sungai: 6,35 %

Menurut Anson Moye (1981) untuk analisis residu pestisida harga % "recovery" (kadar yang didapat kembali) sebaiknya > 85 % (12). Bila harga presisi 10 % masih dianggap memenuhi persyaratan, maka harga % "recovery" yang baik adalah 90 - 110%. Dari tabel 14 diketahui untuk metode melalui derivatisasi sampel air suling diperoleh kadar rata-rata 91,91 %, sedangkan sampel air sungai 89,98 %, yang berarti > 85 %. Untuk melihat apakah hasil yang diperoleh berbeda signifikan atau tidak dengan harga yang dianggap benar, maka dilakukan uji t satu sampel untuk sampel air suling pada lampiran X dan uji t satu sampel untuk air sungai pada lampiran XI.

Dari lampiran X diperoleh harga $p > 0,05$, jadi tidak ada perbedaan signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar untuk sampel air suling. Dari lampiran XI diperoleh harga $p > 0,05$, jadi tidak ada perbedaan signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar untuk sampel air sungai. Dengan demikian metode melalui derivatisasi mempunyai akurasi yang baik.

Menurut Anson Moye (12) untuk analisis residu pestisida harga presisi 10 % masih dianggap memenuhi persyaratan. Dari tabel 14 dan tabel 15 diketahui harga Koefisien Variasi dari sampel air suling = 3,82 % dan air sungai 6,35 %, yang berarti < 10 %. Dengan demikian presisi metode melalui derivatisasi dianggap memenuhi persyaratan.

IV.3. Komparasi hasil analisis sampel air suling dan air sungai yang "mengandung" Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan antara akurasi pada analisis Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan metode melalui derivatisasi, maka dilakukan perhitungan dengan uji t sepasang untuk sampel air suling maupun sampel air sungai (36).

Dari hasil analisis sampel air suling yang "mengandung" Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi dengan TFAA, ditabelkan pada tabel 16 dan perhitungannya pada lampiran XII

Dari hasil analisis sampel air sungai yang "mengandung" Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi dengan TFAA, ditabelkan pada tabel 17 dan perhitungannya pada lampiran XIII

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan antara presisi metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi, maka dilakukan uji variansi (uji F). Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran XIV

Tabel 16

Kadar sampel air suling yang " mengandung " Mipcin dengan analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi

Sampel	Tanpa derivatisasi (%)	Melalui deriatisasi (%)
I	76,65	91,88
II	88,81	91,76
III	77,02	86,26
IV	79,49	95,28
V	78,48	94,38
x	80,09	91,91
SD	5,01	3,51

Tabel 17

Kadar sampel air sungai yang " mengandung " Mipcin dengan analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi

Sampel	Tanpa derivatisasi (%)	Melalui deriatisasi (%)
I	78,02	94,00
II	76,57	88,54
III	70,43	85,94
IV	73,63	97,60
V	72,07	83,83
x	74,14	89,98
SD	3,13	5,71

Dari hasil uji t sepasang sampel air suling pada lampiran XII diperoleh harga $p < 0,05$. Jadi ada perbedaan signifikan antara kadar sampel air suling yang diperoleh dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

Dari hasil uji t sepasang sampel air sungai pada lampiran XIII diperoleh harga $p < 0,05$. Jadi ada perbedaan signifikan antara akurasi sampel air sungai yang diperoleh dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

Dari uji F untuk sampel air suling dan sampel air sungai pada lampiran XIV, diperoleh $F_{hitung} < F_{tabel}$. Jadi tidak ada perbedaan presisi yang signifikan antara metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

Hasil-hasil perhitungan pada analisis tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi ditabelkan pada tabel 18.

Tabel 18

Hasil perhitungan analisis Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

	Tanpa derivatisasi	Melalui derivatisasi
Batas deteksi	0,68 ng/ μ L	7,5 pg/ μ L
Batas kuantitasi	2,28 ng/ μ L	25 pg/ μ L
Kadar yang didapat kembali (n = 5)		
(sampel air suling)	80,08 % \pm 5,01 %	91,91 % \pm 3,51 %
(sampel air sungai)	74,14 % \pm 3,13 %	88,98 % \pm 5,71 %
Koefisien variasi (n = 5)		
(sampel air suling)	6,26 %	3,82 %
(sampel air sungai)	4,22 %	6,35 %

Dari perhitungan-perhitungan diatas dapat disimpulkan bahwa, pada analisis Mipcin dengan metode melalui derivatisasi dengan TFAA, dapat memperbaiki batas deteksi dan batas kuantitasi, dalam hal ini menjadi lebih kecil, juga memperbaiki akurasi. Sedangkan untuk presisi tidak ada perbedaan antara metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

IV.4. Evaluasi linieritas respon detektor ECD Ni⁶³ terhadap kadar Mipcin-TFA.

Telah diketahui bahwa detektor ECD mempunyai kelemahan yaitu rentang liniernya sempit. Pada daerah tertentu bentuk kurvanya makin landai, dimana kenaikan kadar akan membuat kenaikan luas area yang sedikit. Hal ini terlihat pada kurva kelinieran dari Lindan terhadap detektor ECD Ni⁶³ pada gambar 7 . Untuk senyawa Mipcin-TFA hasil derivatisasi, bentuk kurva linier seperti pada gambar 16 dengan persamaan garis regresi $Y = 5,61 X + 3121,70$ adalah signifikan (lampiran VI).

Untuk mengetahui apakah persamaan non linier Mipcin-TFA lebih sesuai dibandingkan bentuk liniernya, maka dilakukan evaluasi. Untuk itu maka tabel 12 ditransformasikan menjadi tabel 19 dan dilakukan uji regresi (lampiran XIV), sedangkan hasil kadar sampel air suling pada tabel 14 ditransformasikan menjadi tabel 20 dan tabel 21, dan masing-masing dilakukan uji regresi (lampiran XV dan XVI). Untuk Sampel air sungai pada tabel 15 ditransformasikan menjadi tabel 21 dan 22, dan masing-masing dilakukan uji regresi (lampiran XVII dan XIX).

Tabel 19

Harga log kadar Mipcin-TFA baku dan luas area

log kadar Mipcin-TFA	luas area
1,3010	408
1,6021	1271
2,00	2022
2,3010	3242
2,6021	8086
2,9031	11771
3,2041	15905
3,5051	17947

Tabel 20

Harga kadar Mipcin-TFA sampel air suling dan luas area

Kadar Mipcin-TFA (pg/ μ L)	luas area
459,4	5422
917,6	8253
1725,24	11145
2858,46	11977
3775,12	15818

Tabel 21

Harga log kadar Mipcin-TFA sampel air suling
dan luas area

log Kadar Mipcin-TFA	luas area
2,6622	5422
2,9626	8253
3,2368	11145
3,5769	11977
3,9749	15818

Tabel 22

Harga kadar Mipcin-TFA sampel air sungai
dan luas area

Kadar Mipcin-TFA (pg/ μ L)	luas area
467,99	3849
868,14	7808
1721,04	12372
2928	12257
3353,36	14038

Tabel 23

Harga log kadar Mipcin-TFA sampel air suling dan luas area

log Kadar Mipcin-TFA	luas area
2,6702	3849
2,9386	7808
3,2358	12372
3,4666	12257
3,5254	14038

Hasil-hasil perhitungan dari lampiran IV dan XII, lampiran XIII dan XIV, lampiran XV dan XVI ditabelkan pada tabel 24.

