



GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHATE AND PYRETHROID COMPOUNDS IN MOSQUITO COILS

Sadli dan Misrahanum

Prodi Farmasi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh

Abstract. Mosquito coils contain active compounds such as chlorpyrifos, dichlorphos, and d-allethrin which may be hazardous to the health. As majority of pesticides are stable heat, they can be changed into stable vapor state by column. a gas chromatographic method of analysis was developed. Gas chromatography for organophosphate compounds, namely chlorpyrifos and dichlorphos, with a OV-17 packed column, and a flame photometry detector equipped by filter for phosphor, which detects phosphor containing compounds exclusively, avoiding any interference of other non phosphor compounds present in the sample matrix. Gas chromatography for a pyrethroid compound, d-allethrin, utilizes a HP-1 capillary column with a flame ionization detector, and detect, any ionizable compound. The research was initiated by adjustment of the condition of gas chromatography system to obtain an appropriate separation of compounds a good shape of chromatogram and a tolerable retention time. With a flow rate of nitrogen 55 ml/min, column temperatures of 210°C, a detector and injector temperature of 230°C, the method gave a retention times chlorpyrifos of 6,47 minute and that of dichlorphos of 0,73 minute. The difference in retention time of chlorpyrifos and that of dichlorphos was caused by the difference in molecular weight of both compounds, thin dichlorphos with a smaller molecular weight (220, 98) was eluted faster than chlorpyrifos (350,6). For d-allethrin whit a flow rate of nitrogen gas of 40 ml/min, a column temperature of 180°C, a detector and injector temperature of 210°C, a retention time of d-allethrin of 3,28 minutes was obtained. The mosquito coils tested did not contain any chlorpyrifos nor dichlorphos, and some contained d-allethrin. The d-allethrin content obtained in one of the sample was beyond the tolerated limit.

Keywords: Mosquito coils, chlorpyrifos, dichlorphos, d-allethrin

I. PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan faktor paling mendasar yang sangat mempengaruhi kehidupan manusia. Pembangunan nasional dalam bidang kesehatan yang telah berlangsung sekitar tiga dasawarsa ternyata masih belum mampu meningkatkan kesadaran, kemampuan, dan kemauan untuk hidup sehat bagi setiap orang agar terwujud tingkat kesehatan masyarakat yang optimum sesuai dengan tujuan pembangunan kesehatan.

Untuk terwujudnya kesehatan perlu dilakukan berbagai usaha kesehatan, termasuk kegiatan untuk memelihara dan meningkatkan kesehatan yang dilakukan oleh pemerintah atau masyarakat, di antaranya adalah pengendalian keamanan sediaan farmasi yang diselenggarakan untuk melindungi masyarakat dari bahaya yang disebabkan oleh penggunaan sediaan farmasi dan alat kesehatan yang tidak memenuhi persyaratan mutu, keamanan atau kemanfaatan (Pasal 39 Undang-Undang Republik Indonesia No : 23 Tahun 1992 tentang kesehatan). Sediaan farmasi dapat berupa obat, bahan obat, obat tradisional, kosmetik dan alat kesehatan [4]

Pengamanan sediaan farmasi dilakukan mulai dari proses produksi sampai ke penggunaannya agar tidak membahayakan kesehatan. Di perdagangan banyak ditemukan bermacam jenis antinyamuk dengan komposisi bermacam-macam, dengan atau tanpa aktivitas yang sinergis dan insektisida lain yang dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Pemerintah berperan dalam melaksanakan pengawasan mutu sediaan farmasi, termasuk sediaan antinyamuk bakar dengan bermacam-macam jenis formulasi termasuk antinyamuk bentuk semprot, bakar, elektrik dan sebagainya yang di gunakan masyarakat sehingga keamanannya dapat terjamin.

Antinyamuk bakar merupakan pembasmi serangga rumah tangga terutama digunakan untuk membunuh nyamuk dalam berbagai jenis. Antinyamuk bakar dalam bentuk koil lebih banyak diminati masyarakat karena harganya relatif murah dibandingkan dengan antinyamuk lainnya sehingga terjangkau untuk semua kalangan masyarakat. Disamping itu harus waspada terhadap zat aktifnya yang dapat membahayakan kesehatan,

pada antinyamuk bakar zat aktif yang sering digunakan adalah klorpirifos, diklorvos, dan d-alettrin. Pengujian terhadap mutu antinyamuk dan bahan berbahaya secara kualitatif maupun kuantitatif adalah penting sehingga dapat diketahui produk-produk antinyamuk yang tidak memenuhi persyaratan.

Kromatografi adalah metode pemisahan analitik yang sangat bermanfaat dan diterapkan secara luas terutama bagi sampel multi komponen dan kompleks. Analisis dengan instrumen kromatografi gas mencakup pemisahan dan sekaligus pengukuran kadar cuplikan. Cuplikan disuntikkan dalam bentuk gas atau berupa cairan yang dapat diubah menjadi gas dengan pemanasan, dibawa oleh gas pembawa masuk ke dalam kolom tempat terjadinya pemisahan dan terakhir komponen yang sudah terpisah diukur oleh suatu detektor. Karakteristik sebagian besar pestisida yang dapat diubah menjadi uap, stabil terhadap pemanasan, dipersyaratkan penggunaannya dalam kadar yang kecil. menjadikan teknik kromatografi gas dipakai luas untuk analisis pestisida [3].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar dan pengembangan analisis bagi berbagai bahan aktif yaitu klorpirifos, diklorvos, dan d-alettrin dalam sampel antinyamuk bakar secara kromatografi gas.

II. METODOLOGI

Alat dan Bahan

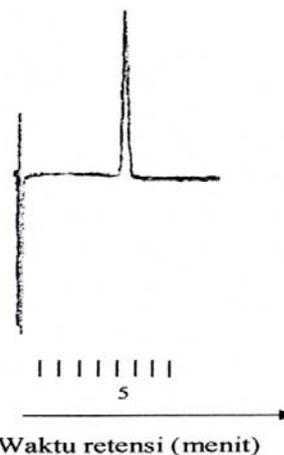
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi gas Hitachi model G-5000A yang dilengkapi dengan detektor fotometri nyala dan detektor ionisasi nyala, generator hidrogen Whatman, kompresor udara SC 820, kolom kemas OV-17 yang mengandung fase diam poli (fenilmetil) siloksan (50 % fenil) panjang 135 cm dengan diameter dalam 3 mm, integrator Hitachi model D-2500, flowmeter, kolom kapiler HP-1 panjang 15 meter dengan diameter dalam 0,53 mm. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah baku pembanding klorpirifos (99,80%), diklorvos (99,9%), d-alettrin (98,5 %), etil asetat p.a, gas nitrogen (UHP grade), hidrogen dan udara, serta aseton p.a.

Penentuan Kondisi Penelitian Kondisi untuk klorpirifos dan diklorvos

Dalam percobaan ini laju aliran gas pembawa nitrogen 55 ml/menit untuk klorpirifos dan 45 ml/menit untuk diklorvos, tekanan gas hidrogen untuk detektor FPD 70 kpa, nitrogen 20 kpa dan udara 180 kpa. Kolom yang digunakan adalah kolom kemas OV-17 yang mengandung fase diam

poli (fenilmetil) siloksan (50 % fenil) panjang 135 cm, diameter dalam 3 mm yang diaktifkan terlebih dahulu pada suhu 300°C selama satu jam.

Kondisi optimum diperoleh pada suhu injektor 230°C, suhu kolom 210°C dan suhu detektor 230°C. Pada kondisi ini diperoleh waktu retensi masing-masing pestisida adalah klorpirifos $\pm 6,47$ menit dan diklorvos $\pm 1,13$ menit. Seperti pada gambar 1 dan 2