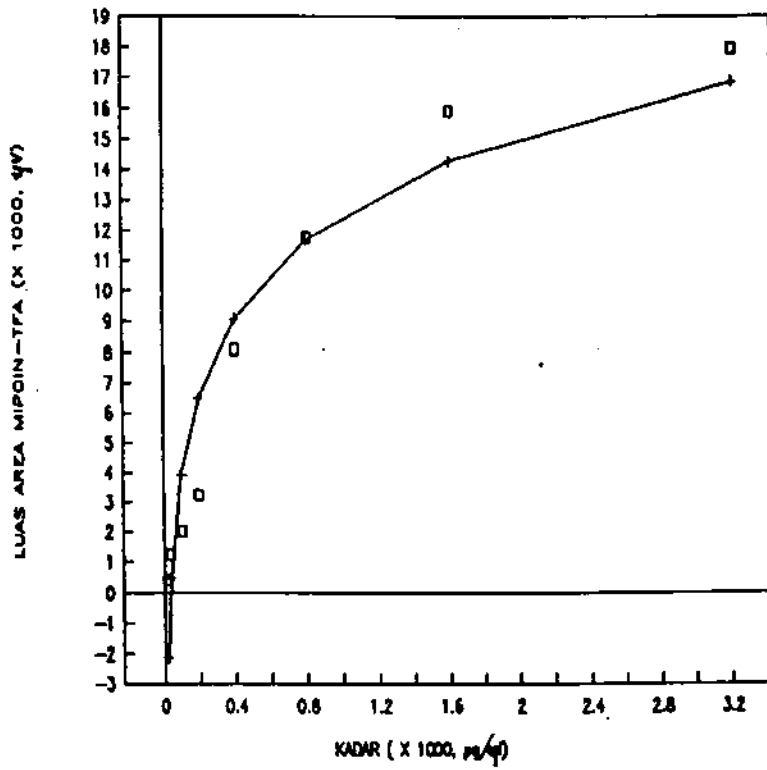
Tabel 24

Harga koefisien determinasi dan kemaknaan harga F dari Mipcin-TFA pada beberapa macam sampel

		Kurva linier	Kurva non linier
Harga R ²	Baku Mipcin-TFA	0,81	0,92259
	Sampel air suling	0,93474	0,97203
	Sampel air sungai	0,80796	0,93924
Kemaknaan harga F	Baku Mipcin-TFA	$2,464 \times 10^{-3}$	$1,949 \times 10^{-4}$
	Sampel air suling	$7,219 \times 10^{-3}$	$2,002 \times 10^{-3}$
	Sampel air sungai	0,030	$6,476 \times 10^{-3}$

Dari tabel 24 diketahui harga koefisien determinasi (r^2) dari baku Mipcin-TFA, sampel air suling dan sampel air sungai untuk kurva non linier > kurva linier. Sedangkan kemaknaan harga F untuk kurva non linier dari baku Mipcin-TFA, sampel air suling dan sampel air sungai < kemaknaan harga F kurva non linier. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa untuk Mipcin-TFA bentuk kurva non linier lebih sesuai dibandingkan bentuk kurva linier.

Jadi untuk Mipcin-TFA bentuk persamaan garis $Y = a + b \log X$ lebih sesuai daripada persamaan garis $Y = a + b X$. (kurva Mipcin-TFA baku $Y = -13332,56 + 8618,14 \log X$ dapat dilihat pada gambar 42).



Gambar 40 : Kurva non linier dari Mipcin-TFA baku dengan persamaan $Y = -13332,56 + 8618,14 \log X$.

BAB V

PEMBAHASAN

Untuk analisis pestisida golongan karbamat dengan kromatografi gas, dapat dilakukan dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi. Dilaporkan oleh Coburn dan kawan-kawan analisis pestisida N-metilkarbamat melalui derivatisasi dengan pentafluorobenzylbromid, dengan kromatografi gas detektor ECD, diperoleh "recovery" 87-98% , sedangkan pada penelitian Ueji yang menggunakan trifluoroasetat anhidrat sebagai derivator untuk carbaril dan propoxur, diperoleh "recovery" 91,2 - 98,8 % (14). Pada analisis carbaril tanpa derivatisasi diperoleh "recovery" 70% , sedangkan analisis untuk methomyl diperoleh "recovery" 75,1 % (13,14). Jadi adanya derivatisasi dapat menaikkan "recovery".

Pada metode analisis karbamat tanpa derivatisasi digunakan detektor FID, yang merupakan detektor umum untuk senyawa organik, karena memberikan respon pada hampir semua senyawa organik kecuali beberapa senyawa antara lain gas dan air (20,23). Karena detektor FID merupakan detektor yang tidak selektif, maka batas deteksinya relatif besar, untuk propana

10^{-12} g (16). Pada metode melalui derivatisasi digunakan detektor ECD yang merupakan detektor selektif dan memberikan respon yang tinggi untuk senyawa yang mengandung halogen, untuk Lindan dapat terdeteksi sampai pikogram (20). Jadi adanya derivatisasi dapat menaikkan batas deteksi.

Pada analisis dengan metode tanpa derivatisasi, digunakan detektor FID, kolom Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80, panjang 2m, ID 3 mm. Selain fase diam DC-200 P yang merupakan fase cair dengan kepolaran rendah, maka dapat digunakan juga fase cair yang lain yaitu SE-30 atau OV-17 yang mempunyai kepolaran menengah. Hal ini sesuai dengan sifat Mipcin yang mempunyai kepolaran menengah (20).

Pada penentuan selektifitas yaitu kondisi dimana senyawa yang dianalisis dapat dibedakan dengan senyawa yang strukturnya mirip atau senyawa lain yang mengganggu, maka digunakan campuran Mipcin dan 2-butilfenil N-metilkarbamat yang dikenal dengan nama dagang BPMC. Mula-mula aliran gas pembawa N_2 diatur pada kecepatan 30ml/menit, dimana kecepatan aliran ini pada umumnya merupakan kecepatan aliran yang optimum pada detektor FID (20,23). Pada penelitian Hari Purnomo dan kawan-kawan diketahui analisis Mipcin pada temperatur kolom 185° diperoleh hasil

yang baik (35). Karena itu pada penelitian ini optimasi dilakukan pada temperatur sekitar 185°C, yaitu 175°C, 180°C, 185°C, 190°C dan 195°C.

Dari hasil kromatogram diketahui BPMP yang mempunyai struktur hampir mirip dengan Mipcin dengan kelebihan gugus $-CH_2-$ yang berarti BPMP relatif kurang polar dari Mipcin, pada elusi dengan kolom DC-200 P yang mempunyai kepolaran rendah, maka Mipcin akan terelusi terlebih dahulu, sedangkan BPMP lebih tertahan. Sehingga harga t_R BPMP > dari harga t_R Mipcin. Harga resolusi (R_s) dan harga retensi relatif (α) pada semua temperatur yang dicoba, memenuhi persyaratan penisahan yang sempurna dimana harga $R_s > 1,5$ dan harga $\alpha > 1$ (tabel 3), tetapi kondisi yang terpilih adalah pada temperatur 190°C dengan pertimbangan pada temperatur 175°C, 180°C dan 185°C waktu yang dibutuhkan untuk elusi relatif lebih lama. Sedangkan pada temperatur 195°C waktu retensi Mipcin dan BPMP relatif terlalu kecil dan berdekatan, sehingga bila ada pengotoran zat lain kemungkinan dapat terjadi tumpang tindih kromatogram.