Gambar 1. Kromatogram klorpirifos dengan waktu retensi 6,47 menit



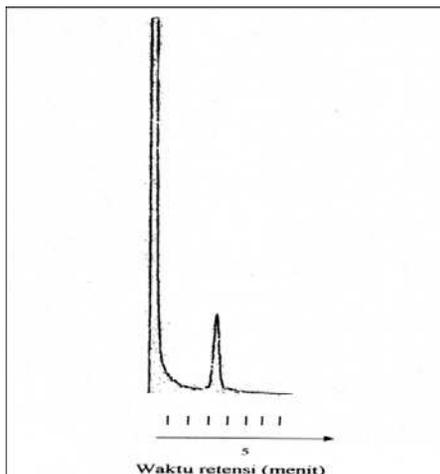
Gambar 2. Kromatogram diklorvos dengan waktu retensi 1,13 menit

Kondisi untuk d-alettrin

Dalam percobaan ini laju aliran gas pembawa nitrogen 40 ml/menit, tekanan gas hydrogen untuk detektor FID 0,7 kg/cm², nitrogen 0,5 kg/cm². Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler HP-01 panjang 15 m, diameter dalam 0,53 mm yang diaktifkan terlebih dahulu pada suhu 300°C selama

dua jam, sambil dialiri gas nitrogen pada kecepatan 40 ml/menit sebelum digunakan.

Kondisi optimum diperoleh pada suhu injektor 220°C, suhu kolom 180°C dan suhu detektor 220°C. Pada kondisi ini diperoleh waktu retensi pestisida d-alettrin adalah ± 3,28 menit.



Gambar 3. Kromatogram d-alettrin dengan waktu retensi 3,28 menit

Validasi Metode

Uji linieritas dilakukan untuk menunjukkan respons atau hasil uji secara langsung berbanding lurus terhadap konsentrasi. Dilakukan terhadap 6 konsentrasi larutan baku masing-masing pestisida, kemudian dilakukan perhitungan koefisien korelasi (r), persamaan regresi linier dan pembuatan kurva kalibrasi. Koefisien korelasi (r) untuk klorpirifos adalah 0,9991; diklorvos adalah 0,9996 dan untuk d-alettrin adalah 0,9997.

Uji sensitivitas dilakukan untuk melihat respons analit dalam kadar tertentu dengan menentukan LOD (*limit of detection*) dan LOQ (*limit of quantitation*). LOD merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat terdeteksi dan LOQ merupakan konsentrasi terendah yang dapat ditetapkan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima.

$$LOD = 3 \frac{SB}{S}$$

$$LOQ = 10 \frac{SB}{S}$$

SB = simpangan baku
S = slope dari kurva kalibrasi

Simpangan baku (SB) dapat dihitung dengan persamaan

$$SB = \left\{ \frac{\sum_i (y - y_i)^2}{n-2} \right\}^{0,5}$$

y_i = area kromatogram dari masing-masing konsentrasi

y_i' = nilai yang diperoleh dari persamaan regresi

n = banyaknya perlakuan

Dari hasil perhitungan diperoleh batas deteksi dan batas kuantisasi berturut-turut adalah sebagai berikut: klorpirifos (0,0584 ug/mL dan 0,1945 ug/mL), diklorvos (0,0427 ug/mL dan 0,1425 ug/mL), d-alettrin (0,0301 mg/mL dan 0,1001 mg/mL). Berdasarkan hasil ini dapat disimpulkan bahwa metode analisis dengan kromatografi gas dapat menetapkan konsentrasi pestisida dari sampel pada konsentrasi masih dalam konsentrasi yang dipersyaratkan.

Uji kecermatan dan keseksamaan dinyatakan dalam nilai perolehan kembali, merupakan ukuran kedekatan hasil uji terhadap nilai sebenarnya yang dapat diterima. Kecermatan diuji terhadap sampel yang ditambah larutan baku pestisida, dibuat 3 konsentrasi larutan baku dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Perhitungan perolehan kembali (PK) dengan menggunakan rumus :

$$PK = \frac{X_r}{X_a} \times 100\%$$

X_r = kadar hasil pengukuran sampel

X_a = kadar larutan baku yang ditambahkan

Dalam pengujian formulasi pestisida nilai perolehan kembali pada rentang 80-110 %, dengan rata-rata di atas 80%, menunjukkan bahwa metode pengujian yang dievaluasi memiliki kinerja yang baik.

Penyiapan dan Pengukuran Sampel

Sampel yang diuji adalah antinyamuk bakar dari tiga merek. Untuk uji perolehan kembali diambil sampel yang tidak mengandung pestisida yang diuji.

Penyiapan sampel

Antinyamuk bakar dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan menggunakan penggiling.

Ekstraksi

Ekstraksi untuk diklorvos dan klorpirifos

Sejumlah 25 gram sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml

ditambahkan 70 ml etil asetat, diaduk dengan pengaduk mekanik selama 60 menit, didiamkan selama 20 menit, kemudian disaring [8].

Ekstraksi untuk d-aletrin

Sejumlah 70 gram sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml ditambahkan 100 ml aseton, diaduk dengan pengaduk mekanik selama 120 menit, didiamkan selama 20 menit kemudian disaring [13].

Penetapan

Penetapan untuk klorpirifos dan diklorvos

ibuat 3 konsentrasi larutan baku dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Perhitungan perolehan kembali (PK) dengan menggunakan rumus :

$$PK = \frac{X_r}{X_a} \times 100\%$$

X_r = kadar hasil pengukuran sampel

X_a = kadar larutan baku yang ditambahkan

Dalam pengujian formulasi pestisida nilai perolehan kembali pada rentang 80-110 %, dengan rata-rata di atas 80%, menunjukkan bahwa metode pengujian yang dievaluasi memiliki kinerja yang baik.

Penyiapan dan Pengukuran Sampel

Sampel yang diuji adalah antinyamuk bakar dari tiga merek. Untuk uji perolehan kembali diambil sampel yang tidak mengandung pestisida yang diuji.

Penyiapan sampel

Antinyamuk bakar dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan menggunakan penggiling.

Ekstraksi

Ekstraksi untuk diklorvos dan klorpirifos

Sejumlah 25 gram sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml ditambahkan 70 ml etil asetat, diaduk dengan pengaduk mekanik selama 60 menit, didiamkan selama 20 menit, kemudian disaring [8].

Ekstraksi untuk d-aletrin

Sejumlah 70 gram sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml ditambahkan 100 ml aseton, diaduk dengan pengaduk mekanik selama 120 menit, didiamkan selama 20 menit kemudian disaring [13].

Penetapan

Penetapan untuk klorpirifos dan diklorvos

Sejumlah 1-2 μ l ekstrak disuntikkan ke dalam injektor dari kromatografi gas, yang dilengkapi dengan detektor fotometri nyala dengan filter fosfor

dengan kondisi sebagai berikut : kecepatan alir gas pembawa nitrogen 55 ml/menit, tekanan gas untuk detektor adalah hidrogen 70 kpa, oksigen 180 kpa dan nitrogen 20 kpa. Suhu kolom 210°C, suhu detektor 230°C dan injektor masing-masing 230°C.

Penetapan untuk d-aletrin

Sejumlah 4-5 μ l ekstrak disuntikkan ke dalam injektor dari kromatografi gas, yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dengan kondisi sebagai berikut: kecepatan alir gas pembawa nitrogen 40 ml/menit, tekanan gas untuk detektor adalah hidrogen 0,7 kg/cm², dan nitrogen 0,5 kg/cm². Suhu kolom 180°C, suhu detektor dan injektor masing-masing 210°C.

Kadar pestisida untuk antinyamuk bakar dinyatakan dalam persen (%) dapat dihitung dengan rumus [13].