Pada kondisi yang terpilih dilakukan elusi campuran Mipcin dan BPMP pada bermacam-macam konsentrasi, untuk melihat apakah pada konsentrasi yang

berbeda-beda harga resolusi dan retensi relatif tidak berubah. Dari hasil percobaan pada tabel 4 terlihat bahwa harga Rs dan α relatif tidak terpengaruh oleh konsentrasi.

Untuk penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi digunakan metode Warlich & Carr. Pada penentuan Np-p yang merupakan jarak tertinggi dan terendah dari "baseline noise" eluen dari Mipcin, ditentukan pada daerah 20 X W (lebar puncak) dari Mipcin. Karena harga tR Mipcin = 3,698 - 3,798 menit dan W dibuat 5 detik, sedangkan "chart speed" = 5 mm/menit, maka dengan demikian harga Np-p dihitung pada daerah 2,7- 4,7 menit.

Untuk analisis melalui derivatisasi sebelum dilakukan analisis kuantitatif, maka dilakukan analisis kualitatif dengan kromatografi gas spektra massa untuk melihat apakah hasil derivatisasi sesuai dengan yang dikehendaki. Pada analisis ini digunakan kolom Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80 panjang 3 m, ID 3mm, sama dengan yang digunakan pada kromatografi gas- FID. Salah satu dari tujuan derivatisasi adalah membentuk suatu senyawa yang relatif lebih mudah menguap dibandingkan senyawa induknya, jadi pada umumnya analisis derivat yang terbentuk menggunakan temperatur yang lebih rendah

dari temperatur yang digunakan pada senyawa induknya (17). Karena itu pada analisis spektra massa digunakan temperatur < 190°C dan dipilih 175°C.

Pada reaksi derivatisasi digunakan " Trifluoro acetic acid anhidrat" (TFAA) sebagai derivator. Senyawa hasil derivatisasi dari Mipcin yaitu Mipcin-TFA mempunyai berat molekul 298, sedang BPMC-TFA dengan berat molekul 303. Dengan adanya tambahan gugus -TFA- , maka senyawa hasil derivatisasi mempunyai sifat yang lebih polar dibandingkan senyawa asalnya yaitu Mipcin, demikian juga untuk BPMC.

Pada analisis kuantitatif melalui derivatisasi digunakan detektor ECD, sedangkan kolom sama dengan yang digunakan pada analisis kualitatif dan analisis tanpa derivatisasi yaitu Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80. Detektor ECD merupakan suatu detektor yang sangat peka terhadap alkil halida dan dilaporkan untuk Lindan (pestisida yang mengandung klor) dapat terdeteksi sampai pikogram (20). Untuk senyawa hasil derivatisasi Mipcin-TFA yang mengandung gugus fluor, maka detektor yang sesuai adalah detektor ECD dan diharapkan senyawa ini akan terdeteksi sampai pikogram.

Temperatur kolom yang digunakan pada analisis kuantitatif dibuat sama dengan temperatur yang

digunakan pada analisis kualitatif yaitu 175°C , dengan pertimbangan pada temperatur ini berat molekul senyawa hasil derivatisasi sesuai dengan yang dikehendaki.

Untuk penentuan selektifitas digunakan campuran Mipcin-TFA dan BPMS-TFA yang dielusi pada temperatur kolom 175°C dengan kecepatan aliran gas pembawa bervariasi, yaitu 25 ml/menit, 30 ml/menit, 35 ml/menit, 40ml/menit dan 45 ml/menit. Pada semua kondisi ini harga resolusi (R_s) dan retensi relatif (α) memenuhi persyaratan pemisahan yang sempurna yaitu $R_s > 1,5$ dan $\alpha > 1$ (tabel 9). Dari berbagai kondisi ini kondisi yang terpilih adalah kondisi dengan kecepatan aliran gas 40 ml/menit, dengan pertimbangan pada aliran 25 ml/menit, 30 ml/menit dan 35 ml/menit memerlukan waktu elusi yang relatif lebih lama, sedangkan pada kecepatan 45 ml/menit waktu retensi Mipcin-TFA dan BPMS-TFA relatif kecil sehingga bila ada pengotor kemungkinan terjadi tumpang tindih kromatogram.

Pada penelitian ini untuk batas deteksi dan batas kuantitasi dari metode melalui derivatisasi dengan TFAA, diperoleh hasil 7,5 pg/ μL dan 25pg/ μL . Harga ini lebih kecil bila dibandingkan dengan batas deteksi dan batas kuantitasi dari metode tanpa

derivatisasi, yaitu 0,68 ng/ μ L dan 2,28 ng/ μ L. Hal ini sesuai dengan teori bahwa detektor FID adalah detektor tidak selektif, sedangkan detektor ECD adalah detektor selektif yang peka terhadap alkil halida.

Pada SK Menteri Kependudukan dan Lingkungan Hidup NO.02/Men KLH/I/1988 tentang Pedoman Penetapan Baku Mutu Lingkungan, untuk air golongan A tidak boleh mengandung pestisida, sedangkan air golongan B batas maksimum yang diperbolehkan 0,1 mg/L. Untuk menantau ketetapan-ketetapan ini perlu suatu metode yang cepat dan efektif. Bila dilihat dari batas deteksi yang dapat dicapai oleh detektor FID pada metode tanpa derivatisasi, maka kemungkinan untuk menantau karbanat pada air golongan A relatif tidak mudah. Adanya karbanat dalam jumlah pikogram dengan analisis tanpa derivatisasi kemungkinan tidak terdeteksi. Bila jumlah sampel diperbesar, kemungkinan akan memperbesar jumlah larutan pengestraksi dan menambah waktu analisis, sehingga analisis menjadi tidak efisien. Pada keadaan ini metode melalui derivatisasi dapat menjadi salah satu alternatif.

Pada penelitian ini sebagai ukuran akurasi metode digunakan uji t satu sampel. Suatu metode mempunyai akurasi yang baik, bila tidak ada perbe-

daan signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar. Harga akurasi biasanya dinyatakan sebagai % "recovery" (harga yang didapat kembali). Untuk membandingkan % "recovery" antar metode digunakan uji t sepasang. Adapun perbedaan presisi metode , dibandingkan dengan uji variansi (uji F). Metode dikatakan mempunyai presisi sama, jika harga F_{hitung} lebih kecil dari F_{tabel} pada $\alpha = 0,05$.

Menurut Anson Moye (1981) untuk analisis residu pestisida harga % "recovery" sebaiknya lebih besar dari 85 % (12). Bila presisi 10 % masih dianggap memenuhi persyaratan, maka harga presisi yang baik adalah 90 % - 110 %.

Pada penelitian ini untuk metode tanpa derivatisasi harga % "recovery" sampel air suling 80,09 % dan sampel air sungai 74,14 %. Harga ini < dari 85 % , yang berarti tidak memenuhi persyaratan akurasi metode yang baik. Hal ini dibuktikan dengan uji t satu sampel pada lampiran VI dan VII, dimana ada perbedaan signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar. Untuk metode melalui derivatisasi, harga % "recovery" sampel air suling 91,91 % dan sampel air sungai 89,98 % . Harga ini > dari 85 % , yang berarti memenuhi persyaratan

akurasi metode yang baik. Hal ini dibuktikan dengan uji t satu sampel pada lampiran X dan XI, dimana tidak ada perbedaan signifikan antara harga yang diperoleh dengan harga yang dianggap benar. Pada perhitungan uji t sepasang untuk perbandingan antara metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi pada lampiran XII dan XIII, terbukti bahwa ada perbedaan signifikan antara kedua metode tersebut.

Berdasarkan uji F pada lampiran XIV, ternyata tidak ada perbedaan signifikan antara metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi.

Analisis Mipcin dengan metode tanpa derivatisasi dan melalui derivatisasi, ekstraksi dilakukan dari sampel sebanyak 250 ml. Ekstraksi dilakukan 2x dengan metilen klorida masing-masing 50 ml, dipekatkan, dialiri N₂ sampai kering dan dilarutkan dengan etil asetat 2 ml. Dari sampel 0,1 ppm diperoleh hasil akhir dengan konsentrasi 12,5 ppm. Harga LOQ dari Mipcin adalah 2,28 ng/ μ L, bila sampel yang disuntikkan 2 X LOQ = 4,56 ng/ μ L dan kadar sampel 0,1 ppm, maka harga 4,56 ng/ μ L berasal dari :

$$\text{sampel sejumlah : } \frac{4,56 \text{ ng}/\mu\text{L}}{12,5 \text{ ng}/\mu\text{L}} \times 250 \text{ ml} = 91,2 \text{ ml.}$$

Pada air sungai dengan metode tanpa derivatisasi harga "recovery" 74,14 %. Jadi untuk mendapatkan 2

X LOQ, sampel air sungai yang diekstraksi :

$$\frac{100}{74,14} \times 91,2 \text{ ml} = 123,0 \text{ ml}$$

Untuk analisis melalui derivatisasi dari hasil ekstraksi 12,5 ppm, diambil 0,2 ml, dilakukan derivatisasi, diperoleh Mipcin-TFA 500 pg/ μ L. Harga LOQ dari Mipcin-TFA = 25 pg/ μ L, bila disuntikkan Mipcin-TFA 2 X LOQ = 50 pg/ μ L dan kadar sampel 0,1 ppm, maka harga 50 pg/ μ L berasal dari:

$$\text{sampel sejumlah : } \frac{50 \text{ pg}/\mu\text{L}}{500 \text{ pg}/\mu\text{L}} \times 250 \text{ ml} = 25 \text{ ml.}$$

Pada air sungai dengan metode melalui derivatisasi, harga "recovery" 89,98 %. Jadi untuk mendapatkan 2 x LOQ, sampel air sungai yang diekstraksi :

$$\frac{100}{89,98} \times 25 \text{ ml} = 27,78 \text{ ml.}$$

Jadi dapat disimpulkan bahwa, dengan analisis tanpa derivatisasi untuk mendapatkan harga 2 x LOQ, dari sampel 0,1 ppm dibutuhkan ekstraksi sebanyak 123,0 ml, sedangkan metode melalui derivatisasi untuk 2 X LOQ dibutuhkan ekstraksi 27,78 ml sampel.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa, ada beberapa keuntungan dari metode melalui derivatisasi

dibandingkan dengan tanpa derivatisasi yaitu :

1. Batas deteksinya lebih kecil, dengan demikian bila ada sampel yang tidak terdeteksi dengan dengan metode tanpa derivatisasi (detektor FID), dapat dilakukan analisis dengan metode melalui derivatisasi (detektor ECD).
2. Batas kuantitasnya lebih kecil, dengan demikian sampel yang dibutuhkan untuk analisis menjadi lebih sedikit dan ini berarti menghemat larutan pengekstraksi.
3. Akurasinya lebih besar.

Pada evaluasi respon Mipcin-TFA terhadap detektor ECD Ni⁶³, maka ternyata bentuk kurva yang lebih sesuai adalah bentuk kurva non linier yang analog dengan respon dari Lindan terhadap detektor ECD Ni⁶³. Hal ini terbukti pada perhitungan yang terdapat pada tabel 23 dimana harga koefisien determinasi (r^2) dari kurva non linier $Y = b \log X + a$ > dari kurva linier $Y = b X + a$, baik untuk baku Mipcin-TFA, sampel air suling dan sampel air sungai. Sedangkan kemaknaan harga F kurva non linier < dari kurva linier.

Bentuk kurva non linier $Y = b \log X + a$ lebih sesuai untuk Mipcin-TFA dapat diterima karena secara

teoritis respon Mipcin-TFA yang mempunyai gugus Fluoro akan mempunyai profil yang analog dengan senyawa lain yang mengandung halogen seperti Lindan. Hal ini sesuai bila dilihat mekanisme kerja dari detektor ECD, dimana detektor ini mengukur hilangnya sinyal, bukan mengukur arus listrik yang terjadi secara positif (20). Ketika gas pembawa nitrogen mengalir melalui detektor, sumber Ni^{63} mengionkan molekul nitrogen dan terbentuk elektron lambat yang menghasilkan arus tetap (20). Jika ada cuplikan yang mengandung molekul yang dapat menyerap elektron, maka arus akan dikurangi. Mula-mula cuplikan akan menyerap elektron sesuai dengan banyaknya senyawa dan ukuran afinitas elektron senyawa tersebut, makin banyak jumlah cuplikan atau makin besar ukuran afinitas elektron senyawa tersebut makin besar penurunan arus, dan ini terlihat sebagai kurva yang curam pada kurva kadar versus respon detektor. Pada kadar tertentu cuplikan akan menyerap elektron secara maksimum, dan pada kadar di atasnya karena jumlah elektron yang dapat terserap terbatas, meskipun kadar cuplikan bertambah, jumlah elektron yang terserap akan bertambah sedikit, dan ini akan terlihat sebagai bentuk kurva yang landai.

BAB VI

KESIMPULAN

Dari hasil-hasil pengujian dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

Pada analisis pestisida Mipcin (2-isopropilfenil N-metilkarbamat) dengan kromatografi gas - detektor ECD kolom Silicon DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80 :

1. Metode melalui derivatisasi menggunakan trifluoroasetat anhidrat (TFAA), dapat memperbaiki batas deteksi dan batas kuantitasi. Dengan metode tanpa derivatisasi batas deteksi Mipcin 0,68 ng/ μ L dan batas kuantitasi 2,28 ng/ μ L, sedangkan melalui derivatisasi batas deteksinya 7,5 pg/ μ L dan batas kuantitasnya 25 pg/ μ L.
2. Metode melalui derivatisasi menggunakan TFAA, dapat memperbaiki akurasi. Dengan metode tanpa derivatisasi kadar yang didapat kembali dari sampel air suling 80,09 % \pm 5,01 % dan sampel air sungai 74,14 % \pm 3,13 %, sedangkan melalui derivatisasi 91,91 % \pm 3,51 % dan 89,98 % \pm 5,71 %.
3. Metode melalui derivatisasi menggunakan TFAA , tidak merubah presisi. Dengan metode tanpa derivatisasi koefisien variasi sampel air suling 6,26 % dan sampel air sungai 4,22 %, sedangkan melalui derivatisasi 3,82 % dan 6,35 %.