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{A_u/A_b \times C_b \times V_b \times F_p/V_u}{W_u} \times 100\%$$

A_u = Tinggi/area kromatogram contoh

A_b = Tinggi/area kromatogram baku pembandingan

C_b = Konsentrasi baku pembandingan

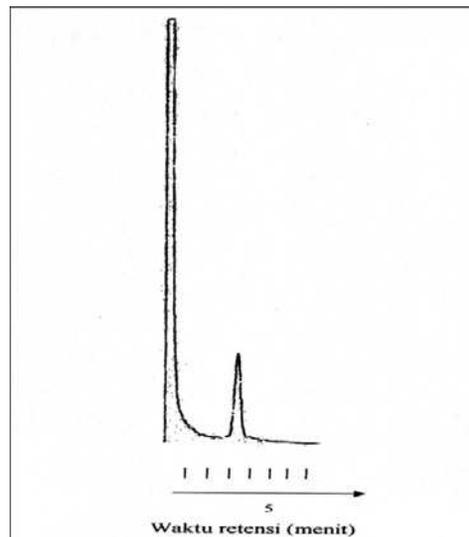
V_b = Volume baku pembandingan yang diinjeksikan

V_u = Volume contoh yang diinjeksikan

F_p = Faktor pengenceran

W_u = Berat contoh

Hasil pemeriksaan terhadap sampel dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram sampel d-aletrin dengan waktu retensi 3,28 menit

III. PEMBAHASAN

Kromatografi gas yang dilengkapi dengan kolom kemas OV-17 yang mengandung fase diam poli (fenilmetil) siloksan (50 % fenil) bersifat semi polar dapat digunakan dengan baik untuk memisahkan pestisida organofosfat. Ekstraksi pestisida dari sampel dilakukan dengan etil asetat. Detektor fotometri nyala yang dilengkapi dengan filter fosfor sehingga hanya senyawa yang mengandung fosfor yang terdeteksi, cocok digunakan dalam analisis pestisida golongan organofosfat, tanpa terganggu zat lain yang tidak mengandung fosfor.

Dengan laju nitrogen sebagai gas pembawa pada 55 ml/menit dengan suhu kolom 210°C, suhu detektor dan injektor masing-masing 230°C diperoleh waktu retensi klorpirifos 6,47 menit dan diklorvos 0,73 menit. Perbedaan waktu retensi antara klorpirifos dan diklorvos disebabkan oleh perbedaan bobot molekul, diklorvos yang mempunyai bobot molekul (220,98) lebih kecil dari klorpirifos (350,6) terelusi lebih cepat sehingga mempunyai waktu retensi lebih kecil, kemudian dengan menurunkan laju alir gas nitrogen menjadi 45 ml/menit diperoleh waktu retensi diklorvos 1,13 menit.

Untuk analisis senyawa piretroid kromatografi gas dilengkapi dengan kolom kapiler HP-1 dengan detektor ionisasi nyala yang merupakan detektor untuk senyawa-senyawa yang dapat terionisasi, Ekstraksi sampel dilakukan dengan aseton. Detektor ionisasi nyala cocok digunakan dalam analisis pestisida senyawa piretroid. Dengan kondisi laju alir nitrogen sebagai gas pembawa 40 ml/menit, suhu kolom 180°C, suhu detektor dan injektor masing-masing 210°C diperoleh waktu retensi 4,28 menit.

Penentuan keseksamaan untuk mengetahui kinerja alat pada kondisi pengukuran yang ditetapkan dari simpangan baku relatif hasil pengukuran larutan baku pembanding Simpangan baku relatif yang memenuhi syarat adalah apabila kurang dari 5% untuk area kromatogram dan 2% untuk waktu retensi. Diperoleh hasil dari ketiga pestisida yang diuji untuk area kromatogram dan waktu retensi berturut-turut adalah klorpirifos (1,120 dan 0,463); diklorvos (0,731 dan 0,232); dan d-aletrin (0,524 dan 0,214). Uji linieritas dilakukan untuk menunjukkan respons atau hasil uji secara langsung berbanding lurus terhadap konsentrasi, kemudian dilakukan perhitungan koefisien korelasi (r) persamaan linier dan pembuatan kurva kalibrasi. Dari persamaan linier dan kurva kalibrasi di tentukan batas deteksi dan batas kuantisasi. Batas deteksi dan batas kuantisasi yang diperoleh jauh di bawah batas toleransi bahan aktif sehingga metode ini dapat digunakan untuk menganalisis kandungan pestisida antinyamuk bakar melebihi atau tidak dari batas toleransi yang dipersyaratkan.