BABVII
SARAN-SARAN

Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa:

Untuk mengevaluasi pestisida Mipcin (2-isopropilfenil N-metilkarbamat) dalam air, dalam rangka pelaksanaan Keputusan Menteri KLH No.02/Men KLH/I/1988 tentang pedoman baku mutu lingkungan atau Permenkes No 416/Menkes/Per/IX/1990 tentang kualitas air, analisis kromatografi gas-detektor ECD kolom DC-200 P 10 % Uniport HPS 60/80 dengan metode melalui derivatisasi menggunakan derivator Trifluoroasetat anhidrat , dapat digunakan sebagai metode alternatif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sudarmo Subiyakto, 1988, Pestisida Tanaman , Kanisius, Bandung , 10 - 14.
2. Natawigena, H, 1983, Pestisida dan Kegunaannya, Armoco, Bandung, 1 - 23.
3. Dinas Pertanian Propinsi Jawa Timur, 1988, Laporan Tahunan tentang Penyaluran dan Penggunaan Pestisida Tahun 1987/1988 dan 1988.
4. Biro Hukum dan Hubungan Masyarakat, 1983, Sekretariat Jenderal Departemen Kesehatan Republik Indonesia No. 453/MENKES/Per/XI/1983 tentang Bahan Berbahaya dan Beracun, Jakarta .
5. Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup, 1988, No. Kep 02/Men/KLH/I/1988 tentang Pedoman Penetapan Baku Mutu Lingkungan, Jakarta .
6. Biro Hukum dan Hubungan Masyarakat, 1990, Sekretariat Jenderal Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.416/Menkes/Per/IX/1990, tentang Syarat-syarat dan Pengawasan kualitas air, Jakarta.
7. Mc. Ewen, F.L. Stephenson, GR ; 1979, The Use and Significance of Pesticide in the Environment, John Wiley and Sons, New York , 365 - 378.
8. Sudana Atmawijaya, 1986, Masalah pemantauan

residu pestisida dalam pangan di Indonesia pada dewasa ini, disampaikan pada Seminar Keamanan Pangan dalam Pengolahan dan Penyajian, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

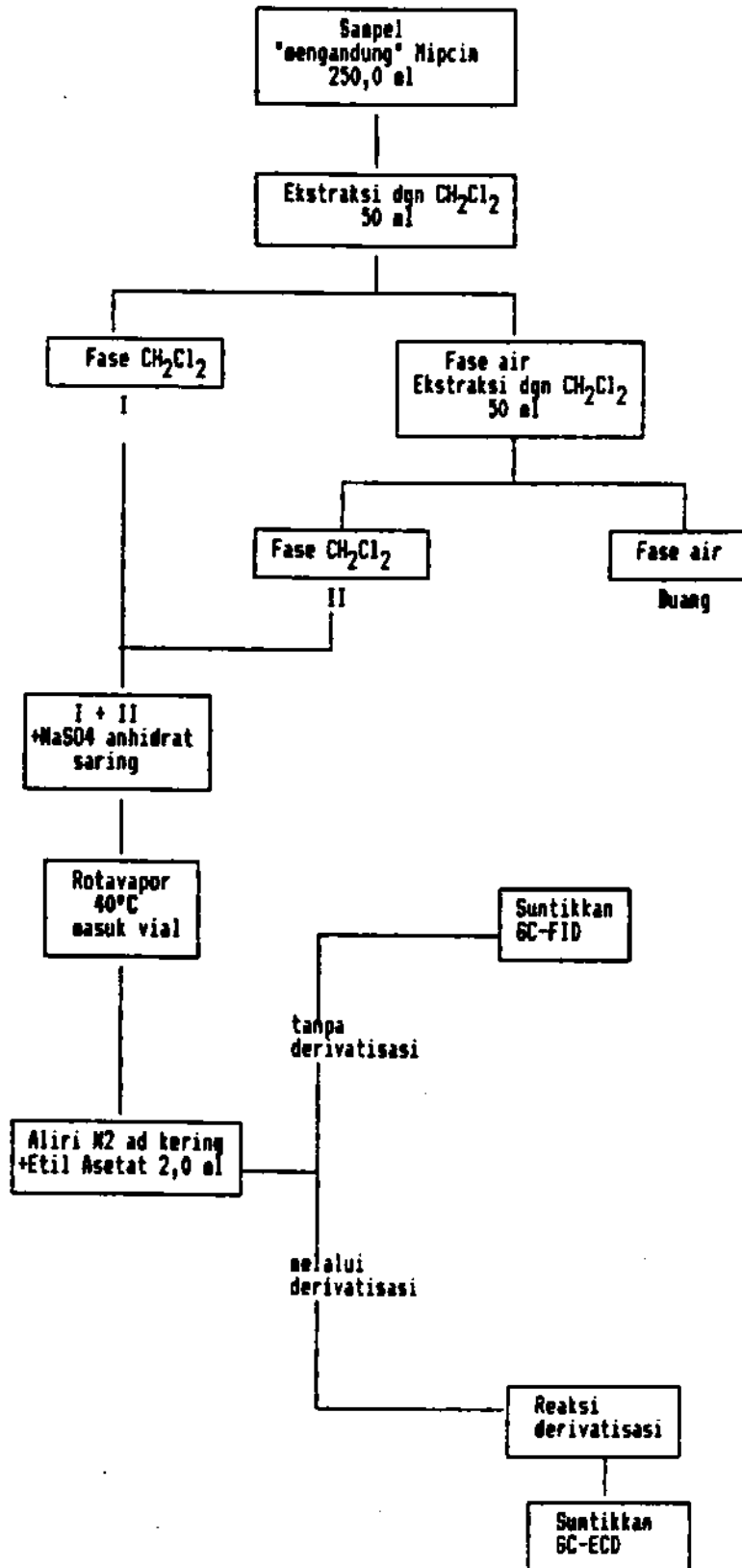
9. WHO, 1986, Carbamate Pesticide a general introduction, Environmental Health Criteria 64, Geneva, 11 - 25.
10. Skoog, Douglass. A, 1985, Principles of Instrumental Analysis, 3rd edition, Sanders College, Philadelphia, 727 - 775.
11. Mohammad Zainuddin, 1985, Analisa Residu Pestisida pada beras, bekatul dan jerani pada tanaman padi yang disemprot pestisida dengan Gas Kromatografi, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
12. Hoyer, H. Anson, 1981, Analysis of Pesticide Residues, John Wiley & Sons, New York/Chichester/Brisbane/Toronto, 333-444.
13. Kuhr, R.J.; Dorough, H.W., 1976, Carbamate Insecticides, Chemistry, Biochemistry, and Toxicology; CRC Press, Cleveland Ohio, 247- 253.
14. Crompton, TR ; 1985, Determination of Organic Substances in Water, John Wiley and Sons, New York , 361 - 371.
15. Ueji ; Masako ; Kanazawa, Jun ; 1974, Method for the Residue Determination of Carbamate Pesticide in Corps, JARQ Vol. 8 No, 22, 67 - 71.

16. Grob, Robert L, 1977, Modern Practice of Gas Chromatography, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York - Chichester - Brisbane - Toronto, 151-213.
17. Crippen, Raymond.C, 1983, GC/ LC Instruments Derivates in Identifying Pollutants and Unknowns, Pergamon Press, New York, 1-4, 209-222.
18. Soemadi, 1991, Catatan untuk analisis runut guna mengendalikan cemaran dan kontaminan kimia, Majalah Kimia Indonesia, 3, Surabaya, 4-5.
19. Validation of Compedial Methods, 1990, The United States Pharmacopeia & The National Formulary, US Pharmacopeial Convention Inc.Mack Printing Coy, Easton - PA, 1710 - 1712.
20. Mc Nair,H.M, Bonelli, E.J., Dasar Kromatografi Gas,terjemahan Kosasih Padmawinata, 1988, Penerbit ITB, Bandung.
21. Pecsock, RL.et.al, 1976, Modern method of Chemical Analysis, 2nd, John Willey & Sons, New York, 41-53.
22. Yulia Kantasubrata, 1987, kolom HPLC, Simposium HPLC, Surabaya.
23. Miller, James.M, 1988, Chromatography Concepts & Contrasts, John Wiley & Sons, News York/Chichester/Brisbane/Toronto/Singapore, 126 - 131.

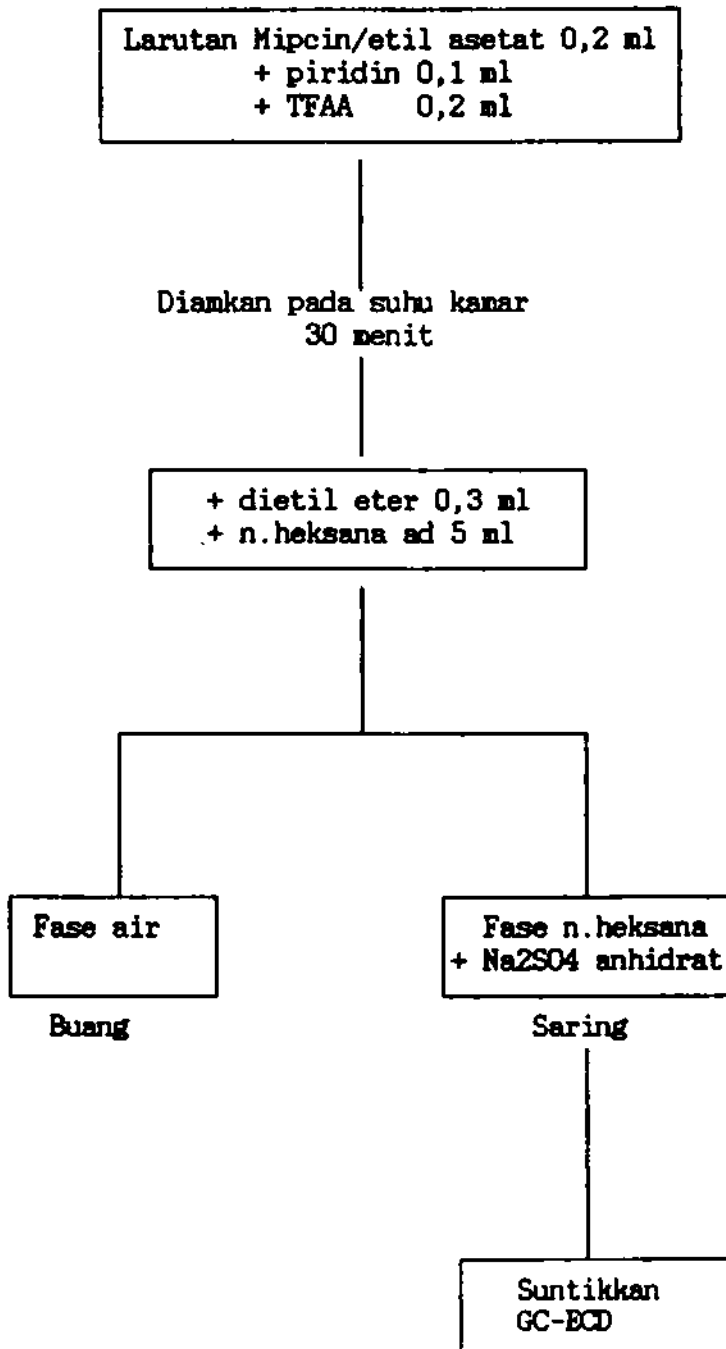
24. Hardjono Sastrohamidjojo, 1991, Spektroskopi, Edisi kedua, Liberty, Yogyakarta, 163-190.
25. Kemp, William, 1975, Organic Spectroscopy, The Mac Millian Press, London, 185-187.
26. Gritter, Roy, et.al, Pengantar Kromatografi, terjemahan Kosasih Padmawinata, 1991, Edisi kedua, Penerbit ITB, Bandung, 34-81.
27. Clarke, E.G.C, 1986, Clarke's Isolation and Identification of drugs, 2nd Ed. Pharmaceutical Press, London, 178 - 198.
28. Bauer, H.H, Christian, G.D, 1978, O'Reilly, J.E, Instrumental Analysis, Allyn and Bacon Inc, Boston, 767 - 788.
29. Shimadzu Corporation, Chromatopac C-R 3A Instruction Manual, Kyoto, Japan.
30. Wahlich, J.C, Carr, G.P., 1990, J. Pharm. Biomed. Analysis, 8, 619 - 623.
31. Man, J.B., 1976, Manual for Training in Pesticide Analysis, University of Miami School of Medicine, Departement of Epidemiologi and Public Health, Miami, Florida.
32. Achmad Inoni dan kawan-kawan, 1977, Laporan Penelitian Pemeriksaan Kualitatif dan Kwantitatif Beberapa Pestisida, Universitas Airlangga Fakultas Farmasi.

33. Edwardson, A.D. et al., 1990, J.Pharm. Biomed. Analysis, 8, 929 - 933.
34. Robinson, James. W (Ed), 1982, Analysis of Pesticides in water, Volume III Nitrogen-Containing Pesticides, CRC Press, Florida.
35. Hari Purnomo, et.al, 1989, A study on the utilization of pesticide contaminated cabbage waste for rabbit feed, Brawijaya University, Malang.
36. Sutrisno Hadi., Statistik, 1990, Andi Ofset, Yogyakarta, 367 - 431.
37. Sudjana, 1992, Teknik analisis regresi dan korelasi bagi para peneliti, Edisi ketiga, Penerbit "Tarsito" Bandung.
38. Daniel, Wayne W., Biostatistics : A Foundation for Analysis in the Health Sciences, 2nd, John Wiley & Sons, New York - Chichester - Brisbane - Toronto, 1978, 203 - 249.
39. Zainal Mustafa EQ, 1992, Panduan MicroStat untuk mengolah data statistik, Edisi Kedua, Andi Ofset, Yogyakarta.
40. Miller J.C. and Miller J.N. , 1988, Statistic for Analytical Chemistry, Second edition, Ellis Horwood Limited, England, 54-59, 104-109.
41. Munson, James W., Analisis Farmasi metode modern, 1981, terjemahan Harjana, Airlangga University Press, Surabaya, 45-51.

LAMPIRAN I SKEMA CARA KERJA



LAMPIRAN II
SKEMA REAKSI DERIVATISASI



LAMPIRAN III

Analisis regresi kadar Mipcin vs luas area

HEADER DATA FOR: B:RIRINS1 LABEL: Analisis regresi kadar Mipcin vs area
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	area
1	2.5	477.0
2	5.0	723.0
3	10.0	1337.0
4	20.0	2443.0
5	40.0	5435.0
6	80.0	9361.0
7	100.0	10272.0
8	160.0	21136.0

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RIRINS1 LABEL: Analisis regresi kadar Mipcin vs area
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

----- Analisis regresi kadar Mipcin vs luas area -----

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	52.18750	56.49648
DEP. VAR.:	area	6398.00000	7075.54006

 DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 6)	PROB.
kadar	124.02615	7.09716	17.475	.00000
CONSTANT	-74.61495			

STD. ERROR OF EST. = 1060.85203

r SQUARED = .98073
 r = .99032

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	343690427.78419	1	343690427.78419	305.392	2.252E-06
RESIDUAL	6752442.21582	6	1125407.03597		
TOTAL	350442870.00001	7			