Ekstraksi sampel menggunakan etil asetat untuk klorpirifos dan diklorvos serta aseton untuk d-aletrin. Nilai perolehan kembali adalah klorpirifos 92,61 %; diklorvos 93,04 %; dan d-aletrin 97,81 %. Nilai perolehan kembali menunjukkan efisiensi suatu ekstraksi, makin besar nilai perolehan kembali menunjukkan tingginya efisiensi suatu ekstraksi Hasil pengujian terhadap beberapa sampel antinyamuk bakar tidak diperoleh kandungan klorpirifos dan diklorvos, untuk d-aletrin dapat di periksa dan dideteksi. Kadar d-aletrin yang diperoleh pada salah satu sampel melebihi dari batas toleransi yang dianjurkan. Pada sampel B diperoleh kadar d-aletrin yang melebihi batas toleransi yang dianjurkan, sedangkan pada sampel A dan C diperoleh kadar masih dalam batas toleransi.

KESIMPULAN

Analisis bahan aktif terhadap tiga contoh antinyamuk bakar yaitu A, B, dan C dari merek dagang berbeda menggunakan kolom OV-17 pada alat kromatografi gas dengan detektor fotometri nyala tidak ditemukan adanya klorpirifos dan diklorvos, sedangkan bahan aktif d-aletrin dalam sampel antinyamuk bakar dapat dipisahkan dan dideteksi dengan kolom kapiler HP-1 pada alat kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala.

Nilai perolehan kembali dari cara ekstraksi dengan etil asetat untuk diklorvos dan klorpirifos maupun dari cara ekstraksi dengan aseton untuk d-aletrin diperoleh rata-rata diatas 80 %, sehingga metode ini dapat digunakan untuk menganalisis kadar pestisida pada antinyamuk bakar dalam batas konsentrasi yang dipersyaratkan.

Pengujian sampel B diperoleh kadar konsentrasi yang melebihi konsentrasi yang ditetapkan organisasi pangan dan pertanian PBB (FAO).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Sudana Atmawidjaja, DEA dan Dr. Amir Musadad atas bantuannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

REFERENSI

1. Eiceman, G.A., (2001), *Instrumentation of Gas Chromatography*, New Mexico State University, New York, 1-7.

2. World Health Organization, (2003), *Data Sheets on Pesticides*, WHO, Geneva, 1-6.
3. Tjie Kok (1997), *Kromatografi Gas Teori dan Instrumentasi*, Kristal (15) 1-7.
4. *Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia* (2000) 2 (14) BPOM, Jakarta, 1-3.
5. Krieger, R.I., Dinoff, T.M., and X Zhang, (2003), *Environmental Health Perspective*, 3 (12), University California, California, 1-5.
6. World Health Organization, (2002), *Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides for d-Allethrin*, WHO, Geneva. 1-24.
7. McNair, M.H., Bonelli, E.J., (2011), *Basic Gas Chromatography*, Second Ed, John Wiley & Sons, 7-25.
8. Komisi Pestisida Departemen Pertanian RI (1997), *Metode Pengujian Residu Pestisida dalam Hasil Pertanian*, Departemen Pertanian RI, Jakarta, 212-215.
9. Komisi Pestisida Departemen Pertanian RI (2006), *Pestisida Higiene Lingkungan*, Departemen Pertanian RI, Jakarta, 26-38.
10. Tomlin, C., (2009), *The Pesticide Manual, 15th ed.*, Croportion Protection Publications, 27- 28, 200-201
11. Skoog, D.A, Holler, F.J., and Crouch, S.R., (2007), *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., Harcourt Brace College, Miami, 301-311.
12. Manjohn B.M (1978), *Manual for Training in Pesticide Analysis*, University of Miami School of Medicine, Miami, 203-311.
13. Horwitz, W (2000), The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence, *J. AOAC International*, Vol I, 50-51.
14. Budavari, S (2001), *The Merck Index*, 13th ed., Merck & Co, New York, 541, 2206.
15. William C.S (1997), *Statistik untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang Bertautan*, terjemahan Surosa, ITB Bandung, 5354, 10140.