LAMPIRAN IV

Analisis regresi kadar Mipcin vs tinggi puncak

HEADER DATA FOR: B:ANREGMIP LABEL:
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	tinggi
1	2.50	3.50
2	5.00	7.00
3	10.00	11.50
4	20.00	24.00
5	40.00	53.00

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:ANREGMIP LABEL:
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

Analisis regresi kadar Mipcin vs tinggi puncak

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	15.500	15.248
DEP. VAR.:	tinggi	19.800	20.114

DEPENDENT VARIABLE: tinggi

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
kadar	1.316	.049	26.863	.00011
CONSTANT	-.604			

STD. ERROR OF EST. = 1.494

r SQUARED = .996
r = .998

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	1611.600	1	1611.600	721.619	1.132E-
RESIDUAL	6.700	3	2.233		
TOTAL	1618.300	4			

LAMPIRAN V

Contoh cara perhitungan kadar Mipcin dengan metode standar eksternal.

$$C_x = \frac{A_x}{A_{st}} \times C_{st}$$

Dari kromatogram pada gambar 21 :

A_{st} = luas area puncak kromatogram standar = 2658.

A_x = luas area puncak kromatogram sampel = 2963.

C_{st} = konsentrasi standar = 20,0 ppm.

Maka :

$$\text{Kadar sampel} = \frac{2963}{2658} \times 20,0 \text{ ppm} = 22,295 \text{ ppm.}$$

Kadar seharusnya = 25 ppm.

$$\text{Kadar sampel} = \frac{22,295 \text{ ppm}}{25 \text{ ppm}} \times 100\% = 89,18 \%$$

LAMPIRAN VI

**Uji t satu sampel dari sampel air suling
dengan metode tanpa derivatisasi**

HEADER DATA FOR: B:TANAQUA1 LABEL: Uji t
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

	tanaqual
1	76.65
2	88.81
3	77.02
4	79.49
5	78.48

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:TANAQUA1 LABEL: Uji t
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

MEAN VS. HYPOTHESIZED VALUE

Uji t satu sampel dari sampel air suling tanpa derivatisasi

HEADER DATA FOR: B:TANAQUA1 LABEL: Uji t sepasang under aqua
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

HYPOTHESIZED VALUE =	90.0000
MEAN =	80.0900
STD. DEV. =	5.0062
STD. ERROR =	2.2389
N =	5 (CASES = 1 TO 5)

T = -4.4264 (D.F. = 4) VARIABLE TESTED: tanaqual
PROB. = 5.727E-03

LAMPIRAN VII

Uji t satu sampel dari sampel air sungai
dengan metode tanpa derivatisasi

HEADER DATA FOR: B:TANAIRSU LABEL: Uji t satu sampel tanairsu
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

	tanairsu
1	78.02
2	76.57
3	70.43
4	73.63
5	72.07

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:TANAIRSU LABEL: Uji t satu sampel tanairsu
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

MEAN VS. HYPOTHESIZED VALUE

Uji t satu sampel dari sampel air sungai tanpa derivatisasi

HEADER DATA FOR: B:TANAIRSU LABEL: Uji t satu sampel tanairsu
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

HYPOTHESIZED VALUE =	90.0000
MEAN =	74.1440
STD. DEV. =	3.1332
STD. ERROR =	1.4012
N =	5 (CASES = 1 TO 5)

T = -11.3159 (D.F. = 4) VARIABLE TESTED: tanairsu

PROB. = 1.738E-04

LAMPIRAN VIII

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area

HEADER DATA FOR: B:RS2 LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA vs luas area
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	area
1	20.0	408.0
2	40.0	1271.0
3	100.0	2022.0
4	200.0	3242.0
5	400.0	8086.0
6	800.0	11771.0
7	1600.0	15905.0
8	3200.0	17947.0

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS2 LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA vs luas area
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

----- Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area -----

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	795.00000	1108.13872
DEP. VAR.:	area	7581.50000	6923.57758

 DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 6)	PROB.
kadar	5.60982	1.12299	4.995	.00246
CONSTANT	3121.69594			

STD. ERROR OF EST. = 3292.44878

r SQUARED = .80617
 r = .89787

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	270510172.30969	1	270510172.30969	24.954	2.464E-03
RESIDUAL	65041313.69030	6	10840218.94838		
TOTAL	335551485.99999	7			

LAMPIRAN IX

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs tinggi puncak

HEADER DATA FOR: B:RS3 LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA vs tinggi puncak
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	tinggi
1	20.0	5.0
2	40.0	11.5
3	100.0	17.0
4	200.0	28.0
5	400.0	54.0

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS3 LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA vs tinggi puncak
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

 Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs tinggi puncak kromatogram

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	152.00	155.31
DEP. VAR.:	tinggi	23.10	19.22

 DEPENDENT VARIABLE: tinggi

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
kadar	.12	5.713E-03	21.596	.00022
CONSTANT	4.35			

STD. ERROR OF EST. = 1.77

r SQUARED = .99
 r = 1.00

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	1468.75	1	1468.75	466.381	2.173E-04
RESIDUAL	9.45	3	3.15		
TOTAL	1478.20	4			

LAMPIRAN X

**Uji t satu sampel dari sampel air suling
dengan metode melalui derivatisasi**

HEADER DATA FOR: B:DERAQUA LABEL: Uji t satu sampel deraqua
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

	derqua
1	91.88
2	91.76
3	86.26
4	95.28
5	94.38

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:DERAQUA LABEL: Uji t satu sampel deraqua
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

MEAN VS. HYPOTHESIZED VALUE

Uji t satu sampel dari sampel air suling melalui derivatisasi

HEADER DATA FOR: B:DERAQUA LABEL: Uji t satu sampel deraqua
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

HYPOTHESIZED VALUE =	90.0000	
MEAN =	91.9120	
STD. DEV. =	3.5144	
STD. ERROR =	1.5717	
N =	5	(CASES = 1 TO 5)

T = 1.2165 (D.F. = 4) VARIABLE TESTED: derqua
PROB. = .1453

LAMPIRAN XI

**Uji t satu sampel dari sampel air sungai
dengan metode melalui derivatisasi**

HEADER DATA FOR: B:DERAIRS LABEL: Uji t satu sampel derairs
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

	derairs
1	94.00
2	88.54
3	85.94
4	97.60
5	83.83

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:DERAIRS LABEL: Uji t satu sampel derairs
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

MEAN VS. HYPOTHESIZED VALUE

Uji t satu sampel dari sampel air sungai melalui derivatisasi

HEADER DATA FOR: B:DERAIRS LABEL: Uji t satu sampel derairs
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 1

HYPOTHESIZED VALUE =	90.0000
MEAN =	89.9820
STD. DEV. =	5.7106
STD. ERROR =	2.5538
N =	5 (CASES = 1 TO 5)

T = -.0070 (D.F. = 4) VARIABLE TESTED: derairs
PROB. = .4874

LAMPIRAN XII

Uji t sepasang tanpa derivatisasi dan melalui
derivatisasi sampel air suling

HEADER DATA FOR: B:RINTS1 LABEL: Uji t sepasang sampel aquades
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	underiva	derivati
1	76.65	91.88
2	88.81	91.76
3	77.02	86.26
4	79.49	95.28
5	78.48	94.38

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:RINTS1 LABEL: Uji t sepasang sampel aquades
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN MEANS: PAIRED OBSERVATIONS

Uji t sepasang underivat & derivatisasi sampel air suling

HEADER DATA FOR: B:RINTS1 LABEL: Uji t sepasang sampel aquades
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

HYPOTHESIZED DIFF. = .0000
MEAN = -11.8220
STD. DEV. = 5.6870
STD. ERROR = 2.5433
N = 5 (CASES = 1 TO 5)

T = -4.6483 (D.F. = 4) GROUP 1: underiva
GROUP 2: derivati

PROB. = 4.837E-03

LAMPIRAN XIII

**Uji t sepasang tanpa derivatisasi dan melalui
derivatisasi sampel air sungai**

HEADER DATA FOR: B:RINSTS2 LABEL: Uji t sepasang spl air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	underiva	derivat
1	78.02	94.00
2	76.57	88.54
3	70.43	85.94
4	73.63	97.60
5	72.02	83.83

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:RINSTS2 LABEL: Uji t sepasang spl air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN MEANS: PAIRED OBSERVATIONS

Uji t sepasang underivat & derivatisasi sampel air sungai

HEADER DATA FOR: B:RINSTS2 LABEL: Uji t sepasang spl air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

HYPOTHESIZED DIFF. = .0000
 MEAN = -15.8480
 STD. DEV. = 4.9357
 STD. ERROR = 2.2073
 N = 5 (CASES = 1 TO 5)

T = -7.1798 (D.F. = 4) GROUP 1: underiva
 GROUP 2: derivat

PROB. = 9.965E-04

LAMPIRAN XIV

PERHITUNGAN UJI VARIANSI

Harga standar deviasi metode tanpa derivatisasi
dan melalui derivatisasi

	Tanpa derivatisasi	Melalui derivatisasi
Sampel air suling	5,01	3,51
Sampel air sungai	3,13	5,71

$$\begin{aligned} \text{Harga F untuk sampel air suling} &= \frac{(SD_1)^2}{(SD_2)^2} \\ &= \frac{(5,01)^2}{(3,51)^2} = 2,04 \end{aligned}$$

$$\text{Harga F untuk sampel air sungai} = \frac{(5,71)^2}{(3,13)^2} = 3,33$$

Harga F tabel 0,05 (4) = 6,388

Karena harga F_{hitung} untuk uji F sampel air suling dan sampel air sungai < dari harga F_{tabel} , maka tidak ada perbedaan kevariansian (presisi) antara metode tanpa derivatisasi dan metode melalui derivatisasi.

LAMPIRAN XV

Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA baku vs luas area

HEADER DATA FOR: B:RS4 LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

	log kdr	area
1	1.3010	408.0000
2	1.6021	1271.0000
3	2.0000	2022.0000
4	2.3010	3242.0000
5	2.6021	8086.0000
6	2.9031	11771.0000
7	3.2041	15905.0000
8	3.5051	17947.0000

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS4 LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA
 NUMBER OF CASES: 8 NUMBER OF VARIABLES: 2

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA (log) baku vs luas area

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	log kdr	2.42731	.77183
EP. VAR.:	area	7581.50000	6923.57758

DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 6)	PROB.
log kdr	8616.13773	1018.91139	8.456	.00015
CONSTANT	-13332.55881			

STD. ERROR OF EST. = 2080.68978

r SQUARED = .92259
 r = .96051

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	309575866.22313	1	309575866.22313	71.508	1.494E-04
RESIDUAL	25975619.77686	6	4329269.96281		
TOTAL	335551485.99999	7			

LAMPIRAN XVI

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area
sampel air suling

HEADER DATA FOR: B:RS5B LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA aquades
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	area
1	459.40	5422.00
2	917.60	8253.00
3	1725.24	11145.00
4	2858.46	11977.00
5	3775.12	15818.00

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS5B LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA aquades
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA sampel aquades vs luas area

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	1947.16400	1368.81130
DEP. VAR.:	area	10523.00000	3927.82147

DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
kadar	2.77430	.42323	6.555	.00722
CONSTANT	5120.98223			

STD. ERROR OF EST. = 1158.63324

r SQUARED = .93474
r = .96682

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	57683833.04548	1	57683833.04548	42.970	7.219E-03
RESIDUAL	4027292.85452	3	1342430.98484		
TOTAL	61711126.00000	4			

LAMPIRAN XVII

Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area sampel air suling

HEADER DATA FOR: B:RS6B LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA aquades
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	log kdr	area
1	2.8622	5422.0000
2	2.9626	8253.0000
3	3.2368	11145.0000
4	3.5769	11977.0000
5	3.9749	15818.0000

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS6B LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA aquades
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

----- Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area spl aquades -----

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	log kdr	3.28268	.51364
2	area	10523.00000	3927.82147

DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
log kdr	7539.39397	738.39218	10.211	.00200
CONSTANT	-14226.41781			

STD. ERROR OF EST. = 758.52882

r SQUARED = .97203
 r = .98592

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	59985028.10690	1	59985028.10690	104.255	2.002E-03
RESIDUAL	1726097.89310	3	575365.96437		
TOTAL	61711126.00000	4			

LAMPIRAN XVIII

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area
sampel air sungai

HEADER DATA FOR: B:RS7B LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA spl air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	kadar	area
1	467.9900	3849.0000
2	868.1400	7808.0000
3	1721.0400	12372.0000
4	2928.0000	12257.0000
5	3353.3600	14038.0000

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS7B LABEL: Anreg kadar Mipcin-TFA spl air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

Analisis regresi kadar Mipcin-TFA vs luas area spl air sungai

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	kadar	1867.70600	1256.10899
DEP. VAR.:	area	10064.80000	4172.66542

DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
kadar	2.98594	.84047	3.553	.03802
CONSTANT	4487.94698			

STD. ERROR OF EST. = 2111.45009

r SQUARED = .80796
r = .89886

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	56269882.35430	1	56269882.35430	12.622	.0380
RESIDUAL	13374664.44570	3	4458221.48190		
TOTAL	69644546.80000	4			

LAMPIRAN XIX

Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area
sampel air sungai

HEADER DATA FOR: B:RS8A LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

	log kdr	area
1	2.6702	3849.0000
2	2.9386	7808.0000
3	3.2358	12372.0000
4	3.4666	12257.0000
5	3.5254	14038.0000

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:RS8A LABEL: Anreg log kadar Mipcin-TFA air sungai
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

Analisis regresi log kadar Mipcin-TFA vs luas area air sungai

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	log kdr	3.16732	.36122
DEP. VAR.:	area	10064.80000	4172.66542

DEPENDENT VARIABLE: area

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 3)	PROB.
log kdr	11195.14658	1643.94859	6.810	.00648
CONSTANT	-25393.81168			

STD. ERROR OF EST. = 1187.65524

r SQUARED = .93924
r = .96914

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	65412971.90506	1	65412971.90506	46.375	6.476E-03
RESIDUAL	4231574.89494	3	1410524.96498		
TOTAL	69644546.80000	4			

LAMPIRAN XX

TABEL F

Table A.2 - Critical values of F for a one-tailed test ($\alpha = 0.05$)

ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.0	246.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.765	8.753	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.095	6.041	5.999	5.964	5.942	5.928	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.712	4.699	4.558
6	5.967	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.030	3.958	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.316	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.805	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

ν_1 = number of degrees of freedom of the numerator and ν_2 = number of degrees of freedom of the denominator.

Dikutip dari: Miller, J.C, and Miller, J.N, Statistics for Analytical Chemistry, Second edition, Ellis Horwood Limited, England, 1988.